



УКРАЇНА

(19) **UA**(11) **123757**(13) **C2**

(51) МПК

C12N 5/14 (2006.01)**C12N 9/02** (2006.01)**C12N 15/29** (2006.01)**C12N 15/63** (2006.01)**C12N 15/82** (2006.01)**A01H 5/10** (2018.01)

НАЦІОНАЛЬНИЙ ОРГАН
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
ДЕРЖАВНЕ ПІДПРИЄМСТВО
"УКРАЇНСЬКИЙ ІНСТИТУТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ"

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(21) Номер заявки: а 2016 02348	(72) Винахідник(и): Апонте Рафаель (DE), Треш Штефан (DE), Вічель Маттіас (DE), Лерхль Єнс (DE), Масса Даріо (DE), Зайсер Тобіас (DE), Мітцнер Томас (DE), Полік Джілл Марі (US), Броммер Чед (US)
(22) Дата подання заявки: 12.08.2014	(73) Володілець (володільці): БАСФ АГРО Б. В., Groningsingel 1, NL-6835 EA Arnhem, The Netherlands (NL)
(24) Дата, з якої є чинними права інтелектуальної власності: 03.06.2021	(74) Представник: Пахаренко Антоніна Павлівна, реєстр. №4
(31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: 61/864,672, 61/864,671	(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою: WO 2012/080975 A1, 21.06.2012 WO 9732011 A1, 04.09.1997, SU SHAO-QUAN. "The Development of Protoporphyrinogen Oxidase Inhibiting Herbicides", AGROCHEMICALS RESEARCH & APPLICATION, 28.02.2011, vol. 15, no. 1, P. 1–5 "Amaranthus tuberculatus PPO variant R128A/T208S/F420V #1", Geneseq, 13.02.2014, Database accession no. BBB23069, URL: EBI.
(32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: 12.08.2013, 12.08.2013	
(33) Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку: US, US	
(41) Публікація відомостей про заявку: 11.07.2016, Бюл.№ 13	
(46) Публікація відомостей про державну реєстрацію: 02.06.2021, Бюл.№ 22	
(86) Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ PCT/IB2014/063873, 12.08.2014	

(54) МУТОВАНА ПРОТОПОРФІРИНОГЕНОКСИДАЗА, ЩО НАДАЄ РОСЛИНАМ СТІЙКОСТІ ДО ППО-ІНГІБУЮЧОГО ГЕРБІЦИДУ**(57) Реферат:**

Винахід стосується виділеної та/або рекомбінантної, та/або штучної нуклеїнової кислоти, яка кодує поліпептид мutowаної ППО. Винахід також стосується поліпептиду мutowаної ППО; трансгенної рослинної клітини, трансгенної рослини; мутантної рослинної клітини; рослини, що експресує мутагенізований або рекомбінантний поліпептид мutowаної ППО; способу вирощування рослини; насіння рослини; способу одержання трансгенної рослинної клітини; та експресійної касети, що містить нуклеїнову кислоту, що кодує поліпептид мutowаної ППО.

UA 123757 C2

Ця заявка заявляє пріоритет за тимчасовими американськими заявками US 61/864671 та US 61/864672, зміст яких включено у даний документ за допомогою посилань.

Галузь винаходу

Даний винахід в цілому стосується способів надання рослинам сільськогосподарських рівнів толерантності до гербіцидів. Зокрема, винахід стосується рослин з підвищеною толерантністю до ППО-інгібуючих гербіцидів. Більш конкретно, даний винахід стосується способів та рослин, одержаних за допомогою мутагенезу та кросбрідингу та трансформації, що мають підвищену толерантність до ППО-інгібуючих гербіцидів.

Передумови створення винаходу

Гербіциди, що інгібують протопорфіриногеноксидазу (у даному документі називають Protox або ППО; EC:1.3.3.4), ключовий фермент у біосинтезі протопорфірин IX, використовували для селективної боротьби із бур'янами з початку 1960-х. ППО каталізує останню спілку стадію у біосинтезі хлорофілу та гему, яка представляє собою окислення протопорфіриногену IX до протопорфірину IX. (Matringe et al. 1989. Biochem. 1. 260: 231). ППО-інгібуючі гербіциди включають багато різних структурних класів молекул (Duke et al. 1991. Weed Sci. 39: 465; Nandihalli et al. 1992. Pesticide Biochem. Physiol. 43: 193; Matringe et al. 1989. FEBS Lett. 245: 35; Yanase and Andoh. 1989. Pesticide Biochem. Physiol. 35: 70). Ці гербіцидні сполуки включають дифенілові етери {наприклад, лактофен, (+)-2-етокси-1-метил-2-оксоетил 5-{2-хлор-4-(трифторметил)фенокси}-2-нітробензоат; ацифлуорфен, 5-{2-хлор-4-(трифторметил)фенокси}-2-нітробензойна кислота; її метиловий естер; або оксифлуорфен, 2-хлор-1-(3-етокси-4-нітрофенокси)-4-(трифторбензол)}, оксидіазоли, (наприклад, оксидіазон, 3-{2,4-дихлор-5-(1-метилетокси)феніл}-5-(1,1-диметилетил)-1,3,4-оксидіазол-2-(3H)-он), циклічні аміді (наприклад, S-23142, N-(4-хлор-2-фтор-5-пропаргілоксифеніл)-3,4,5,6-тетрагідрофталамід; хлорфталім, N-(4-хлорфеніл)-3,4,5,6-тетрагідрофталамід), феніл піразоли (наприклад, TNPP-етил, етил 2-{1-(2,3,4-трихлорфеніл)-4-нітропіразоліл-5-окси}пропіонат; M&B 39279), похідні піридину (наприклад, LS 82-556), та фенопілат та його О-феніл піролідино- та піперидинокарбаматні аналоги. Багато цих сполуки конкурентно інгібують нормальну реакцію, що каталізується ферментом, імовірно діючи як аналоги субстрату.

Нанесення ППО-інгібуючих гербіцидів приводить до накопичення протопорфіриногену IX у хлоропласті та мітохондріях, при цьому вважається, що він протікає у цитозоль, де окислюється пероксидазою. Під дією світла, протопорфірин IX викликає утворення синглетного кисню у цитозолі та утворення інших реактивних видів кисню, які можуть викликати перекисне окислення ліпідів та руйнування мембрани, яке призведе до швидкої загибелі клітини (Lee et al. 1993. Plant Physiol. 102: 881).

Не всі ферменти ППО чутливі до гербіцидів, які інгібують рослинні ферменти ППО. Ферменти ППО *Escherichia coli* та *Bacillus subtilis* (Sasarmen et al. 1993. Can. J. Microbiol. 39: 1155; Dailey et al. 1994. J. Biol. Chem. 269: 813) є резистентними до цих гербіцидних інгібіторів. Були описані мутанти одноклітинних водоростей *Chlamydomonas reinhardtii*, резистентні до фенілімідних гербіцидів S-23142 (Kataoka et al. 1990. J. Pesticide Sci. 15: 449; Shibata et al. 1992. In Research in Photosynthesis, Vol. III, N. Murata, ed. Kluwer: Netherlands. pp. 567-70). Щонайменше один з цих мутантів мав змінену активність ППО, що є резистентною не тільки до інгібітору гербіцидів, за яким відбирали мутант, ай до інших класів протокс інгібіторів (Oshio et al. 1993. Z. Naturforsch. 48c: 339; Sato et al. 1994. In ACS Symposium on Porphyrin Pesticides, S. Duke, ed. ACS Press: Washington, D.C.). Було описано, що мутантна лінія клітин тютюнику є резистентною до інгібітору S-21432 (Che et al. 1993. Z. Naturforsch. 48c: 350). Ауксотрофні мутанти *E. coli* використовували для підтвердження гербіцидної резистентності клонованої рослини до ППО-інгібуючих гербіцидів.

Відомо три основні стратегії одержання рослин, толерантних до гербіцидів, тобто (1) нейтралізація гербіциду ферментом, який трансформує гербіцид або його активний метаболіт у нетоксичні продукти, таким як, наприклад, ферменти толерантні до бромксинілу або басті (EP242236, EP337899); (2) мутування ферменту мішені у функціональний фермент, що є менш чутливим до гербіциду, або у його активний метаболіт, такий як, наприклад, ферменти толерантні до гліфосату (EP293356, Padgett S. R. et al., J.Biol. Chem., 266, 33, 1991); або (3) над експресією чутливого ферменту з метою одержання певної кількості ферменту мішені у рослині, що є достатньою по відношенню до гербіциду, приймаючи до уваги кінетичні константи цього ферменту, так щоб мати достатньо функціонального ферменту, доступного не зважаючи на присутність інгібітору. Третю стратегію описували для вдалого одержання рослин, толерантних до інгібіторів ППО (дивитись, наприклад, US5,767,373 або US5,939,602, та членів їх патентних родин). Окрім цього, US 2010/0100988 та WO 2007/024739 описує нуклеотидні послідовності, що кодують амінокислотні послідовності, що мають ферментативну активність,

так що амінокислотні послідовності є резистентними до гербіцидних інгібіторів ППО, зокрема, ППО мутанти специфічні до інгібітору 3-фенілурацилу.

WO 2012/080975 описує рослини, толерантність яких до ППО-інгібуючого гербіциду, під назвою "бензоксазинон-похідний" гербіцид (1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[b][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-тріазинан-2,4-діон) була підвищена шляхом трансформування вказаних рослин нуклеїновими кислотами, що кодують мутовані ППО ферменти. Зокрема, WO 2012/080975 описує, що введення нуклеїнових кислот, що кодують мутантну ППО *Amaranthus* тип II, де аргінін у положенні 128 замінено на лейцин, аланін або валін, та фенілаланін у положенні 420 замінено на метіонін, цистеїн, ізолейцин, лейцин або треонін, забезпечує підвищену толерантність/резистентність до бензоксазинон-похідного гербіциду.

Винахідники даного винаходу неочікувано виявили, що такі типи подвійних мутантів, та, окрім цього, нові заміщення для R128 та F420, не описані у WO 2012/080975, забезпечують підвищену толерантність/резистентність до широкого кола інгібіторів ППО, включаючи, проте не обмежуючись "бензоксазинон-похідною" (1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[b][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-тріазинан-2,4-діон), описаною у WO 2012/080975. Таким чином, на даний час, рівень техніки не описує рослини, толерантні до ППО-інгібуючого гербіциду, що містять мутовану ППО нуклеїнову кислоту винаходу, що є толерантними/резистентними до широкого кола інгібіторів ППО. Тому, у галузі є потреба у культурних рослинах із підвищеною толерантністю до гербіцидів, таких як ППО-інгібуючий гербіцид, та що містять щонайменше одну нуклеїнову кислоту ППО дикого типу та/або мутантну нуклеїнову кислоту ППО винаходу. Також є потреба у способах боротьби із бур'янами поблизу таких культурних рослин. Ці композиції та способи забезпечать можливість застосування технік розпилення при нанесенні гербіцидів на площі, що містять культурні рослини.

Резюме винаходу

Проблема вирішується за допомогою даного винаходу, який стосується способу боротьби із небажаною рослинністю у місці культивування рослини, де спосіб включає наступні стадії:

а) забезпечення, у вказаному місці, рослини, що містить щонайменше одну нуклеїнову кислоту, яка містить нуклеотидну послідовність, що кодує протопорфіриногеноксидазу дикого типу (ППО) або мутовану протопорфіриногеноксидазу (ППО), яка є резистентною або толерантною до ППО-інгібуючого гербіциду,

б) нанесення на вказане місце ефективної кількості вказаного гербіциду.

Більш того, даний винахід стосується способу ідентифікації ППО-інгібуючого гербіциду шляхом використання ППО дикого типу або мутованої ППО даного винаходу, яка кодується нуклеїноювою кислотою, що містить нуклеотидну послідовність SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45 або 47, або її варіант.

Вказаний спосіб включає наступні стадії:

а) генерування трансгенної клітини або рослини, що містить нуклеїнову кислоту, яка кодує мутовану ППО даного винаходу, де експресується мутована ППО даного винаходу;

б) нанесення ППО-інгібуючого гербіциду на трансгенну клітину або рослину з а) та на контрольну клітину або рослину того ж виду;

с) визначення росту або життєздатності трансгенної клітини або рослини та контрольної клітини або рослини після нанесення вказаної тест сполуки, та

д) вибір тест сполук, що забезпечують зменшення росту контрольної клітини або рослини, порівняно із ростом трансгенної клітини або рослини.

Інший об'єкт стосується способу ідентифікації нуклеотидної послідовності, яка кодує мутовану ППО, яка є резистентною або толерантною до ППО-інгібуючого гербіциду, де спосіб включає:

а) генерування бібліотеки нуклеїнових кислот, що кодують мутовану ППО,

б) скринінг популяції одержаних нуклеїнових кислот, що кодують мутовану ППО, шляхом експресії кожної з вказаних нуклеїнових кислот у клітині або рослині, та обробка вказаної клітини або рослини ППО-інгібуючим гербіцидом,

с) порівняння рівнів толерантності до ППО-інгібуючого гербіциду, забезпечених вказаною популяцією нуклеїнових кислот, що кодують мутовану ППО, із рівнем толерантності до ППО-інгібуючого гербіциду, забезпеченим нуклеїноювою кислотою, що кодує контрольну ППО,

д) вибір щонайменше однієї нуклеїнової кислоти, що кодує мутовану ППО, що забезпечує значне підвищення рівня толерантності до ППО-інгібуючого гербіциду, порівняно із рівнем, що забезпечує нуклеїнова кислота, що кодує контрольну ППО.

У переважному варіанті втілення, нуклеїнова кислота, що кодує мутовану ППО, вибрана на стадії д) забезпечує щонайменше 2-кратне збільшення толерантності до ППО-інгібуючого

гербіциду, порівняно із рівнем забезпеченим нуклеїновою кислотою, яка кодує контрольну ППО.

Резистентність або толерантність можуть бути визначені шляхом генерування трансгенної рослини, що містить нуклеїнову кислоту з бібліотеки зі стадії а) та порівняння вказаної трансгенної рослини із контрольною рослиною.

5 Інший об'єкт стосується способу ідентифікації рослини або водорості, що містить нуклеїнову кислоту, яка кодує мутовану ППО, яка є резистентною або толерантною до ППО-інгібуючого гербіциду, де спосіб включає:

а) визначення ефективної кількості ППО-інгібуючого гербіциду у культурі рослинних клітин або зелених водоростей.

10 б) обробка вказаних рослинних клітин або зелених водоростей мутагенізуючим агентом,

с) контактування вказаної популяції мutowаних клітин із ефективною кількістю ППО-інгібуючого гербіциду, визначеною на стадії а),

д) відбір щонайменше однієї клітини, що вижила у цих тест умовах,

15 е) ПЛР-ампліфікація та секвенування генів ППО з клітин, відібраних на стадії д) та порівняння таких послідовностей із генними послідовностями ППО дикого типу, відповідно.

У переважному варіанті втілення, мутагенізуючим агентом є етилметансульфонат.

20 Інший об'єкт стосується виділеної та/або рекомбінантно одержаної та/або хімічно синтезованої (штучної) нуклеїнової кислоти, що кодує мутовану ППО, де нуклеїнова кислота містить послідовність SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45 або 47, або її варіант, як визначено далі.

Інший об'єкт стосується виділеного поліпептиду мутованої ППО, де поліпептид, що містить послідовність SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46 або 48, її варіант, похідну, ортолог, паралог або гомолог, як визначено далі.

25 У переважному варіанті втілення, нуклеїнова кислота ідентифікується за описаним вище способом.

У іншому варіанті втілення, винахід стосується рослинної клітини, трансформованої або, що експресує нуклеїнову кислоту ППО дикого типу або мутованої ППО даного винаходу, або рослини, мутованої для одержання рослини, що експресує, бажано над-експресує нуклеїнову кислоту ППО дикого типу або мутованої ППО даного винаходу, де експресія вказаної

30 нуклеїнової кислоти у рослинній клітині приводить до підвищеної резистентності або толерантності до ППО-інгібуючого гербіциду, порівняно із рослинною клітиною дикого типу. У іншому варіанті втілення, винахід стосується рослини, що містить рослинну клітину даного винаходу, де експресія вказаної нуклеїнової кислоти у рослині приводить до підвищеної резистентності або толерантності до ППО-інгібуючого гербіциду, порівняно із рослиною дикого

35 типу. У іншому варіанті втілення, винахід стосується рослини, що експресує мутований або рекомбінантний поліпептид мутованої ППО, та де вказана мутована ППО забезпечує у рослині підвищену толерантність до гербіциду, порівняно із рослиною дикого типу при експресії в ній.

Рослини даного винаходу можуть бути трансгенними або нетрансгенними.

40 Бажано, експресія нуклеїнової кислоти винаходу приводить до підвищеної резистентності до ППО-інгібуючих гербіцидів, порівняно із рослиною дикого типу.

У іншому варіанті втілення, винахід стосується способу вирощування рослини даного винаходу, шляхом боротьби із бур'янами поблизу вказаної рослини, де вказаний спосіб включає наступні стадії:

45 а) вирощування вказаної рослини; та

б) нанесення гербіцидної композиції, що містить ППО-інгібуючий гербіцид, на рослину та бур'яни, де гербіцид в нормі інгібує протопорфіриногеноксидазу, у концентрації, що пригнічує ріст відповідної рослини дикого типу.

50 У іншому варіанті втілення, винахід стосується насіння, одержаного з трансгенної рослини, що містить рослинну клітину даного винаходу, або насіння, одержаного з нетрансгенної рослини, що експресує мутований ППО поліпептид, де насіння є гомозиготним щодо підвищеної резистентності до ППО-інгібуючого гербіциду, порівняно із насінням рослини дикого типу.

55 У іншому варіанті втілення, винахід стосується способу одержання клітини трансгенної рослини із підвищеною резистентністю до ППО-інгібуючого гербіциду, порівняно із рослинною клітиною дикого типу, де спосіб включає трансформацію рослинної клітини експресійною касетою, що містить нуклеїнову кислоту ППО дикого типу або мутовану ППО.

60 У іншому варіанті втілення, винахід стосується способу одержання транс генної рослини, який включає (а) трансформацію рослинної клітини експресійною касетою, що містить нуклеїнову кислоту ППО дикого типу або мутовану ППО, та (б) генерування рослини із підвищеною резистентністю до ППО-інгібуючого гербіциду з рослинної клітини.

Бажано, експресійна касета також містить регуляторну ділянку ініціації транскрипції та регуляторну ділянку ініціації трансляції, що функціонують у рослині.

У іншому варіанті втілення, винахід стосується застосування мутованої ППО винаходу як селективного маркера. Винахід стосується способу ідентифікації або відбору трансформованої рослинної клітини, рослинної тканини, рослини або її частини, який включає а) одержання трансформованої рослинної клітини, рослинної тканини, рослини або її частини, де вказана трансформована рослинна клітина, рослинна тканина, рослина або її частина містить виділену нуклеїнову кислоту, що кодує мутований поліпептид ППО винаходу, як описано далі, де поліпептид використовують як селективний маркер, та де вказана трансформована рослинна клітина, рослинна тканина, рослина або її частина необов'язково містить додаткову потрібну виділену нуклеїнову кислоту; б) контактування трансформованої рослинної клітини, рослинної тканини, рослини або її частини із щонайменше однією ППО-інгібуючою сполукою; с) визначення того чи рослинна клітина, рослинна тканина, рослина або її частина уражена інгібітором або інгібуючою сполукою; та д) ідентифікація або відбір трансформованої рослинної клітини, рослинної тканини, рослини або її частини.

Винахід також стосується очищених мутованих протеїнів ППО, що містять мутації описані у даному документі, що є придатними у молекулярному моделюванні для розробки подальших покращень толерантності до гербіцидів. Способи очистки протеїнів добре відомі та можуть бути легко здійснені з використанням доступних продуктів та спеціально розроблених способів, як описано, наприклад, у Protein Biotechnology, Walsh and Headon (Wiley, 1994).

У іншому варіанті втілення, винахід стосується комбінації, придатної для боротьби із бур'янами, яка містить (а) полінуклеотид, що кодує мутований ППО поліпептид винаходу, де полінуклеотид здатний до експресії у рослині, таким чином забезпечуючи рослину толерантністю до ППО-інгібуючого гербіциду; та (б) ППО-інгібуючий гербіцид.

У іншому варіанті втілення, винахід стосується способу одержання комбінації, придатної для боротьби із бур'янами, який включає (а) забезпечення полінуклеотиду, що кодує мутований ППО поліпептид винаходу, де полінуклеотид здатний до експресії у рослині, таким чином забезпечуючи рослину толерантністю до ППО-інгібуючого гербіциду; та (б) забезпечення ППО-інгібуючого гербіциду.

У переважному варіанті втілення, вказана стадія забезпечення полінуклеотиду включає забезпечення рослиною, що містить полінуклеотид.

У іншому переважному варіанті втілення, вказана стадія забезпечення полінуклеотиду включає забезпечення насіння, що містить полінуклеотид.

У іншому переважному варіанті втілення, вказаний спосіб додатково включає стадію нанесення ППО-інгібуючого гербіциду на насіння.

У іншому варіанті втілення, винахід стосується застосування комбінації придатної для боротьби із бур'янами, яка містить (а) полінуклеотид, що кодує мутований ППО поліпептид винаходу, де полінуклеотид здатний до експресії у рослині, таким чином забезпечуючи рослину толерантністю до ППО-інгібуючого гербіциду; та (б) ППО-інгібуючий гербіцид для боротьби із бур'янами у місці культивування рослини.

Короткий опис фігур

Фігура 1 показує амінокислотне вирівнювання послідовностей ППО *Amaranthus tuberculatus* (A.tuberculatus), *Amaranthus tuberculatus* resistant (A.tuberculatus_R), *Arabidopsis thaliana* long (A.thaliana_2), *Spinacia oleracea* short (S.oleracea_2), *Nicotiana tabacum* short (N.tabacum_2), *Glycine max* (Glycine_max), *Arabidopsis thaliana* short (A.thaliana_1), *Nicotiana tabacum* long (N.tabacum_1), *Chlamydomonas reinhardtii* long (C.reinhardtii_1), *Zea mays* (Z.mays), *Oryza sativa* (O.sativa_1), *Solanum tuberosum* (S.tuberosum), *Cucumis sativus* (C.sativus), *Cichorium intybus* (C.intybus_1), *Spinacia oleracea* long (S.oleracea_1), *Polytomella* sp. Pringsheim 198.80 (*Polytomella*). Консервативні ділянки позначені світло-сірим, сірим та чорним.

Фігура 2 показує рослини *Arabidopsis* дикого типу та трансгенні, що містять нуклеїнову кислоту, що кодує мутований ППО поліпептид (на основі SEQ ID NO:2; AMATU_PPO2_R128A_420V); 1 = Кіксор [Сафлуфенацил]; 2 = BAS 850H [1,5-диметил -6-тіоксо -3-(2,2,7-трифтор -3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро -2Н-бензо[b][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-траїзинан-2,4-діон]; 3 = Spotlight [флуороксипір]; 4 = Кіксор + точкове освітлення; А = нетрансгенні (для обробки будь-яким інгібітором ППО); В = AMATU_PPO2_R128A_420V трансгенні рослини).

Фігура 3 показує Т1 трансформовану кукурудзу через 7 днів після обробки 100 г Сафлуфенацилу + 50 г аі/га BAS 850H + 1% (о/о) MSO. Рослини зрошували на стадії V2-V3. 1 = нетрансформований контроль; 2 = Tr-Fdx_AmtuPPX2L_R128A_F420V (транзитний пептид *Silene pratensis*, фередоксин приконденсований до мутованої ППО);

3 = AmtuPPX2L_R128A_F420L.

Фігура 4 показує T0 трансформовану кукурудзу через 3 дні після обробки. Рослини зрошували 0 або 50 г ai/га BAS 850H + 1% MSO на стадії V2-V3. 1 = дикий тип, 2 = AmatuPPX2L_R128L_F420M; 3 = AmatuPPX2L_R128A_F420I; 4 = AmatuPPX2L_R128A_F420V; 5 = AmatuPPX2L_R128A_F420L; 6 = AmatuPPX2L_R128M_F420I; 7 = AmatuPPX2L_R128M_F420L; 8 = AmatuPPX2L_R128M_F420V

Фігура 5 показує T1 трансформовану сою через 7 днів після обробки вказаним гербіцидом + 1% (v/v) MSO. Рослини зрошували на стадії V2-V3; A = не зрошені; B = Сафлуфенацил 150 г ai/га; C = BAS 850H 100 г ai/га; 1 = контрольна рослина дикого типу; 2 = AmtuPPX2L_R128A_F420M; 3 = AmtuPPX2L_R128A_F420I; 4 = AmtuPPX2L_R128A_F420V;

Фігура 6 показує T0 трансформовані клони сої через 7 днів після вказаної обробки. Рослини зрошували на стадії V2-V3; 1 = контрольна рослина дикого типу; 2 = AmtuPPX2L_R128L_F420V; A = Сафлуфенацил г ai/га + 1% MSO; B = BAS 850H г ai/га + 1% MSO

Фігура 7 показує T2 трансформовану сою через 4 дні після вказаної обробки. Рослини зрошували на стадії V2-V3. Обробка містила 1% (o/o) MSO (розпилюваний ад'ювант на основі етильованої олії сої; також відомий як Destiny HC); 1 = дикий тип; 2 = AmtuPPX2L_R128A_F420V; 3 = AmtuPPX2L_R128A_F420L; 4 = AmtuPPX2L_R128A_F420M; 5 = AmtuPPX2L_R128A_F420I; A = не зрошені; B = 100 г ai/га Сафлуфенацил +50 г ai/га BAS 850H; C = 200 г ai/га Сафлуфенацил +100 г ai/га BAS 850H; D = 100 г ai/га Сафлуфенацил +140 г ai/га флуміоксазин; E = 100 г ai/га Сафлуфенацил +560 г ai/га Сулфентразон;

Пояснення до переліку послідовностей

Таблиця 1

SEQ. ID NO:	Опис	Організм	Ген	№ доступу
1	Нуклеїнова кислота ППО	<i>Alopecurus myosuroides</i>	ППО2	
2	Амінокислота ППО	<i>Alopecurus myosuroides</i>	ППО2	
3	Нуклеїнова кислота ППО	<i>Alopecurus myosuroides</i>	ППО1	
4	Амінокислота ППО	<i>Alopecurus myosuroides</i>	ППО1	
5	Амінокислота ППО	<i>Alopecurus myosuroides</i>	ППО транзитний пептид	
6	Нуклеїнова кислота ППО	<i>Alopecurus myosuroides</i>	Кодон-оптимізований ППО2	
7	Нуклеїнова кислота ППО	<i>Alopecurus myosuroides</i>	Кодон-оптимізований ППО1	
8	Амінокислота ППО	<i>Zea mays</i>	ППО2 транзитний пептид	
9	Амінокислота ППО	<i>Sorghum bicolor</i>	ППО2 транзитний пептид	
27	Амінокислота ППО	<i>Amaranthus</i>	ППО2	WC_HS
28	Амінокислота ППО	<i>Amaranthus</i>	ППО2	AC_HS
29	Амінокислота ППО	<i>Amaranthus</i>	ППО2	CC_HR
30	Амінокислота ППО	<i>Amaranthus</i>	ППО2	AC_HR
31	Амінокислота ППО	<i>Amaranthus</i>	ППО1	

Детальний опис

Як використано у даному документі, слово "містить" або "включає" означає включення вказаного елементу, цілого числа або стадії, або групи елементів, цілих чисел або стадій, проте не означає їх виключення.

Винахідники даного винаходу виявили, що толерантність або резистентність рослини до ППО-інгібуючого гербіциду може бути значно підвищена шляхом надекспресії нуклеїнової кислоти, яка кодує мутований ППО поліпептид, що містить послідовність SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46 або 48, її варіант, похідну,

ортолог, паралог або гомолог.

Даний винахід стосується способу боротьби із небажаною рослинністю у місці культивування рослини, де спосіб включає наступні стадії:

а) забезпечення, у вказаному місці, рослини, що містить щонайменше одну нуклеїнову кислоту, яка містить нуклеотидну послідовність, що кодує протопорфіриногеноксидазу дикого типу або мутовану протопорфіриногеноксидазу (мутовану ППО), яка є резистентною або толерантною до ППО-інгібуючого гербіциду,

б) нанесення на вказане місце ефективної кількості вказаного гербіциду.

Термін "боротьба із небажаною рослинністю" означає контроль, зокрема знищення бур'янів та/або затримку або інгібування нормального росту бур'янів. Бур'яни, у найбільш широкому сенсі, означають всі рослини, що ростуть у місці де вони є непереважними, наприклад, у місці культивування рослини. Бур'яни даного винаходу включають, наприклад, дводольні та однодольні бур'яни. Дводольні бур'яни включають, проте не обмежуються наступними: бур'яни роду: *Sinapis*, *Lepidium*, *Galium*, *Stellaria*, *Matricaria*, *Anthemis*, *Galinsoga*, *Chenopodium*, *Urtica*, *Senecio*, *Amaranthus*, *Portulaca*, *Xanthium*, *Convolvulus*, *Ipomoea*, *Polygonum*, *Sesbania*, *Ambrosia*, *Cirsium*, *Carduus*, *Sonchus*, *Solanum*, *Rorippa*, *Rotala*, *Lindernia*, *Lamium*, *Veronica*, *Abutilon*, *Emex*, *Datura*, *Viola*, *Galeopsis*, *Papaver*, *Centaurea*, *Trifolium*, *Ranunculus* та *Taraxacum*. Однодольні бур'яни включають, проте не обмежуються наступними: бур'яни роду: *Echinochloa*, *Setaria*, *Panicum*, *Digitaria*, *Phleum*, *Poa*, *Festuca*, *Eleusine*, *Brachiaria*, *Lolium*, *Bromus*, *Avena*, *Cyperus*, *Sorghum*, *Agropyron*, *Cynodon*, *Monochoria*, *Fimbristylis*, *Sagittaria*, *Eleocharis*, *Scirpus*, *Paspalum*, *Ischaemum*, *Sphenoclea*, *Dactyloctenium*, *Agrostis*, *Alopecurus* та *Apera*. Окрім цього, бур'яни даного винаходу можуть включати, наприклад, культурні рослини, що ростуть у непереважному місці. Наприклад, самосійна кукурудза на полі, на якому переважно росте соя, може вважатись бур'яном, якщо кукурудза є небажаною на полі сої.

Термін "рослина" використовують у найбільш широкому сенсі як такий що відноситься до органічного матеріалу, та включає еукаріотичні організми, що є членами царства Рослини, приклади яких включають, проте не обмежуються наступними: судинні рослини, овочі, зернові, квіткові, дерева, трави, кущі, злаки, виноградна лоза, папоротники, мохи, гриби та водорості тощо, а також клони, потомства та частини рослин, використані для вегетативного розмноження (наприклад, зрізи, дудки, пагони, різими, підземні стебла, колонії, крони, бульби, цибулини, клубні, рослини/тканини, одержані з культури тканин, тощо). Термін "рослина" також включає цілі рослини, батьківські форми та потомства рослин та частини рослин, включаючи насіння, пагони, стебла, листя, коріння (включаючи клубні), квіти, суцвіття, плоди, квітконіжки, плодоніжки, тичинки, пильники, маточка, стовпик, зав'язь, пелюстка, чашолистик, плодолистик, кореневі кінці, кореневі чохлаки, кореневі волоски, листові волоски, волоски насіння, пилкове зерно, мікроспора, сім'ядоля, гіпокотиль, епикотиль, ксилема, флоема, паренхіма, ендосперм, супровідна клітина, захисна клітина, та будь-які інші відомі органи, тканини та клітини рослини та тканини та органи, де кожен з вищенаведених містить бажаний ген/нуклеїнову кислоту. Термін "рослина" також включає рослинні клітини, суспензію культур, калусні тканини, зародки, меристематичні ділянки, гаметофіти, спорофіти, пилки та мікроспори, де кожен з вищенаведених містить бажаний ген/нуклеїнову кислоту.

Особливо придатні рослини для способів винаходу включають всі рослини, що належать до надроду *Viridiplantae*, зокрема, однодольні та дводольні рослини, включаючи кормові або кормові бобові, декоративні рослини, продовольчі культури, дерева або кущі, вибрані з переліку, який включає *Acer* spp., *Actinidia* spp., *Abelmoschus* spp., *Agave sisalana*, *Agropyron* spp., *Agrostis stolonifera*, *Allium* spp., *Amaranthus* spp., *Ammophila arenaria*, *Ananas comosus*, *Annona* spp., *Apium graveolens*, *Arachis* spp., *Artocarpus* spp., *Asparagus officinalis*, *Avena* spp. (e.g. *Avena sativa*, *Avena fatua*, *Avena byzantina*, *Avena fatua* var. *sativa*, *Avena hybrida*), *Averrhoa carambola*, *Bambusa* sp., *Benincasa hispida*, *Bertholletia excelsa*, *Beta vulgaris*, *Brassica* spp. (наприклад, *Brassica napus*, *Brassica rapa* ssp. [канола, олійний рапс, олійна пина]), *Cadaba farinosa*, *Camellia sinensis*, *Canna indica*, *Cannabis sativa*, *Capsicum* spp., *Carex elata*, *Carica papaya*, *Carissa macrocarpa*, *Carya* spp., *Carthamus tinctorius*, *Castanea* spp., *Ceiba pentandra*, *Cichorium endivia*, *Cinnamomum* spp., *Citrullus lanatus*, *Citrus* spp., *Cocos* spp., *Coffea* spp., *Colocasia esculenta*, *Cola* spp., *Corchorus* sp., *Coriandrum sativum*, *Corylus* spp., *Crataegus* spp., *Crocus sativus*, *Cucurbita* spp., *Cucumis* spp., *Cynara* spp., *Daucus carota*, *Desmodium* spp., *Dimocarpus longan*, *Dioscorea* spp., *Diospyros* spp., *Echinochloa* spp., *Elaeis* (наприклад, *Elaeis guineensis*, *Elaeis oleifera*), *Eleusine coracana*, *Eragrostis tef*, *Erianthus* sp., *Eriobotrya japonica*, *Eucalyptus* sp., *Eugenia uniflora*, *Fagopyrum* spp., *Fagus* spp., *Festuca arundinacea*, *Ficus carica*, *Fortunella* spp., *Fragaria* spp., *Ginkgo biloba*, *Glycine* spp. (наприклад, *Glycine max*, *Soja hispida* або *Soja max*), *Gossypium hirsutum*, *Helianthus* spp. (наприклад, *Helianthus annuus*), *Hemerocallis*

fulva, Hibiscus spp., Hordeum spp. (наприклад, Hordeum vulgare), Ipomoea batatas, Juglans spp., Lactuca sativa, Lathyrus spp., Lens culinaris, Linum usitatissimum, Litchi chinensis, Lotus spp., Luffa acutangula, Lupinus spp., Luzula sylvatica, Lycopersicon spp. (наприклад, Lycopersicon esculentum, Lycopersicon lycopersicum, Lycopersicon pyriforme), Macrotyloma spp., Malus spp., Malpighia emarginata, Mammee americana, Mangifera indica, Manihot spp., Manilkara zapota, Medicago sativa, Melilotus spp., Mentha spp., Miscanthus sinensis, Momordica spp., Morus nigra, Musa spp., Nicotiana spp., Olea spp., Opuntia spp., Ornithopus spp., Oryza spp. (наприклад, Oryza sativa, Oryza latifolia), Panicum miliaceum, Panicum virgatum, Passiflora edulis, Pastinaca sativa, Pennisetum sp., Persea spp., Petroselinum crispum, Phalaris arundinacea, Phaseolus spp., Phleum pratense, Phoenix spp., Phragmites australis, Physalis spp., Pinus spp., Pistacia vera, Pisum spp., Poa spp., Populus spp., Prosopis spp., Prunus spp., Psidium spp., Punica granatum, Pyrus communis, Quercus spp., Raphanus sativus, Rheum rhabarbarum, Ribes spp., Ricinus communis, Rubus spp., Saccharum spp., Salix sp., Sambucus spp., Secale cereale, Sesamum spp., Sinapis sp., Solanum spp. (наприклад, Solanum tuberosum, Solanum integrifolium або Solanum lycopersicum), Sorghum bicolor, Spinacia spp., Syzygium spp., Tagetes spp., Tamarindus indica, Theobroma cacao, Trifolium spp., Tripsacum dactyloides, Triticosecale rimpai, Triticum spp. (наприклад, Triticum aestivum, Triticum durum, Triticum turgidum, Triticum hybernum, Triticum macha, Triticum sativum, Triticum monococcum або Triticum vulgare), Tropaeolum minus, Tropaeolum majus, Vaccinium spp., Vicia spp., Vigna spp., Viola odorata, Vitis spp., Zea mays, Zizania palustris, Ziziphus spp., амарант, артішок, спаржа, броколі, брюсельська капуста, капуста, канولا, морква, цвітна капуста, селера, капуста листовая, льон, капуста кормова, чечевиця, олійна ріпа, окра, цибуля, картопля, рис, соя, суниця, цукровий буряк, цукрова тростина, соняшник, томати, гарбуз, чай та водорості. Згідно з переважним варіантом втілення даного винаходу, рослиною є культурна рослина. Приклади культурних рослин включають, серед інших, сою, соняшник, канолу, люцерну, ріпу, бавовник, томати, картоплю або тютюнник. Більш бажано рослиною є однодольна рослина, така як цукрова тростина. Більш бажано, рослиною є зернові, такі як рис, кукурудза, пшениця, ячмінь, просо, ріж, сорго або овес.

У переважному варіанті втілення, рослину одержують за способом, який включає рекомбінантне одержання рослини шляхом введення та надекспресії трансгену мутованої ППО або ППО дикого типу даного винаходу, як більш детально описано далі.

У іншому переважному варіанті втілення, рослину одержують за способом, який включає *in situ* мутагенез рослинних клітин з одержання рослинних клітин, що експресують мутовану ППО.

Як описано у даному документі, нуклеїнові кислоти винаходу використовують для покращення толерантності до гербіцидів рослин, що містять у своєму геномі ген, який кодує протеїн ППО дикого типу або мутованої ППО. такий ген може бути ендеогенним або трансгеном, як описано далі.

Тому, у іншому варіанті втілення, даний винахід стосується способу підвищення або покращення резистентності або толерантності рослини до гербіциду, що є інгібітором ППО, де спосіб включає надекспресію нуклеїнової кислоти, яка кодує поліпептид мутованої ППО, що містить послідовність SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46 або 48, її варіант, похідну, ортолог, паралог або гомолог.

Окрім цього, у певних варіантах втілення, нуклеїнові кислоти даного винаходу можуть бути згруповані із будь-якою комбінацією бажаних полінуклеотидних послідовностей з одержанням рослин бажаного фенотипу. Наприклад, нуклеїнові кислоти даного винаходу можуть бути згруповані із будь-якими полінуклеотидами, що кодують поліпептиди із пестицидною та/або інсектицидною активністю, наприклад, протеїни токсину *Bacillus thuringiensis* (описані у Патентах США № 5,366,892; 5,747,450; 5,737,514; 5,723,756; 5,593,881; та Geiser et al (1986) Gene 48: 109).

Наприклад, полінуклеотиди, що можуть бути згруповані із нуклеїновими кислотами даного винаходу, включають нуклеїнові кислоти, що кодують поліпептиди, які забезпечують резистентність до шкідників /патогенів, таких як віруси, нематоди, комахи або гриби, тощо. Приклади полінуклеотидів, що можуть бути згруповані із нуклеїновими кислотами винаходу, включають полінуклеотиди, які кодують: поліпептиди із пестицидною та/або інсектицидною активністю, такі як інші протеїни токсинів *Bacillus thuringiensis* (описані у Патентах США № 5,366,892; 5,747,450; 5,737,514; 5,723,756; 5,593,881; та Geiser et al., (1986) Gene 48:109), лектини (Van Damme et al. (1994) Plant Mol. Biol. 24:825), пентин (описаний у Патенті США № 5,981,722), тощо; властивості бажані для резистентності до хвороби або гербіциду (наприклад, гени детоксифікації фумонізину (Патент США № 5,792,931); гени резистентності до авірулентності та захворювань (Jones et al. (1994) Science 266:789; Martin et al., (1993) Science 262:1432; Mindrinos et al. (1994) Cell 78:1089); мутанти ацетолактатсинтази (ALS), що приводять

до резистентності до гербіцидів, такі як мутації S4 та/або Hra; резистентність до гліфосату (наприклад, ген 5-енол-піровіл-шикімат-3-фосфат-синтази (EPSPS), описаний у Патентах США № 4,940,935 та 5,188,642; або ген гліфосат N-ацетилтрансферази (GAT), описаний у Castle et al. (2004) Science, 304:1151-1154; та у Патентних публікаціях США № 20070004912, 20050246798, та 20050060767)); резистентність до глүфосинату (наприклад, гени фосфінотрицинацетилтрансферази, PAT та BAR, описані у Патентах США № 5,561,236 та 5,276,268); резистентність до гербіцидів, включаючи сульфонілсечовину, DHT (2,4D), та ППО гербіциди (наприклад, гліфосатацетилтрансфераза, арилоксиалканоатдіоксигеназа, ацетолактатсинтаза та протопорфіриногеноксидаза); цитохром P450 або його варіант, що забезпечує резистентність або толерантність до гербіциду, наприклад, гербіциди HPPD (патентна заявка США № 12/156,247; Патенти США № 6,380,465; 6,121,512; 5,349,127; 6,649,814; та 6,300,544; та патентна публікація PCT WO2007000077); та властивості бажані для обробки та оброблених продуктів, таких як насичені олії (наприклад, Патент США № 6,232,529); модифіковані олії (наприклад, гени десатурази жирних кислот (Патент США № 5,952,544; WO 94/11516)); модифіковані крохмалі (наприклад, ADPG пірофосфорилази (AGPaза), синтази крохмалю (SS), ферменти розгалужувачі крохмалю (SBE), та ферменти дерозгалужувачі крохмалю (SDBE)); та полімери або біопластик (наприклад, Патент США № 5,602,321; бета-кетотіолаза, полігідроксибутиратсинтаза та ацетоацетил-CoA редуктаза (Schubert et al. (1988) J. Bacteriol. 170:5837-5847) покращена експресія полігідроксиалканоатів (PHAs)); опис яких включено як посилання.

У особливо переважному варіанті втілення, рослина містить щонайменше одну додаткову гетеро логічну нуклеїнову кислоту, що містить нуклеотидну послідовність, яка кодує фермент толерантності до гербіциду, вибраний з, наприклад, групи, яка складається з наступних: 5-енолпіровілшикімат-3-фосфат синтаза (EPSPS), Гліфосатацетилтрансфераза (GAT), цитохром P450, фосфінотрицинацетилтрансфераза (PAT), синтаза ацетогідроксикислоти (AHAS; EC 4.1.3.18, також відома як ацетолактатсинтаза або ALS), Протопорфіриногеноксидаза (PPGO), фітоендесатураза (PD) та ферменти, що розкладають диам ба, як описано у WO 02/068607. Утворені комбінації також можуть включати множинні копії будь-якого потрібного полінуклеотиду.

Зазвичай, термін "гербіцид" означає активний інгредієнт, що знищує, бореться або негативним чином модифікує ріст рослин. Бажана кількість або концентрація гербіциду означає "ефективну кількість" або "ефективну концентрацію". "Ефективна кількість" та "ефективна концентрація" означає кількість або концентрацію, відповідно, достатню для вбивання або пригнічення росту подібної рослини дикого типу, рослинної тканини, рослинної клітини, мікроспори або клітини хазяїна, проте ця кількість не вбиває або пригнічує ріст резистентних до гербіциду рослин, рослинних тканин, рослинних клітин, мікроспор та клітин хазяїнів даного винаходу. Зазвичай, ефективна кількість гербіциду є кількістю, що стандартно використовують у сільському господарстві для знищення потрібних бур'янів. Така кількість відома фахівцям у галузі або може бути легко визначена, використовуючи відомі способи. Гербіцид на активність проявляється гербіцидами даного винаходу при нанесенні безпосередньо на рослину або ділянку рослини на будь-якій стадії росту, або перед посадкою або сходженням. Ефект залежить від виду рослини з якою борються, стадії розвитку рослини, параметрів нанесення: розведення та розмір крапель при розпилюванні, розмір частинок твердих компонентів, зовнішні умови під час застосування, конкретної сполуки, конкретних ад'ювантів та носіїв, типу ґрунту, тощо, а також кількості нанесеного хімікату. Ці та інші фактори можна регулювати з метою посилення неселективної або селективної гербіцидної дії. Зазвичай, бажано наносити гербіцид після сходження на відносно незрілу небажану рослину для одержання максимального ефекту.

"Толерантна до гербіциду" або "резистентна до гербіциду" рослина означає, що рослина є толерантною або резистентною до щонайменше одного гербіциду при рівні нанесення, що в нормі знищує або пригнічує ріст нормальної рослини або рослини дикого типу. "Толерантний до гербіциду протеїн ППО дикого типу або протеїн мутованої ППО" або "резистентний до гербіциду протеїн ППО дикого типу або протеїн мутованої ППО" означає, що такий ППО протеїн показує вищу активність ППО ніж активність протеїну ППО дикого типу, у присутності щонайменше одного гербіциду, який впливає на активність ППО, та у концентрації або рівні гербіциду, що інгібує активність ППО протеїну мутованої ППО дикого типу. Більш того, активність ППО такого толерантного або резистентного до гербіциду протеїну мутованої ППО у даному документі називають "толерантна до гербіциду" або "резистентна до гербіциду" активність ППО.

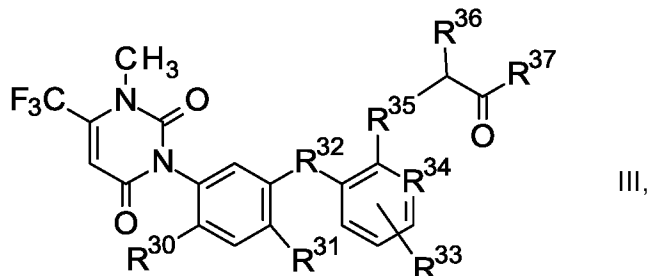
Зазвичай, якщо ППО-інгібуючі гербіциди (які також називають сполуки А) та/або гербіцидні сполуки В, як описано у даному документі, які можуть бути застосовані у контексті даного

винаходу, здатні утворити геометричні ізомери, наприклад, E/Z ізомери, то можливо використання обох, чистого ізомеру та їх сумішей, у композиції, придатній для застосування у даному винаході. Якщо ППО-інгібуючі гербіциди А та/або гербіцидні сполуки В, як описано у даному документі, мають один або більше центрів хіральності, та як наслідок, присутні як енантіомери або діастереомери, можливе застосування обох, чистих енантіомерів та діастереомерів та їх сумішей, у композиції згідно винаходу. Якщо ППО-інгібуючі гербіциди А та/або гербіцидні сполуки В, як описано у даному документі, мають здатні до іонізації функціональні групи, їх також застосовують у формі їх сільськогосподарсько прийнятних солей. Придатними є, взагалі, солі тих катіонів та кислотно-адитивні солі, чиї катіони та аніони, відповідно, не мають негативного впливу на активність активної сполуки. Бажані катіони є іонами лужних металів, бажано літію, натрію та калію, лужно-земельних металів, бажано кальцію та магнію, та перехідних металів, бажано марганцю, міді, цинку та заліза, також амонію та заміщеного амонію, у якому один з чотирьох атомів водню заміщено наступними: С₁-С₄-алкіл, гідрокси-С₁-С₄-алкіл, С₁-С₄-алкокси-С₁-С₄-алкіл, гідрокси-С₁-С₄-алкокси-С₁-С₄-алкіл, феніл або бензил, бажано амонію, метиламонію, ізопропіламонію, диметиламонію, діізопропіламонію, триметиламонію, гептиламонію, додециламонію, тетрадециламонію, тетраметиламонію, тетраетиламонію, тетрабутиламонію, 2-гідроксиетиламонію (сіль оламіну), 2-(2-гідроксиет-1-окси)ет-1-іламонію (диглікольамінова сіль), ди(2-гідроксиет-1-іл)амонію (сіль діоламіну), тріс(2-гідроксиетил)амонію (сіль троламіну), тріс(2-гідроксипропіл)амонію, бензилтриметиламонію, бензилтриетиламонію, N,N,N-триметилетаноламонію (сіль холіну), окрім цього, іони фосфонію, іони сульфонію, бажано три(С₁-С₄-алкіл)сульфоній, такі як триметилсульфоній, та іони сульфоксонію, бажано три(С₁-С₄-алкіл)сульфоксонію, та нарешті солі полі основних амінів, такі як N,N-біс-(3-амінопропіл)метиламін та диетилентриамін. Аніони придатних кислотно-адитивних солей включають в першу чергу хлорид, бромід, фторид, йодид, гідросульфат, метилсульфат, сульфат, дигідрофосфат, гідрофосфат, нітрат, бікарбонат, карбонат, гексафторсилікат, гексафторфосфат, бензоат, а також аніони С₁-С₄-алканових кислот, бажано форміат, ацетат, пропіонат та бутират.

ППО-інгібуючі гербіциди А та/або гербіцидні сполуки В, як описано у даному документі, що мають карбоксильну групу, можуть бути застосовані у формі кислоти, у формі сільськогосподарсько прийнятної солі як зазначено вище, або у формі сільськогосподарсько прийнятної похідної, наприклад, як амід, такі як моно- та ди-С₁-С₆-алкіламіди або ариламіди, як естери, наприклад, алілові естери, пропаргілові естери, С₁-С₁₀-алкілові естери, алкоксиалкілові естери, тефурил (тетрагідрофуран-2-іл)метил естери, а також як тіоестери, наприклад, як С₁-С₁₀-алкілтіо естери. Бажані моно- та ди-С₁-С₆-алкіламіди включають метил та диметиламіди. Бажані ариламіди включають, наприклад, аніліди та 2-хлораніліди. Бажані алкілові естери включають, наприклад, метил, етил, пропіл, ізопропіл, бутіл, ізобутіл, пентил, мексил (1-метилгексил), мептил (1-метилгептил), гептил, октил або ізооктил (2-етилгексил) естери. Бажані С₁-С₄-алкокси-С₁-С₄-алкіл естери включають розгалужені або з прямим ланцюгом С₁-С₄-алкоксиетілові естери, наприклад, 2-метоксиетіловий, 2-етоксиетіловий, 2-бутоксиетіловий (бутотил), 2-бутоксипропіловий або 3-бутоксипропіловий естер. Прикладом розгалуженого або з прямим ланцюгом С₁-С₁₀-алкілтіо естеру є етилтіо естер.

Приклади ППО-інгібуючих гербіцидів, що можуть бути використані згідно даного винаходу, включають ацифлуорфен, ацифлуорфен-натрію, аклоніфен, азафенідин, бенкарбазон, бензфендізон, біфенокс, бутафенацил, карфентразон, карфентразон-етил, хлометоксифен, цинідон-етил, флуазолат, флуфенпір, флуфенпір-етил, флуміклобак, флуміклобак-пентил, флуміоксазин, фторглікофен, фторглікофен-етил, флутіацет, флутіацет-метил, фомесафен, галосафен, лактофен, оксадіаргіл, оксадіазон, оксифлуорфен, пентоксазон, профлуазол, піраклоніл, пірафлуфен, пірафлуфен-етил, сафлуфенацил, сульфентразон, тидіазимін, тіафенацил, хлорнітрофен, флуміпропін, фторнітрофен, флупропацил, фурилоксифен, нітрофлуорфен, етил[3-[2-хлор-4-фтор-5-(1-метил-6-трифторметил-2,4-діоксо-1,2,3,4-тетрагідропіримідин-3-іл)фенокси]-2-піридилокси]ацетат (CAS 353292-31-6; S-3100), N-етил-3-2,6-дихлор-4-трифторметилфенокси)-5-метил-1Н-піразол-1-карбоксамід (CAS 452098-92-9), N-тетрагідрофурфурил-3-(2,6-дихлор-4-трифторметилфенокси)-5-метил-1Н-піразол-1-карбоксамід (CAS 915396-43-9), N-етил-3-(2-хлор-6-фтор-4-трифторметилфенокси)-5-метил-1Н-піразол-1-карбоксамід (CAS 452099-05-7), N-тетрагідрофурфурил-3-(2-хлор-6-фтор-4-трифторметилфенокси)-5-метил-1Н-піразол-1-карбоксамід (CAS 452100-03-7), 3-[7-фтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[1,4]оксазин-6-іл]-1,5-диметил-6-тіоксо-[1,3,5]тріазинан-2,4-діон (CAS 451484-50-7), 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[b][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-тріазинан-2,4-діон (CAS 1258836-72-4), 2-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-проп-2-ініл-3,4-дигідро-2Н-бензо[1,4]оксазин-6-іл)-4,5,6,7-тетрагідро-ізоіндол-1,3-діон

(CAS 1300118-96-0), 1-метил-6-трифторметил-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-проп-2-ініл-3,4-дигідро-2H-бензо[1,4]оксазин-6-іл)-1H-піримідин-2,4-діон, метил (Е)-4-[2-хлор-5-[4-хлор-5-(дифторметокси)-1H-метил-піразол-3-іл]-4-фтор-фенокси]-3-метокси-бут-2-еноат [CAS 948893-00-3], 3-[7-хлор-5-фтор-2-(трифторметил)-1H-бензімідазол-4-іл]-1-метил-6-(трифторметил)-1H-піримідин-2,4-діон (CAS 212754-02-4), та урацили формули III

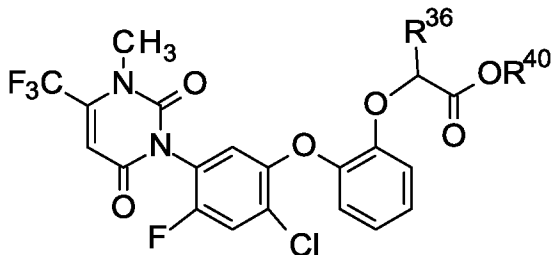


III,

де
 R^{30} та R^{31} незалежно один від одного означають F, Cl або CN;
 R^{32} означає O або S;
 R^{33} означає H, F, Cl, CH_3 або OCH_3 ;
 R^{34} означає CH або N;
 R^{35} означає O або S;
 R^{36} означає H, CN, CH_3 , CF_3 , OCH_3 , OC_2H_5 , SCH_3 , SC_2H_5 , $(CO)OC_2H_5$ або CH_2R^{38} ,
де R^{38} означає F, Cl, OCH_3 , SCH_3 , SC_2H_5 , CH_2F , CH_2Br або CH_2OH ;
та
 R^{37} означає $(C_1-C_6\text{-алкіл})\text{аміно}$, $(C_1-C_6\text{-діалкіл})\text{аміно}$, $(NH)OR^{39}$, OH, OR^{40} або SR^{40}
де R^{39} означає CH_3 , C_2H_5 або феніл;
та
 R^{40} незалежно означає $C_1-C_6\text{-алкіл}$, $C_2-C_6\text{-алкеніл}$, $C_3-C_6\text{-алкініл}$, $C_1-C_6\text{-галоалкіл}$, $C_1-C_6\text{-алкокси-}C_1-C_6\text{-алкіл}$, $C_1-C_6\text{-алкокси-}C_1-C_6\text{-алкокси-}C_1-C_6\text{-алкіл}$, $C_2-C_6\text{-ціаноалкіл}$, $C_1-C_4\text{-алкокси-карбоніл-}C_1-C_4\text{-алкіл}$, $C_1-C_4\text{-алкіл-карбоніл-аміно}$, $C_1-C_6\text{-алкілсульфініл-}C_1-C_6\text{-алкіл}$, $C_1-C_6\text{-алкіл-сульфоніл-}C_1-C_6\text{-алкіл}$, $C_1-C_6\text{-діалкокси-}C_1-C_6\text{-алкіл}$, $C_1-C_6\text{-алкіл-карбонілокси-}C_1-C_6\text{-алкіл}$, феніл-карбоніл- $C_1-C_6\text{-алкіл}$, три($C_1-C_3\text{-алкіл}$)-силіл- $C_1-C_6\text{-алкіл}$, три($C_1-C_3\text{-алкіл}$)-силіл- $C_1-C_6\text{-алкеніл}$, три($C_1-C_3\text{-алкіл}$)-силіл- $C_1-C_6\text{-алкініл}$, три($C_1-C_3\text{-алкіл}$)-силіл- $C_1-C_6\text{-алкокси-}C_1-C_6\text{-алкіл}$, диметиламіно, тетрагідропіраніл, тетрагідрофураніл- $C_1-C_3\text{-алкіл}$, феніл- $C_1-C_6\text{-алкокси-}C_1-C_6\text{-алкіл}$, феніл- $C_1-C_3\text{-алкіл}$, піридил- $C_1-C_3\text{-алкіл}$, піридил, феніл,
де піридини та феніли незалежно один від одного заміщені 1-5 замісниками, вибраними з групи, яка складається з галогену, $C_1-C_3\text{-алкілу}$ або $C_1-C_2\text{-галоалкілу}$;
 $C_3-C_6\text{-циклоалкіл}$ або $C_3-C_6\text{-циклоалкіл-}C_1-C_4\text{-алкіл}$,
де циклоалкіли незалежно один від одного є незаміщеними або заміщеними 1-5 замісниками, вибраними з групи, яка складається з галогену, $C_1-C_3\text{-алкілу}$ та $C_1-C_2\text{-галоалкілу}$;
включаючи їх сільськогосподарсько прийнятні солі лужних металів або амонієві солі.
Бажані ППО-інгібуючі гербіциди, що можуть бути використані згідно даного винаходу, включають:
ацифлуорфен, ацифлуорфен-натрію, азафенідин, бенкарбазон, бензфендізон, бутафенацил, карфентразон-етил, цинідон-етил, флуфенпір-етил, флуміклорак-пентил, флуміоксазин, фторглікофен-етил, флутіацет-метил, фомесафен, лактофен, оксадіаргіл, оксадіазон, оксифлуорфен, пентоксазон, пірафлуфен-етил, сафлуфенацил, сульфентразон, етил[3-[2-хлор-4-фтор-5-(1-метил-6-трифторметил-2,4-діоксо-1,2,3,4-тетрагідропіримідин-3-іл)фенокси]-2-піридилокси]ацетат (CAS 353292-31-6; S-3100), N-етил-3-(2,6-дихлор-4-трифторметилфенокси)-5-метил-1H-піразол-1-карбоксамід (CAS 452098-92-9), N-тетрагідрофурфурил-3-(2,6-дихлор-4-трифторметилфенокси)-5-метил-1H-піразол-1-карбоксамід (CAS 915396-43-9), N-етил-3-(2-хлор-6-фтор-4-трифторметилфенокси)-5-метил-1H-піразол-1-карбоксамід (CAS 452099-05-7), N-тетрагідрофурфурил-3-(2-хлор-6-фтор-4-трифторметилфенокси)-5-метил-1H-піразол-1-карбоксамід (CAS 452100-03-7), 3-[7-фтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2H-бензо[1,4]оксазин-6-іл]-1,5-диметил-6-тіоксо-[1,3,5]тріазинан-2,4-діон (CAS 451484-50-7), 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2H-бензо[b][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-тріазинан-2,4-діон (CAS 1258836-72-4), 2-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-проп-2-ініл-3,4-дигідро-2H-бензо[1,4]оксазин-6-іл)-4,5,6,7-тетрагідро-ізоіндол-1,3-діон (CAS 1300118-96-0); 1-метил-6-трифторметил-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-проп-2-ініл-3,4-дигідро-2H-бензо[1,4]оксазин-6-іл)-1H-піримідин-2,4-діон (CAS 1304113-05-0), 3-[7-хлор-5-фтор-2-

(трифторметил)-1Н-бензімідазол-4-іл]-1-метил-6-(трифторметил)-1Н-піримідин-2,4-діон (CAS 212754-02-4)

урачили формули III.1 (відповідають урацилам формули III, де R³⁰ означає F, R³¹ означає Cl, R³² означає O; R³³ означає H; R³⁴ означає CH; R³⁵ означає O та R³⁷ означає OR⁴⁰)



III.1,

5

де
R³⁶ означає OCH₃, OC₂H₅, SCH₃ або SC₂H₅;

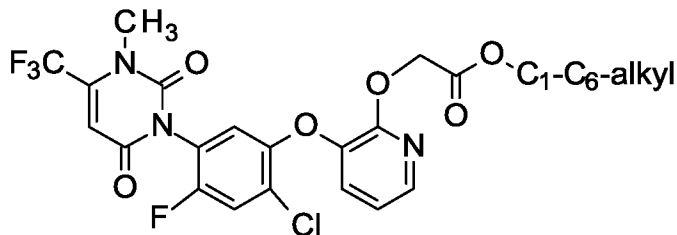
та

10 R⁴⁰ означає C₁-C₆-алкіл, C₂-C₆-алкеніл, C₃-C₆-алкініл, C₁-C₆-галоалкіл, C₁-C₆-алкокси-C₁-C₆-алкіл, C₁-C₆-алкокси-C₁-C₆-алкокси-C₁-C₆-алкіл, C₁-C₃-ціаноалкіл, феніл -C₁-C₃-алкіл, піридил-C₁-C₃-алкіл, C₃-C₆-циклоалкіл або C₃-C₆-циклоалкіл-C₁-C₄-алкіл,

де циклоалкіли є незаміщеними або заміщені 1-5 замісниками, вибраними з групи, яка складається з галогену, C₁-C₃-алкілу та C₁-C₂-галоалкілу;

та

15 урачили формули III.2 (відповідають урацилам формули III, де R³⁰ означає F; R³¹ означає Cl; R³² означає O; R³³ означає H; R³⁴ означає N; R³⁵ означає O, та R³⁷ означає OR⁴⁰ із R⁴⁰ означає C₁-C₆-алкіл)



III.2,

20

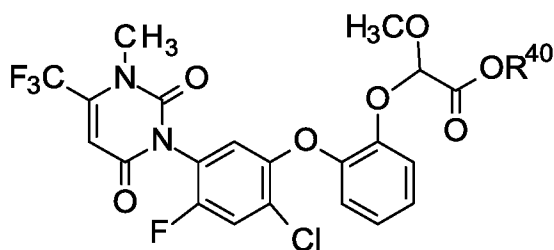
Особливо бажані ППО-інгібуючі гербіциди, що можуть бути використані згідно даного винаходу, включають:

ацифлуорфен, ацифлуорфен-натрію, бутафенацил, карфентразон-етил, цинідон-етил, флуміоксазин, флутіацет-метил, фомесафен, лактофен, оксадіаргіл, оксифлуорфен, сафлуфенацил, сульфентразон, етил[3-[2-хлор-4-фтор-5-(1-метил-6-трифторметил-2,4-діоксо-1,2,3,4-тетрагідропіримідин-3-іл)феноксид]-2-піридилокси]ацетат (CAS 353292-31-6; S-3100), 3-[7-фтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[1,4]оксазин-6-іл]-1,5-диметил-6-тіоксо-

25 [1,3,5]тріазинан-2,4-діон (CAS 451484-50-7), 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-тріазинан-2,4-діон (CAS 1258836-72-4), та 2-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-проп-2-ініл-3,4-дигідро-2Н-бензо[1,4]оксазин-6-іл)-4,5,6,7-тетрагідро-ізоіндол-1,3-діон (CAS 1300118-96-0), 1-метил-6-трифторметил-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-проп-2-ініл-3,4-дигідро-2Н-бензо[1,4]оксазин-6-іл)-1Н-піримідин-2,4-діон (CAS 1304113-05-0),

30

урачили формули III.1,1 (відповідають урацилам формули III, де R³⁰ означає F, R³¹ означає Cl, R³² означає O; R³³ означає H; R³⁴ означає CH; R³⁵ означає O, R³⁶ означає OCH₃ та R³⁷ означає OR⁴⁰)



III.1.1,

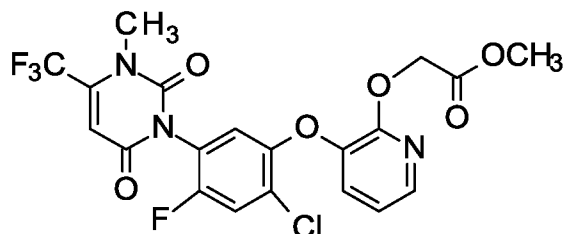
35

де

R⁴⁰ означає C₁-C₆-алкіл, C₂-C₆-алкеніл, C₃-C₆-алкініл, C₁-C₆-галоалкіл, C₁-C₆-алкокси-C₁-C₆-алкіл, C₁-C₆-алкокси-C₁-C₆-алкокси-C₁-C₆-алкіл, C₁-C₃-ціаноалкіл, фенол-C₁-C₃-алкіл, піридил-C₁-C₃-алкіл, C₃-C₆-циклоалкіл або C₃-C₆-циклоалкіл-C₁-C₄-алкіл,

де циклоалкіли є незаміщеними або заміщені галоген, C₁-C₃-алкіл та C₁-C₂-галоалкіл;
 5 бажано означає CH₃, CH₂CH₂OC₂H₅, CH₂CHF₂, циклогексил, (1-метилциклопропіл)метил або CH₂(піридин-4-іл);

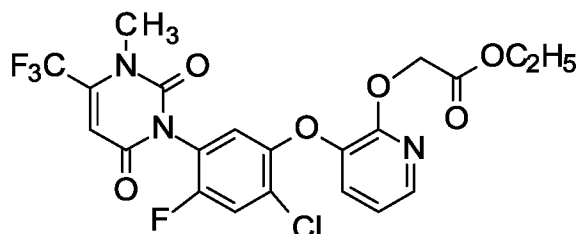
урацили формули III.2.1 (відповідають урацилам формули III, де R³⁰ означає F; R³¹ означає Cl; R³² означає O; R³³ означає H; R³⁴ означає N; R³⁵ означає O та R³⁷ означає OR⁴⁰ із R⁴⁰ означає CH₃)



III.2.1,

та

урацили формули III.2.2 (відповідають урацилам формули III, де R³⁰ означає F; R³¹ означає Cl; R³² означає O; R³³ означає H; R³⁴ означає N; R³⁵ означає O та R³⁷ означає OR⁴⁰ із R⁴⁰ означає C₂H₅)



III.2.2,

Особливо бажані ППО-інгібуючі гербіциди включають ППО-інгібуючі гербіциди.1 - A.14, наведені нижче у таблиці A:

Таблиця А

A.1	ацифлуорфен
A.2	бутафенацил
A.3	карфентразон-етил
A.4	цинідон-етил
A.5	флуміоксазин
A.6	флутіацет-метил
A.7	фомесафен
A.8	лактофен
A.9	оксадіаргіл
A.10	оксифлуорфен
A.11	сафлуфенацил
A.12	сульфентразон
A.13	етил[3-[2-хлор-4-фтор-5-(1-метил-6-трифторметил-2,4-діоксо-1,2,3,4-тетрагідропіримідин-3-іл)фенокси]-2-піридилокси]ацетат (CAS 353292-31-6)
A.14	1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[b][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-тріазинан-2,4-діон (CAS 1258836-72-4)

Вищеописані ППО-інгібуючі гербіциди, придатні у даному винаході, зазвичай краще наносити разом із одним або більше іншими гербіцидами для забезпечення боротьби із більш широким спектром небажаної рослинності. Наприклад, ППО-інгібуючі гербіциди також можуть бути використані разом із додатковими гербіцидами, до яких культурна рослина є природно толерантною, або до яких вона резистентна внаслідок експресії одного або більше додаткових трансгенів, наприклад, описаних більш детально далі, або до яких вона резистентна внаслідок мутагенезу або схрещування, описаних у даному документі.

При використанні разом із іншими спрямованими гербіцидами, ППО-інгібуючі гербіциди, до яких рослина даного винаходу стала резистентною або толерантною, можуть бути сформульовані із іншим гербіцидом або гербіцидами, баково змішані із іншим гербіцидом або гербіцидами, або нанесені послідовно із іншим гербіцидом або гербіцидами.

5 Придатні компоненти для сумішей включають, наприклад, вибрані з гербіцидів класів b1) - b15)

B) гербіциди класу b1) - b15):

b1) інгібітори біосинтезу ліпідів;

b2) інгібітори ацетолактат синтази (інгібітори ALS);

10 b3) інгібітори фотосинтезу;

b4) інгібітори протопорфіриноген-ІХ оксидази,

b5) відбілюючі гербіциди;

b6) інгібітори енолпірувілшикімат 3-фосфатсинтази (інгібітори EPSP);

b7) інгібітори глютамінсинтетази;

15 b8) інгібітори 7,8-дигідро-птеридинсинтази (інгібітори DHP);

b9) інгібітори мітозу;

b10) інгібітори синтезу жирних кислот з дуже довгим ланцюгом (VLCFA інгібітори);

b11) інгібітори біосинтезу целюлози;

b12) роз'єднувальні гербіциди;

20 b13) ауксинові гербіциди;

b14) інгібітори транспорту ауксину; та

b15) інші гербіциди, вибрані з групи, що складається з наступних: бромбутид, хлорфлуренол, хлорфлуренол-метил, цинметилін, кумілурун, далапон, дазомет, дифензокват, дифензокват-метилсульфат, диметипін, DSMA, дімрон, ендотал та його солі, етобензанід, флампроп, флампроп-ізопропіл, флампроп-метил, флампроп-М-ізопропіл, флампроп-М-метил, флуренол, флуренол-бутил, флурпримідол, фосамін, фосамін-амонію, інданофан, індазифлам, малеїновий гідразид, мефлуїдид, метам, метіозолін (CAS 403640-27-7), метил азид, метил бромід, метил-дімрон, метил йодид, MSMA, олеїнова кислота, оксазикломефон, пеларгонова кислота, пірибутикарб, квінокламін, триазифлам, тридифан та 6-хлор-3-(2-циклопропіл-6-метилфенокси)-4-піридазинол (CAS 499223-49-3) та його солі та естери;

включаючи їх сільськогосподарсько прийнятні солі або похідні.

Приклади гербіцидів В, що можуть бути використані у комбінації із ППО-інгібуючими гербіцидами даного винаходу, включають:

b1) з групи інгібіторів біосинтезу ліпідів:

35 АСС-гербіциди, такі як алоксидим, алоксидим-натрію, бутроксидим, клетодим, клодінафоп, клодінафоп-пропаргіл, циклоксидим, цигалофоп, цигалофоп-бутил, диклофоп, диклофоп-метил, феноксапроп, феноксапроп-етил, феноксапроп-Р, феноксапроп-Р-етил, флуазифоп, флуазифоп-бутил, флуазифоп-Р, флуазифоп-Р-бутил, галоксифоп, галоксифоп-метил, галоксифоп-Р, галоксифоп-Р-метил, метаміфоп, піноксаден, профоксидим, пропаквізафоп, квізалофоп, квізалофоп-етил, квізалофоп-тефурил, квізалофоп-Р, квізалофоп-Р-етил, квізалофоп-Р-тефурил, сетоксидим, тепралоксидим, тралоксидим,

4-(4'-хлор-4-циклопропіл-2'-фтор[1,1'-біфеніл]-3-іл)-5-гідрокси-2,2,6,6-тетраметил-2Н-піран-3(6Н)-он (CAS 1312337-72-6); 4-(2',4'-дихлор-4-циклопропіл[1,1'-біфеніл]-3-іл)-5-гідрокси-2,2,6,6-тетраметил-2Н-піран-3(6Н)-он (CAS 1312337-45-3); 4-(4'-хлор-4-етил-2'-фтор[1,1'-біфеніл]-3-іл)-5-гідрокси-2,2,6,6-тетраметил-2Н-піран-3(6Н)-он (CAS 1033757-93-5); 4-(2',4'-дихлор-4-етил[1,1'-біфеніл]-3-іл)-2,2,6,6-тетраметил-2Н-піран-3,5(4Н,6Н)-діон (CAS 1312340-84-3); 5-(ацетилокси)-4-(4'-хлор-4-циклопропіл-2'-фтор[1,1'-біфеніл]-3-іл)-3,6-дигідро-2,2,6,6-тетраметил-2Н-піран-3-он (CAS 1312337-48-6); 5-(ацетилокси)-4-(2',4'-дихлор-4-циклопропіл-[1,1'-біфеніл]-3-іл)-3,6-дигідро-2,2,6,6-тетраметил-2Н-піран-3-он; 5-(ацетилокси)-4-(4'-хлор-4-етил-2'-фтор[1,1'-біфеніл]-3-іл)-3,6-дигідро-2,2,6,6-тетраметил-2Н-піран-3-он (CAS 1312340-82-1); 5-(ацетилокси)-4-(2',4'-дихлор-4-етил[1,1'-біфеніл]-3-іл)-3,6-дигідро-2,2,6,6-тетраметил-2Н-піран-3-он (CAS 1033760-55-2); 4-(4'-хлор-4-циклопропіл-2'-фтор[1,1'-біфеніл]-3-іл)-5,6-дигідро-2,2,6,6-тетраметил-5-оксо-2Н-піран-3-іл вугільної кислоти метиловий естер (CAS 1312337-51-1); 4-(2',4'-дихлор-4-циклопропіл-[1,1'-біфеніл]-3-іл)-5,6-дигідро-2,2,6,6-тетраметил-5-оксо-2Н-піран-3-іл вугільної кислоти метиловий естер; 4-(4'-хлор-4-етил-2'-фтор[1,1'-біфеніл]-3-іл)-5,6-дигідро-2,2,6,6-тетраметил-5-оксо-2Н-піран-3-іл вугільної кислоти метиловий естер (CAS 1312340-83-2); 4-(2',4'-дихлор-4-етил[1,1'-біфеніл]-3-іл)-5,6-дигідро-2,2,6,6-тетраметил-5-оксо-2Н-піран-3-іл вугільної кислоти метиловий естер (CAS 1033760-58-5); та не-АСС гербіциди, такі як бенфурезат, бутилат, циклоат, далапон, диметіперат, ЕРТС, еспрокарб, етофумезат, флурпропанат, молінат, орбенкарб, пебулат, просульфоккарб, ТСА, тіобенкарб, тіокарбазил, тріаллат та вернолат;

b2) з групи ALS інгібіторів:

сульфонілсечовини, такі як амідосульфурон, азимсульфурон, бенсульфурон, бенсульфурон-метил, хлорімурон, хлорімурон-етил, хлорсульфурон, циносульфурон, циклосульфамурон, етаметсульфурон, етаметсульфурон-метил, етокиссульфурон, флазасульфурон, флуцетосульфурон, флупірссульфурон, флупірссульфурон-метил-натрію, форамсульфурон, галосульфурон, галосульфурон-метил, імазосульфурон, йодосульфурон, йодосульфурон-метил-натрію, іофенсульфурон, іофенсульфурон-натрію, мезосульфурон, метазосульфурон, метсульфурон, метсульфурон-метил, нікосульфурон, ортосульфамурон, оксасульфурон, примісульфурон, примісульфурон-метил, пропірисульфурон, просульфурон, піразосульфурон, піразосульфурон-етил, римсульфурон, сульфометурон, сульфометурон-метил, сульфосульфурон, тіфенсульфурон, тіфенсульфурон-метил, тріасульфурон, трибенурон, трибенурон-метил, трифлорисульфурон, трифлусульфурон, трифлусульфурон-метил та тритосульфурон,

імідозалінони, такі як імазаметабенз, імазаметабенз-метил, імазамокс, імазапек, імазапек, імазапекін та імазетапек, тріазолопіримідинові гербіциди та сульфонаніліди, такі як клорансулам, клорансулам-метил, диклосулам, флуметсулам, флорасулам, метосулам, пенноксулам, піримісульфан та пірокксулам,

піримідинілбензоати, такі як біспірибак, біспірибак-натрію, пірибензоксим, пірифталід, піримінобак, піримінобак-метил, піритіобак, піритіобак-натрію, 4-[[[2-[(4,6-диметокси-2-піримідиніл)окси]феніл]метил]аміно]-бензойної кислоти 1-метиловий естер (CAS 420138-41-6), 4-[[[2-[(4,6-диметокси-2-піримідиніл)окси]феніл]метил]аміно]-бензойної кислоти пропілів естер (CAS 420138-40-5), N-(4-бромфеніл)-2-[(4,6-диметокси-2-піримідиніл)окси]бензолметанамін (CAS 420138-01-8),

сульфоніламінокарбоніл-тріазолінонові гербіциди, такі як флукарбазон, флукарбазон-натрію, пропоксикарбазон, пропоксикарбазон-натрію, тіенкарбазон та тіенкарбазон-метил; та тріафамон;

серед них, бажаний варіант втілення винаходу стосується тих композицій, що містять щонайменше один імідазоліноновий гербіцид;

b3) з групи інгібіторів фотосинтезу:

амікарбазон, інгібітори фотосистеми II, наприклад, триазинові гербіциди, включаючи хлортріазин, тріазинони, тріазиндіони, метилтіотріазини та піридазинони, такі як аметрин, атразин, хлоридазон, ціаназин, десметрин, диметаметрин, гексазинон, метрибузин, прометон, прометрин, пропазин, симазин, симетрин, тербуметон, тербутилазин, тербутрин та триетазин, арил сечовини, такі як хлорбромурон, хлортолурун, хлорксурон, димефурон, діурон, флуометурон, ізопротурон, ізоурон, лінурун, метамітрон, метабензтіазурон, метобензурон, метоксурон, монолінурун, небурон, сідурун, тебутіурон та тіадіазурон, феніл карбамати, такі як десмедіфам, карбутілат, фенмедіфам, фенмедіфам-етил, нітрилові гербіциди, такі як бромфеноксим, бромксиніл та його солі та естери, іоксиніл та його солі та естери, урацили, такі як бромацил, ленацил та тербацил, та бентазон та бентазон-натрію, піридат, піридафол, пентанохлор та пропаніл, та інгібітори фотосистеми I, такі як дикват, дикват-дибромід, паракват, паракват-дихлорид та паракват-диметилсульфат. Серед них, бажаний варіант втілення винаходу стосується тих композицій, що містять щонайменше одну арил сечовину. Серед них, також бажаний варіант втілення винаходу стосується тих композицій, що містять щонайменше один тріазиновий гербіцид. Серед них, також бажаний варіант втілення винаходу стосується тих композицій, що містять щонайменше один нітриловий гербіцид;

b4) з групи інгібіторів протопорфіриноген-IX оксидази:

ацифлуорфен, ацифлуорфен-натрію, азафенідин, бенкарбазон, бензфендізон, біфенокс, бугафенацил, карфентразон, карфентразон-етил, хлоретоксифен, цинідон-етил, флуазолат, флуфенпек, флуфенпек-етил, флуміклолак, флуміклолак-пентил, флуміоксазин, фторглікофен, фторглікофен-етил, флутіацет, флутіацет-метил, фомесафен, галосафен, лактофен, оксациаргіл, оксациазон, оксифлуорфен, пентоксазон, профлуазол, піраклоніл, пірафлуфен, пірафлуфен-етил, сафлуфенацил, сульфентразон, тидіазимін, тіафенацил, етил [3-[2-хлор-4-фтор-5-(1-метил-6-трифторметил-2,4-діоксо-1,2,3,4-тетрагідропіримідин-3-іл)феноксид]-2-піридилокси]ацетат (CAS 353292-31-6; S-3100, N-етил-3-(2,6-дихлор-4-трифторметилфеноксид)-5-метил-1Н-піразол-1-карбоксамід (CAS 452098-92-9), N-тетрагідротетрафуріл-3-(2,6-дихлор-4-трифторметилфеноксид)-5-метил-1Н-піразол-1-карбоксамід (CAS 915396-43-9), N-етил-3-(2-хлор-6-фтор-4-трифторметилфеноксид)-5-метил-1Н-піразол-1-карбоксамід (CAS 452099-05-7), N-тетрагідротетрафуріл-3-(2-хлор-6-фтор-4-трифторметилфеноксид)-5-метил-1Н-піразол-1-карбоксамід (CAS 452100-03-7), 3-[7-фтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[1,4]оксазин-6-іл]-1,5-диметил-6-тіоксо-[1,3,5]тріазинан-2,4-діон, 1,5-диметил-6-тіоксо-3-

(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[*b*][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-тріазинан-2,4-діон (CAS 1258836-72-4), 2-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-проп-2-ініл-3,4-дигідро-2Н-бензо[1,4]оксазин-6-іл)-4,5,6,7-тетрагідро-ізоіндол-1,3-діон, 1-метил-6-трифторметил-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-проп-2-ініл-3,4-дигідро-2Н-бензо[1,4]оксазин-6-іл)-1Н-піримідин-2,4-діон (CAS 1304113-05-0), метил (Е)-4-[2-хлор-5-[4-хлор-5-(дифторметокси)-1Н-метил-піразол-3-іл]-4-фтор-фенокси]-3-метокси-бут-2-єноат [CAS 948893-00-3], and 3-[7-хлор-5-фтор-2-(трифторметил)-1Н-бензімідазол-4-іл]-1-метил-6-(трифторметил)-1Н-піримідин-2,4-діон (CAS 212754-02-4);

b5) з групи відбілюючих гербіцидів:

PDS інгібітори: бєфлубутамід, дифлуфєнкан, флурідон, флурохлаоридон, флуртамон, норфлуразон, піколінафєн, та 4-(3-трифторметилфєнокси)-2-(4-трифторметилфєніл)піримідин (CAS 180608-33-7), HPPD інгібітори: бензобіциклон, бензофєнап, кломазон, ізоксафлутол, мєзотріон, пірасульфотол, піразолінат, піразоксифєн, сулкотріон, тєфурилтріон, тємботріон, топрамєзон та біциклопірон, відбілювач, нєвідома мішєнь: аклоніфєн, амітрол та флумєтурон;

b6) з групи інгібіторів EPSP синтази:

гліфосат, гліфосат-ізопропіламонію, гліпосат-калію та гліфосат-тримєзію (сульфосат);

b7) з групи інгібіторів глутамінсинтази:

біланафос (біалафос), біланафос-натрію, глюфосинат, глюфосинат-Р та глюфосинат-амонію;

b8) з групи інгібіторів DHP синтази:

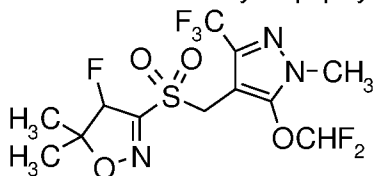
асулам;

b9) з групи інгібіторів мітозу:

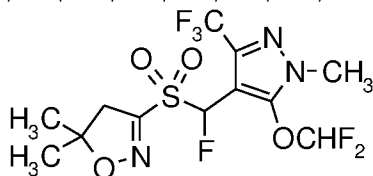
сполуки групи K1: динітроаніліни, такі як бєнфлуралін, бутралін, динітрамін, єталфлуралін, флухлоралін, орізалін, пєндимєталін, продіамін та трифлуралін, фосфорамідати, такі як аміпрофос, аміпрофос-мєтил, та бутаміфос, гербіциди бензойної кислоти, такі як хлортал, хлортал-димєтил, піридини, такі як дитіопір та тіазопір, бензаміди, такі як пропізамід та тєбутам; сполуки групи K2: хлорпрофам, профам та карбетамід, сєрєд них, сполуки групи K1, зокрєма, динітроаніліни є переважними;

b10) з групи інгібіторів VLCFA:

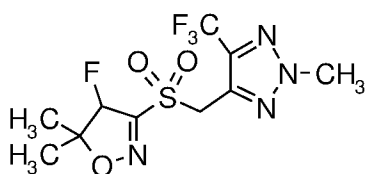
хлорацєтаміди, такі як ацєтохлор, алахлор, бутахлор, димєтахлор, димєтенамід, димєтенамід-Р, мєтазахлор, мєтолахлор, мєтолахлор-S, пєтоксамід, прєтілахлор, пропахлор, пропізохлор та тєнілхлор, оксиацєтаніліди, такі як флуфєнацєт та мєфєнацєт, ацєтаніліди, такі як дифєнамід, напроанілід та напропамід, тєтразолінони, такі як фєнтразамід, та інші гербіциди, такі як анілофос, кафєнстрол, фєноксасульфєн, іпфєнкарбазон, піпєрофос, піроксасульфєн та ізоксазолінові сполуки формул II.1, II.2, II.3, II.4, II.5, II.6, II.7, II.8 та II.9



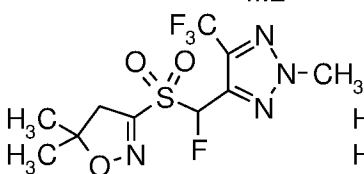
II.1



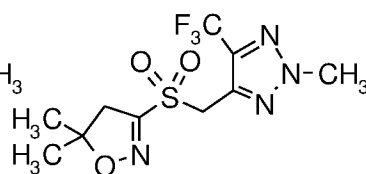
II.2



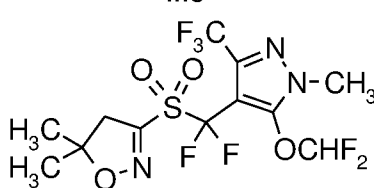
II.3



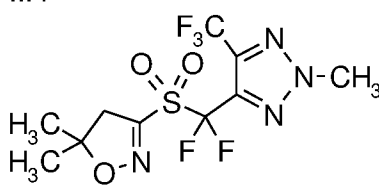
II.4



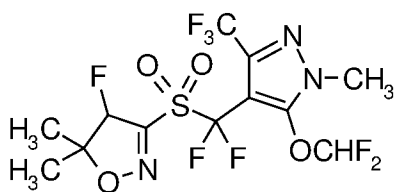
II.5



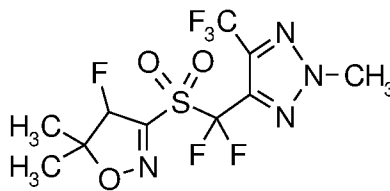
II.6



II.7



II.8



II.9

ізоксазолінові сполуки формули (I)I відомі у галузі, наприклад, з WO 2006/024820, WO 2006/037945, WO 2007/071900 та WO 2007/096576;

серед VLCFA інгібіторів, перевагу надають хлор ацетамідам та оксиацетамідам;

5 b11) з групи інгібіторів біосинтезу целюлози:

хлортіамід, дихлобеніл, флупоксам, індазифлам, тріазифлам, ізоксабен та 1-циклогексил-5-пентафторфеніл окси-1⁴-[1,2,4,6]тіатриазин-3-іламін;

b12) з групи роз'єднувальних гербіцидів:

діносеб, дінотерб та DNOC та його солі;

10 b13) з групи ауксинових гербіцидів:

2,4-D та його солі та естери, такі як клацифос, 2,4-DB та його солі та естери, аміноциклопірахлор та його солі та естери, амінопіралід та його солі, такі як амінопіралід-тріс(2-гідроксипропіл)амонію та його естери, беназолін, беназолін-етил, хлорамбен та його солі та естери, кломеппроп, клопіралід та його солі та естери, дікамба та його солі та естери, дихлорпроп та його солі та естери, дихлорпроп-Р та його солі та естери, флуороксіпір, флуороксіпір-бутометил, флуороксіпір-метил, галауоксифен та його солі та естери (CAS 943832-60-8); MCPA та його солі та естери, MCPA-тіоетил, MCPB та його солі та естери, мекопроп та його солі та естери, мекопроп-Р та його солі та естери, піклорам та його солі та естери, квінклорак, квінмерак, ТВА (2,3,6) та його солі та естери та триклопір та його солі та естери;

20 b14) з групи інгібітори транспорту ауксину: дифлуфензопір, дифлуфензопір-натрію, напалам та напалам-натрію;

b15) з групи інших гербіцидів: бромбутид, хлорфлуренол, хлорфлуренол-метил, цинметилін, кумілурун, циклопіриморат (CAS 499223-49-3) та його солі та естери, далапон, дазомет, дифензокват, дифензокват-метилсульфат, диметипін, DSMA, дімрон, ендотал та його солі, етобензанід, флампроп, флампроп-ізопропіл, флампроп-метил, флампроп-М-ізопропіл, флампроп-М-метил, флуренол, флуренол-бутил, флупримідол, фосамін, фосамін-амонію, інданофан, індазифлам, малеїновий гідрозид, мефлуїдид, метам, метіозолін (CAS 403640-27-7), метил азид, метил бромід, метил-дімрон, метил йодид, MSMA, олеїнова кислота, оксакзикломефон, пеларгонова кислота, пірибутикарб, квінокламін, тріазифлам та тридифан..

30 Бажані гербіциди В, що можуть бути використані у комбінації із ППО-інгібуючими гербіцидами даного винаходу, включають:

b1) з групи інгібіторів біосинтезу ліпідів:

клетодим, клодінафоп-пропаргіл, циклоксидим, цигалофоп-бутил, диклофоп-метил, феноксапроп-Р-етил, флуазифоп-Р-бутил, галоксифоп-Р-метил, метаміфоп, піноксаден, 35 профоксидим, пропаквізафоп, квізалофоп-Р-етил, квізалофоп-Р-тефурил, сетоксидим, тепралоксидим, тралкоксидим, 4-(4'-хлор-4-циклопропіл-2'-фтор[1,1'-біфеніл]-3-іл)-5-гідрокси-2,2,6,6-тетраметил-2Н-піран-3(6Н)-он (CAS 1312337-72-6); 4-(2',4'-дихлор-4-циклопропіл[1,1'-біфеніл]-3-іл)-5-гідрокси-2,2,6,6-тетраметил-2Н-піран-3(6Н)-он (CAS 1312337-45-3); 4-(4'-хлор-4-етил-2'-фтор[1,1'-біфеніл]-3-іл)-5-гідрокси-2,2,6,6-тетраметил-2Н-піран-3(6Н)-он (CAS 1033757-93-5); 4-(2',4'-дихлор-4-етил[1,1'-біфеніл]-3-іл)-2,2,6,6-тетраметил-2Н-піран-3,5(4Н,6Н)-діон (CAS 1312340-84-3); 5-(ацетилокси)-4-(4'-хлор-4-циклопропіл-2'-фтор[1,1'-біфеніл]-3-іл)-3,6-дигідро-2,2,6,6-тетраметил-2Н-піран-3-он (CAS 1312337-48-6); 5-(ацетилокси)-4-(2',4'-дихлор-4-циклопропіл- [1,1'-біфеніл]-3-іл)-3,6-дигідро-2,2,6,6-тетраметил-2Н-піран-3-он; 5-(ацетилокси)-4-(4'-хлор-4-етил-2'-фтор[1,1'-біфеніл]-3-іл)-3,6-дигідро-2,2,6,6-тетраметил-2Н-піран-3-он (CAS 1312340-82-1); 5-(ацетилокси)-4-(2',4'-дихлор-4-етил[1,1'-біфеніл]-3-іл)-3,6-дигідро-2,2,6,6-тетраметил-2Н-піран-3-он (CAS 1033760-55-2); 4-(4'-хлор-4-циклопропіл-2'-фтор[1,1'-біфеніл]-3-іл)-5,6-дигідро-2,2,6,6-тетраметил-5-оксо-2Н-піран-3-іл вугільної кислоти метиловий естер (CAS 1312337-51-1); 4-(2',4'-дихлор-4-циклопропіл-[1,1'-біфеніл]-3-іл)-5,6-дигідро-2,2,6,6-тетраметил-5-оксо-2Н-піран-3-іл вугільної кислоти метиловий естер; 4-(4'-хлор-4-етил-2'-фтор[1,1'-біфеніл]-3-іл)-5,6-дигідро-2,2,6,6-тетраметил-5-оксо-2Н-піран-3-іл вугільної кислоти метиловий естер (CAS 1312340-83-2); 4-(2',4'-дихлор-4-етил[1,1'-біфеніл]-3-іл)-5,6-дигідро-2,2,6,6-тетраметил-5-оксо-2Н-піран-3-іл вугільної кислоти метиловий естер (CAS 1033760-58-5); бенфурезат, димепіперат, ЕРТС, еспрокарб, етофумезат, молінат, орбенкарб, просульфоккарб, тіобенкарб та

триаллат;

b2) з групи ALS інгібіторів:

амідосульфурон, азимсульфурон, бенсульфурон-метил, біспірибак-натрію, хлорімурон-етил, хлорсульфурон, клорансулам-метил, циклосульфамурон, диклосулам, етаметсульфурон-метил, етоксисульфурон, флазасульфурон, флорасулам, флукарбазон-натрію, флуцетосульфурон, флуметсулам, флупірсульфурон-метил-натрію, форамсульфурон, галосульфурон-метил, імазаметабенз-метил, імазамокс, імазапик, імазапир, імазаквін, імазетапир, імазосульфурон, йодосульфурон, йодосульфурон-метил-натрію, іофенсульфурон, іофенсульфурон-натрію, мезосульфурон, метазосульфурон, метосулам, метсульфурон-метил, нікосульфурон, ортосульфамурон, оксасульфурон, пеноксиулам, примісульфурон-метил, пропоксикарбазон-натрію, пропірисульфурон, просульфурон, піразосульфурон-етил, пірибензоксим, піримісульфурон, пірифталід, піримінобак-метил, піритіобак-натрію, пірокосулам, римсульфурон, сульфометурон-метил, сульфосульфурон, тіенкарбазон-метил, тіфенсульфурон-метил, тріасульфурон, трибенурон-метил, трифлорисульфурон, трифлусульфурон-метил, тритосульфурон and тріафамон;

b3) з групи інгібіторів фотосинтезу:

аметрин, амікарбазон, атразин, бентазон, бентазоне-натрію, бромксініл та його солі та естери, хлоридазон, хлортолурун, ціаназин, десмедіфам, дикват-дибромід, діурон, флуометурон, гексазинон, іоксініл та його солі та естери, ізопротурон, ленацил, лінурун, метамітрон, метабентаізурун, метрибузин, паракват, паракват-дихлорид, фенмедіфам, пропаніл, піридат, симазин, тербутрин, тербутилазин та тіадіазурон;

b4) з групи інгібіторів протопорфіриноген-IX оксидази:

ацифлуорфен, ацифлуорфен-натрію, азафенідин, бенкарбазон, бензфендізон, бутафенацил, карфентразон-етил, цинідон-етил, флуфенпир-етил, флуміклопир-пентил, флуміоксазин, фторглікофен-етил, флутіацет-метил, фомесафен, лактофен, оксидіаргіл, оксидіазон, оксифлуорфен, пентоксазон, пірафлуфен-етил, сафлуфенацил, сульфентразон, етил [3-[2-хлор-4-фтор-5-(1-метил-6-трифторметил-2,4-діоксо-1,2,3,4-тетрагідропіримідин-3-іл)фенокси]-2-піридилокси]ацетат (CAS 353292-31-6; S-3100), N-етил-3-(2,6-дихлор-4-трифторметилфенокси)-5-метил-1Н-піразол-1-карбоксамід (CAS 452098-92-9), N-тетрагідрофурфурил-3-(2,6-дихлор-4-трифторметилфенокси)-5-метил-1Н-піразол-1-карбоксамід (CAS 915396-43-9), N-етил-3-(2-хлор-6-фтор-4-трифторметилфенокси)-5-метил-1Н-піразол-1-карбоксамід (CAS 452099-05-7), N-тетрагідрофурфурил-3-(2-хлор-6-фтор-4-трифторметилфенокси)-5-метил-1Н-піразол-1-карбоксамід (CAS 452100-03-7), 3-[7-фтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[1,4]оксазин-6-іл]-1,5-диметил-6-тіоксо-[1,3,5]тріазинан-2,4-діон, 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[b][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-тріазинан-2,4-діон (CAS 1258836-72-4), 2-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-проп-2-ініл-3,4-дигідро-2Н-бензо[1,4]оксазин-6-іл)-4,5,6,7-тетрагідро-ізоіндол-1,3-діон; 1-метил-6-трифторметил-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-проп-2-ініл-3,4-дигідро-2Н-бензо[1,4]оксазин-6-іл)-1Н-піримідин-2,4-діон, та 3-[7-хлор-5-фтор-2-(трифторметил)-1Н-бензімідазол-4-іл]-1-метил-6-(трифторметил)-1Н-піримідин-2,4-діон (CAS 212754-02-4);

b5) з групи відбілюючих гербіцидів:

аклоніфен, бефлубутамід, бензобіциклон, кломазон, дифлуфенкан, флуорохлоридон, флуртамон, ізоксафлутол, мезотріон, норфлуразон, піколінафен, пірасульфотол, піразолінат, сулкотріон, тефурилтріон, темботріон, топрамезон, біциклопирон, 4-(3-трифторметилфенокси)-2-(4-трифторметилфеніл)піримідин (CAS 180608-33-7), амітрол та флуметурон;

b6) з групи інгібіторів EPSP синтази:

гліфосат, гліфосат-ізопропіламонію, гліфосат-калію та гліфосат-тримезію (сульфосат);

b7) з групи інгібіторів глутамінсинтази:

глюфосинат, глюфосинат-Р, глюфосинат-амонію;

b8) з групи інгібіторів DHP синтази: асулам;

b9) з групи інгібіторів мітозу:

бенфлуралін, дитіопір, еталфлуралін, орізалін, пендиметалін, тіазопір та трифлуралін;

b10) з групи інгібіторів VLCFA:

ацетохлор, алахлор, анілофос, бутахлор, кафенстрол, диметенамід, диметенамід-Р, фентразамід, флуфенацет, мефенацет, метазахлор, метолахлор, S-метолахлор, напроанлід, паргорамід, претілахлор, феноксасульфурон, іпфенкарбазон, піроксасульфурон тенілхлор та ізоксазолінові сполуки формул II.1, II.2, II.3, II.4, II.5, II.6, II.7, II.8 та II.9 як зазначено вище;

b11) з групи інгібіторів біосинтезу целюлози: дихлобеніл, флупоксам, ізоксабен та 1-циклогексил-5-пентафторфеніл окси-1⁴-[1,2,4,6]тіатриазин-3-іламін;

b13) з групи ауксинових гербіцидів:

2,4-D та його солі та естери, аміноциклопірахлор та його солі та естери, амінопіралід та його солі, такі як амінопіралід-тріс(2-гідроксипропіл)амонію та його естери, клопіралід та його солі та естери, дікамба та його солі та естери, дихлорпроп-Р та його солі та естери, флуорокси-пір-метил, галауоксифен та його солі та естери (CAS 943832-60-8), MCPA та його солі та естери, MCPB та його солі та естери, мекопроп-Р та його солі та естери, піклорам та його солі та естери, квінклорак, квінмерак та триклопір та його солі та естери;

b14) з групи інгібіторів транспорту ауксину: дифлуфензопір та дифлуфензопір-натрію;

b15) з групи інших гербіцидів: бромбутид, цинметилін, кумілурун, циклопіриморат (CAS 499223-49-3) та його солі та естери, далапон, дифензокват, дифензокват-метилсульфат, DSMA, дімрон (= даімурун), флампроп, флампроп-ізопропіл, флампроп-метил, флампроп-М-ізопропіл, флампроп-М-метил, інданофан, індазифлам, метам, метилбромід, MSMA, оксазикломефон, пірибутикарб, тріазифлам та тридифан.

Особливо бажані гербіциди В, що можуть бути використані у комбінації із ППО-інгібуючими гербіцидами даного винаходу, включають:

b1) з групи інгібіторів біосинтезу ліпідів: клодінафоп-пропаргіл, циклоксидим, цигалофобутил, феноксапроп-Р-етил, піноксаден, профоксидим, тепралоксидим, тралкоксидим, 4-(4'-хлор-4-циклопропіл-2'-фтор[1,1'-біфеніл]-3-іл)-5-гідрокси-2,2,6,6-тетраметил-2Н-піран-3(6Н)-он (CAS 1312337-72-6); 4-(2',4'-дихлор-4-циклопропіл[1,1'-біфеніл]-3-іл)-5-гідрокси-2,2,6,6-тетраметил-2Н-піран-3(6Н)-он (CAS 1312337-45-3); 4-(4'-хлор-4-етил-2'-фтор[1,1'-біфеніл]-3-іл)-5-гідрокси-2,2,6,6-тетраметил-2Н-піран-3(6Н)-он (CAS 1033757-93-5); 4-(2',4'-дихлор-4-етил[1,1'-біфеніл]-3-іл)-2,2,6,6-тетраметил-2Н-піран-3,5(4Н,6Н)-діон (CAS 1312340-84-3); 5-(ацетилокси)-4-(4'-хлор-4-циклопропіл-2'-фтор[1,1'-біфеніл]-3-іл)-3,6-дигідро-2,2,6,6-тетраметил-2Н-піран-3-он (CAS 1312337-48-6); 5-(ацетилокси)-4-(2',4'-дихлор-4-циклопропіл[1,1'-біфеніл]-3-іл)-3,6-дигідро-2,2,6,6-тетраметил-2Н-піран-3-он; 5-(ацетилокси)-4-(4'-хлор-4-етил-2'-фтор[1,1'-біфеніл]-3-іл)-3,6-дигідро-2,2,6,6-тетраметил-2Н-піран-3-он (CAS 1312340-82-1); 5-(ацетилокси)-4-(2',4'-дихлор-4-етил[1,1'-біфеніл]-3-іл)-3,6-дигідро-2,2,6,6-тетраметил-2Н-піран-3-он (CAS 1033760-55-2); 4-(4'-хлор-4-циклопропіл-2'-фтор[1,1'-біфеніл]-3-іл)-5,6-дигідро-2,2,6,6-тетраметил-5-оксо-2Н-піран-3-іл вугільної кислоти метиловий естер (CAS 1312337-51-1); 4-(2',4'-дихлор-4-циклопропіл- [1,1'-біфеніл]-3-іл)-5,6-дигідро-2,2,6,6-тетраметил-5-оксо-2Н-піран-3-іл вугільної кислоти метиловий естер (CAS 1312340-83-2); 4-(2',4'-дихлор-4-етил[1,1'-біфеніл]-3-іл)-5,6-дигідро-2,2,6,6-тетраметил-5-оксо-2Н-піран-3-іл вугільної кислоти метиловий естер (CAS 1033760-58-5); еспрокарб, просульфоккарб, тіобенкарб та триаллат;

b2) з групи ALS інгібіторів: бенсульфурон-метил, біспірибак-натрію, циклосульфамурон, диклосулам, флуметсулам, флупірсульфурон-метил-натрію, форамсульфурон, імазамокс, імазапик, імазапир, імазаквін, імазетапир, імазосульфурон, йодосульфурон, йодосульфурон-метил-натрію, іофенсульфурон, іофенсульфурон-натрію, мезосульфурон, метазосульфурон, нікосульфурон, пенокссулам, пропоксикарбазон-натрію, пропірисульфурон, піразосульфурон-етил, пірокссулам, римсульфурон, сульфосульфурон, тіенкарбазон-метил, тритосульфурон та триафамон;

б3) з групи інгібіторів фотосинтезу: аметрин, атразин, діурон, флуометурон, гексазинон, ізопротурон, лінурон, метрибузин, паракват, паракват-дихлорид, пропаніл, тербутрин та тербутилазин;

б4) з групи інгібіторів протопорфіриноген-ІХ оксидази: ацифлуорфен, ацифлуорфен-натрію, бутафенацил, цинідон-етил, карфентразон-етил, флуміоксазин, флутіацет-метил, фомесафен, лактофен, оксادیаргіл, оксифлуорфен, сафлуфенацил, сульфентразон, етил [3-[2-хлор-4-фтор-5-(1-метил-6-трифторметил-2,4-діоксо-1,2,3,4-тетрагідропіримідин-3-іл)фенокси]-2-піридилокси]ацетат (CAS 353292-31-6; S-3100), 3-[7-фтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[1,4]оксазин-6-іл]-1,5-диметил-6-тіоксо-[1,3,5]тріазинан-2,4-діон, 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[б][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-тріазинан-2,4-діон (CAS 1258836-72-4), та 2-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-проп-2-ініл-3,4-дигідро-2Н-бензо[1,4]оксазин-6-іл)-4,5,6,7-тетрагідро-ізоіндол-1,3-діон, та 1-метил-6-трифторметил-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-проп-2-ініл-3,4-дигідро-2Н-бензо[1,4]оксазин-6-іл)-1Н-піримідин-2,4-діон;

b5) з групи відбілюючих гербіцидів: кломазон, дифлуфенкан, флуорохлоридон, ізксафлутол, мезотріон, піколінафен, сулкотріон, тефурилтріон, темботріон, топрамезон, біциклопірон, амітрол та флуметурон;

б) з групи інгібіторів EPSP синтази: гліфосат, гліфосат-ізопропіламонію та гліфосат-тримезію (сульфосат);

b7) з групи інгібіторів глутамінсинтази: глюфосинат, глюфосинат-Р та глюфосинат-амонію;

b9) з групи інгібіторів мітозу: пендиметалін та трифлуралін;
b10) з групи інгібіторів VLCFA: ацетохлор, кафенстрол, диметенамід-Р, фентразамід, флуфенацет, мефенацет, метазахлор, метолахлор, S-метолахлор, феноксасульфолон, іпфенкарбазон та піроксасульфолон; більш того, перевагу надають ізоксазоліновим сполукам

5 формул II.1, II.2, II.3, II.4, II.5, II.6, II.7, II.8 та II.9 як зазначено вище;

b11) з групи інгібіторів біосинтезу целюлози: ізоксабен;

b13) з групи ауксинових гербіцидів: 2,4-D та його солі та естери такі як клацифос, та аміноциклопірахлор та його солі та естери, амінопіралід та його солі та його естери, клопіралід та його солі та естери, дікамба та його солі та естери, флуороксипі-мептил, квінклорак та

10 квінмерак;

b14) з групи інгібіторів транспорту ауксину: дифлуфензопір та дифлуфензопір-натрію,

b15) з групи інших гербіцидів: дімрон (= даімурон), інданофан, індазифлам, оксазикломефон та тріазифлам.

Більш того, може бути зручно наносити ППО-інгібуючі гербіциди у комбінації із сполукою В, описаною вище, у комбінації із сафенерами. Сафенери є хімічними сполуками, що запобігають або зменшують пошкодження корисних рослин, без значної дії на гербіцидну активність гербіцидів стосовно небажаних рослин. Вони можуть бути нанесені або перед посівом (наприклад, обробка насіння, пагонів або саджанців) або у перед сходовий період або після сходження корисних рослин.

20 Більш того, сафенери С, ППО-інгібуючі гербіциди та/або гербіциди В можуть бути нанесені одночасно або послідовно.

Придатні сафенери включають, наприклад, (квінолін-8-окси)оцтові кислоти, 1-феніл-5-галоалкіл-1Н-1,2,4-тріазол-3-карбонові кислоти, 1-феніл -4,5-дигідро-5-алкіл-1Н-піразол-3,5-дихлоркарбонові кислоти, 4,5-дигідро-5,5-діарил-3-ізоксазол карбонові кислоти, дихлорацетаміди, альфа-оксимінофеніл ацетонітрили, ацетофеноноксиміни, 4,6-дигало-2-феніл піримідини, N-[[4-(амінокарбоніл)феніл]сульфоніл]-2-бензойні амід, 1,8-нафталевий ангідрид, 2-гало-4-(галоалкіл)-5-тіазол карбонові кислоти, фосфоріолати та N-алкіл-О-феніл карбамати та їх сільськогосподарсько прийнятні солі та їх сільськогосподарсько прийнятні похідні, такі як амід, естери, та тіоестери, при умові, що вони мають кислотну групу.

30 Приклади бажаних сафенерів С включають беноксакор, клоквінтоцет, ціометриніл, ципросульфамід, дихлормід, дициклонон, диетолат, фенхлоразол, фенклорим, флуразол, флуксофеніл, фурилазол, ізоксацифен, мефенпір, мефенат, нафталевий ангідрид, оксабетриніл, 4-(дихлорацетил)-1-окса-4-азаспіро[4,5]декан (MON4660, CAS 71526-07-3) та 2,2,5-триметил-3-(дихлорацетил)-1,3-оксазолідин (R-29148, CAS 52836-31-4).

35 Особливо бажані сафенери С включають беноксакор, клоквінтоцет, ципросульфамід, дихлормід, фенхлоразол, фенклорим, флуразол, флуксофеніл, фурилазол, ізоксацифен, мефенпір, нафталевий ангідрид, оксабетриніл, 4-(дихлорацетил)-1-окса-4-азаспіро[4,5]декан (MON4660, CAS 71526-07-3) та 2,2,5-триметил-3-(дихлорацетил)-1,3-оксазолідин (R-29148, CAS 52836-31-4).

40 Особливо бажані сафенери С включають беноксакор, клоквінтоцет, ципросульфамід, дихлормід, фенхлоразол, фенклорим, фурилазол, ізоксацифен, мефенпір, нафталевий ангідрид, 4-(дихлорацетил)-1-окса-4-азаспіро[4,5]декан (MON4660, CAS 71526-07-3) та 2,2,5-триметил-3-(дихлорацетил)-1,3-оксазолідин (R-29148, CAS 52836-31-4).

45 Також бажані сафенери С включають беноксакор, клоквінтоцет, ципросульфамід, дихлормід, фенхлоразол, фенклорим, фурилазол, ізоксацифен, мефенпір, 4-(дихлорацетил)-1-окса-4-азаспіро[4,5]декан (MON4660, CAS 71526-07-3) та 2,2,5-триметил-3-(дихлорацетил)-1,3-оксазолідин (R-29148, CAS 52836-31-4).

Особливо бажані сафенери С, які, як компонент С, є складовою композиції згідно з винаходом, включають сафенери С як визначено вище; зокрема, сафенери С.1 - С.12 наведені у таблиці С нижче:

Таблиця С

Сафенер С

С.1	беноксакор
С.2	клоквінтоцет
С.3	ципросульфамід
С.4	дихлормід
С.5	фенхлоразол

Таблиця С (продовження)

Сафенер С

C.6	фенклорим
C.7	Фурилазол
C.8	ізоксадифен
C.9	Мефенпір
C.10	ангідрид на фталевої кислоти
C.11	4-(дихлорацетил)-1-окса-4-азаспіро[4,5]декан (MON4660, CAS 71526-07-3)
C.12	2,2,5-триметил-3-(дихлорацетил)-1,3-оксазолідин (R-29148, CAS 52836-31-4)

ППО-інгібуючі гербіциди (сполуки А) та активні сполуки В груп b1) - b15) та активні сполуки С є відомими гербіцидами та сафенерами, дивитись, наприклад, The Compendium of Pesticide Common Names (<http://www.alanwood.net/pesticides/>); Farm Chemicals Handbook 2000 volume 86, Meister Publishing Company, 2000; B. Hock, C. Fedtke, R. R. Schmidt, Herbicide [Herbicides], Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1995; W. H. Ahrens, Гербіцид Handbook, 7th edition, Weed Science Society of America, 1994; and K. K. Hatzios, Гербіцид Handbook, Supplement for the 7th edition, Weed Science Society of America, 1998.

2,2,5-Триметил-3-(дихлорацетил)-1,3-оксазолідин [CAS No. 52836-31-4] також називають R-29148. 4-(дихлорацетил)-1-окса-4-азаспіро[4,5]декан [CAS No. 71526-07-3] також називають AD-67 та MON 4660.

Призначення активних сполук відповідно до механізму дії оснований на сучасних знаннях. Якщо одна активна сполука має кілька механізмів дії, то її використовують тільки за одним них.

Активні сполуки В та С, що мають карбоксильну групу, можуть бути застосовані у формі кислоти, у формі сільськогосподарсько прийнятної солі як зазначено вище, або також у формі сільськогосподарсько прийнятної похідної у композиціях винаходу.

У випадку дікамби, придатні солі включають солі, де протион є сільськогосподарсько прийнятним катіоном. Наприклад, придатні солі дікамби включають дікамба-натрію, дікамба-калію, дікамба-метиламонію, дікамба-диметиламонію, дікамба-ізопропіламонію, дікамба-диглікольамін, дікамба-оламін, дікамба-діоламін, дікамба-троламін, дікамба-N,N-біс-(3-амінопропіл)метиламін та дікамба-диетилентриамін. Приклади придатного естеру включають дікамба-метил та дікамба-бутотил.

Придатні солі 2,4-D включають 2,4-D-амонію, 2,4-D-диметиламонію, 2,4-D-диетиламонію, 2,4-D-диетаноламонію (2,4-D-діоламін), 2,4-D-триетаноламонію, 2,4-D-ізопропіламонію, 2,4-D-триізопропаноламонію, 2,4-D-гептиламонію, 2,4-D-додециламонію, 2,4-D-тетрадециламонію, 2,4-D-триетиламонію, 2,4-D-трис(2-гідроксипропіл)амонію, 2,4-D-трис(ізопропіл)амонію, 2,4-D-троламін, 2,4-D-літію, 2,4-D-натрію. Приклади придатних естерів 2,4-D включають 2,4-D-бутотил, 2,4-D-2-бутоксипропіл, 2,4-D-3-бутоксипропіл, 2,4-D-бутил, 2,4-D-етил, 2,4-D-етилгексил, 2,4-D-ізобутил, 2,4-D-ізооктил, 2,4-D-ізопропіл, 2,4-D-мептил, 2,4-D-метил, 2,4-D-октил, 2,4-D-пентил, 2,4-D-пропіл, 2,4-D-тефурил та клацифос.

Придатні солі 2,4-DB включають, наприклад, 2,4-DB-натрію, 2,4-DB-калію та 2,4-DB-диметиламонію. Придатні естери 2,4-DB включають, наприклад, 2,4-DB-бутил та 2,4-DB-ізооктил.

Придатні солі дихлорпропу включають, наприклад, дихлорпроп-натрію, дихлорпроп-калію та дихлорпроп-диметиламонію. Приклади придатних естерів дихлорпропу включають дихлорпроп-бутотил та дихлорпроп-ізооктил.

Придатні солі та естери МСРА включають МСРА-бутотил, МСРА-бутил, МСРА-диметил-амонію, МСРА-діоламін, МСРА-етил, МСРА-тіоетил, МСРА-2-етилгексил, МСРА-ізобутил, МСРА-ізооктил, МСРА-ізопропіл, МСРА-ізопропіламонію, МСРА-метил, МСРА-оламін, МСРА-калію, МСРА-натрію та МСРА-троламін.

Придатна сіль МСРВ включає МСРВ натрію. Придатний естер МСРВ включає МСРВ-етил.

Придатні солі клопіраліду включають клопіралід-калію, клопіралід-оламін та клопіралід-трис(2-гідроксипропіл)амонію. Приклади придатних естерів клопіраліду включають клопіралід-метил.

Приклади придатного естеру флуроксипіру включають флуроксипір-мептил та флуроксипір-2-бутоксипі-1-метилетил, де флуроксипір-мептил є переважним.

Придатні солі піклорами включають піклорам-диметиламонію, піклорам-калію, піклорам-триізопропаноламонію, піклорам-триізопропіламонію та піклорам-троламін. Придатний естер піклорами включає піклорам-ізооктил.

Придатна сіль триклопіру включає триклопір-триетиламонію. Придатні естери триклопіру

включають, наприклад, триклопір-етил та триклопір-бутотил.

Придатні солі та естери хлорамбену включають хлорамбен-амонію, хлорамбен-діоламін, хлорамбен-метил, хлорамбен-метиламонію та хлорамбен-натрію. Придатні солі та естери 2,3,6-ТВА включають 2,3,6-ТВА-диметиламонію, 2,3,6-ТВА-літію, 2,3,6-ТВА-калію та 2,3,6-ТВА-натрію.

5 Придатні солі та естери амінопіраліду включають амінопіралід-калію та амінопіралід-трис(2-гідроксипропіл)амонію.

Придатні солі гліфосату включають, наприклад, гліфосат-амонію, гліфосат-діамонію, glyphoste-диметиламонію, гліфосат-ізопропіламонію, гліфосат-калію, гліфосат-натрію, гліфосат-тримезію, а також солі етаноламіну та диетаноламіну, бажано гліфосат-діамонію, гліфосат-ізопропіламонію та гліфосат-тримезію (сульфосат).

10 Придатна сіль глюфосинату включає, наприклад, глюфосинат-амонію.

Придатна сіль глюфосинату-Р включає, наприклад, глюфосинат-Р-амонію.

Придатні солі та естери бромксинілу включають, наприклад, бромксиніл-бутират, бромксиніл-гептаноат, бромксиніл-октаноат, бромксиніл-калію та бромксиніл-натрію.

15 Придатні солі та естери іоксонілу включають, наприклад, іоксоніл-октаноат, іоксоніл-калію та іоксоніл-натрію.

Придатні солі та естери мекопропу включають мекопроп-бутотил, мекопроп-диметиламонію, мекопроп-діоламін, мекопроп-етадил, мекопроп-2-етилгексил, мекопроп-ізоктил, мекопроп-метил, мекопроп-калію, мекопроп-натрію та мекопроп-троламін.

20 Придатні солі мекопропу-Р включають, наприклад, мекопроп-Р-бутотил, мекопроп-Р-диметиламонію, мекопроп-Р-2-етилгексил, мекопроп-Р-ізобутил, мекопроп-Р-калію та мекопроп-Р-натрію.

Придатна сіль дифлуфензопіру включає, наприклад, дифлуфензопір-натрію.

Придатна сіль напталаму включає, наприклад, напталам-натрію.

25 Придатні солі та естери аміноциклопірахлору включають, наприклад, аміноциклопірахлор-диметиламонію, аміноциклопірахлор-метил, аміноциклопірахлор-триізопропаноламонію, аміноциклопірахлор-натрію та аміноциклопірахлор-калію.

Придатна сіль квінклораку включає, наприклад, квінклорак-диметиламонію.

Придатна сіль квінмераку включає, наприклад, квінклорак-диметиламонію.

30 Придатна сіль імазамоксу включає, наприклад, імазамокс-амонію.

Придатні солі імазапіку включають, наприклад, імазапик-амонію та імазапик-ізопропіламонію.

Придатні солі імазапіру включають, наприклад, імазапир-амонію та імазапир-ізопропіламонію.

Придатна сіль імазаквіну включає, наприклад, імазаквін-амонію.

35 Придатні солі імазетапіру включають, наприклад, імазетапир-амонію та імазетапир-ізопропіламонію.

Придатна сіль топрамезону включає, наприклад, топрамезон-натрію.

Бажані варіанти втілення винаходу, згадані нижче, потрібно розуміти як бажані незалежно один від одного або у комбінації один з одним.

40 Згідно з переважним варіантом втілення винаходу, композиція містить як компонент В щонайменше один, бажано один гербіцид В.

Згідно з іншим переважним варіантом втілення винаходу, композиція містить щонайменше два, бажано два різні гербіциди В.

Згідно з іншим переважним варіантом втілення винаходу, композиція містить щонайменше три, бажано три різні гербіциди В.

45 Згідно з іншим переважним варіантом втілення винаходу, композиція містить як компонент А щонайменше один, бажано один ППО-інгібуючий гербіцид, бажано ацифлуорфен, ацифлуорфен-натрію, бутафенацил, цинідон-етил, карфентразон-етил, флуміоксазин, флутіацет-метил, фомесафен, лактофен, оксадіаргіл, оксифлуорфен, сафлуфенацил, сульфентразон, етил [3-[2-хлор-4-фтор-5-(1-метил-6-трифторметил-2,4-діоксо-1,2,3,4-тетрагідропіримідин-3-іл)фенокси]-2-піридилокси]ацетат (CAS 353292-31-6; S-3100; 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[b][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-тріазинан-2,4-діон (CAS 1258836-72-4), особливо бажано сафлуфенацил, 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[b][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-тріазинан-2,4-діон (CAS 1258836-72-4), та як компонент В щонайменше один, бажано один гербіцид В.

50 Згідно з іншим переважним варіантом втілення винаходу, композиція містить як компонент А щонайменше один, бажано один ППО-інгібуючий гербіцид, бажано ацифлуорфен, ацифлуорфен-натрію, бутафенацил, цинідон-етил, карфентразон-етил, флуміоксазин, флутіацет-метил, фомесафен, лактофен, оксадіаргіл, оксифлуорфен, сафлуфенацил, сульфентразон, етил [3-[2-хлор-4-фтор-5-(1-метил-6-трифторметил-2,4-діоксо-1,2,3,4-

тетрагідропіримідин-3-іл)фенокси]-2-піридилокси]ацетат (CAS 353292-31-6; S-3100), 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[*b*][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-тріазинан-2,4-діон (CAS 1258836-72-4), особливо бажано сафлуфенацил, 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[*b*][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-тріазинан-2,4-діон (CAS 1258836-72-4), та щонайменше два, бажано два різні гербіциди В.

Згідно з іншим переважним варіантом втілення винаходу, композиція містить як компонент А щонайменше один, бажано один ППО-інгібуючий гербіцид, бажано ацифлуорфен, ацифлуорфен-натрію, бутафенацил, цинідон-етил, карфентразон-етил, флуміоксазин, флутіацет-метил, фомесафен, лактофен, оксадіаргіл, оксифлуорфен, сафлуфенацил, сульфентразон, етил [3-[2-хлор-4-фтор-5-(1-метил-6-трифторметил-2,4-діоксо-1,2,3,4-тетрагідропіримідин-3-іл)фенокси]-2-піридилокси]ацетат (CAS 353292-31-6; S-3100), 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[*b*][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-тріазинан-2,4-діон (CAS 1258836-72-4), особливо бажано сафлуфенацил, 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[*b*][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-тріазинан-2,4-діон (CAS 1258836-72-4) та щонайменше три, бажано три різні гербіциди В.

Згідно з іншим переважним варіантом втілення винаходу, композиція містить, окрім ППО-інгібуючого гербіциду, бажано ацифлуорфен, ацифлуорфен-натрію, бутафенацил, цинідон-етил, карфентразон-етил, флуміоксазин, флутіацет-метил, фомесафен, лактофен, оксадіаргіл, оксифлуорфен, сафлуфенацил, сульфентразон, етил [3-[2-хлор-4-фтор-5-(1-метил-6-трифторметил-2,4-діоксо-1,2,3,4-тетрагідропіримідин-3-іл)фенокси]-2-піридилокси]ацетат (CAS 353292-31-6; S-3100), 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[*b*][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-тріазинан-2,4-діон (CAS 1258836-72-4), особливо бажано сафлуфенацил, 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[*b*][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-тріазинан-2,4-діон (CAS 1258836-72-4), щонайменше одну та особливо одну гербіцидно активну сполуку з групи b1), зокрема, вибрані з групи, що складається з наступних: клетодим, клодінафоп-пропаргіл, циклоксидим, цигалофоп-бутил, феноксапроп-Р-етил, флуазифоп, піноксаден, профоксидим, квізалофоп, сетоксидим, тепралоксидим, тралкоксидим, еспрокарб, просульфокарб, тіобенкарб та триаллат.

Згідно з іншим переважним варіантом втілення винаходу, композиція містить, окрім ППО-інгібуючого гербіциду, бажано ацифлуорфен, ацифлуорфен-натрію, бутафенацил, цинідон-етил, карфентразон-етил, флуміоксазин, флутіацет-метил, фомесафен, лактофен, оксадіаргіл, оксифлуорфен, сафлуфенацил, сульфентразон, етил [3-[2-хлор-4-фтор-5-(1-метил-6-трифторметил-2,4-діоксо-1,2,3,4-тетрагідропіримідин-3-іл)фенокси]-2-піридилокси]ацетат (CAS 353292-31-6; S-3100), 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[*b*][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-тріазинан-2,4-діон (CAS 1258836-72-4) особливо бажано сафлуфенацил, 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[*b*][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-тріазинан-2,4-діон (CAS 1258836-72-4), щонайменше одну та особливо одну гербіцидно активну сполуку з групи b2), зокрема, вибрані з групи, що складається з наступних: бенсульфурон-метил, біспірибак-натрію, клорансулам-метил, циклосульфамурон, диклосулам, флуметсулам, флупірсульфурон-метил-натрію, форамсульфурон, галосульфурон-метил, імазамокс, імазапек, імазапек, імазаквін, імазетапек, імазосульфурон, йодосульфурон, йодосульфурон-метил-натрію, мезосульфурон-метил, метазосульфурон, нікосульфурон, пенокксулам, пропоксикарбазон-натрію, піразосульфурон-етил, піритіобак-натрію, пірокксулам, римсульфурон, сульфосульфурон, тієнкарбазон-метил, тіфенсульфурон-метил, трифлорисульфурон та тритосульфурон.

Згідно з іншим переважним варіантом втілення винаходу, композиція містить, окрім ППО-інгібуючого гербіциду, бажано ацифлуорфен, ацифлуорфен-натрію, бутафенацил, цинідон-етил, карфентразон-етил, флуміоксазин, флутіацет-метил, фомесафен, лактофен, оксадіаргіл, оксифлуорфен, сафлуфенацил, сульфентразон, етил [3-[2-хлор-4-фтор-5-(1-метил-6-трифторметил-2,4-діоксо-1,2,3,4-тетрагідропіримідин-3-іл)фенокси]-2-піридилокси]ацетат (CAS 353292-31-6; S-3100), 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[*b*][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-тріазинан-2,4-діон (CAS 1258836-72-4), особливо бажано сафлуфенацил, 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[*b*][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-тріазинан-2,4-діон (CAS 1258836-72-4), щонайменше одну та особливо одну гербіцидно активну сполуку з групи b3), зокрема, вибрану з групи, що складається з наступних: аметрин, атразин, бентазон, бромксиніл, діурон, флуометурон, гексазинон, ізопротурон, лінурон, метрибузин, паракват, паракват-дихлорид, прометрин, пропаніл, тербутрин та тербутилазин.

Згідно з іншим переважним варіантом втілення винаходу, композиція містить, окрім ППО-інгібуючого гербіциду, бажано ацифлуорфен, ацифлуорфен-натрію, бутафенацил, цинідон-

етил, карфентразон-етил, флуміоксазин, флутіацет-метил, фомесафен, лактофен, оксадіаргіл, оксифлуорфен, сафлуфенацил, сульфентразон, етил [3-[2-хлор-4-фтор-5-(1-метил-6-трифторметил-2,4-діоксо-1,2,3,4-тетрагідропіримідин-3-іл)фенокси]-2-піридилокси]ацетат (CAS 353292-31-6; S-3100), 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[*b*][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-тріазинан-2,4-діон (CAS 1258836-72-4), особливо бажано сафлуфенацил, 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[*b*][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-тріазинан-2,4-діон (CAS 1258836-72-4), щонайменше одну та особливо одну гербіцидно активну сполуку з групи *b*4), зокрема, вибрану з групи, що складається з наступних: ацифлуорфен, ацифлуорфен-натрію, азафенідин, бенкарбазон, бензфендізон, біфенокс, бутафенацил, карфентразон, карфентразон-етил, хлометоксифен, цинідон-етил, флуазолат, флуфенпір, флуфенпір-етил, флуміклорак, флуміклорак-пентил, флуміоксазин, фторглікофен, фторглікофен-етил, флутіацет, флутіацет-метил, фомесафен, галосафен, лактофен, оксадіаргіл, оксадіазон, оксифлуорфен, пентоксазон, профлуазол, піраклоніл, пірафлуфен, пірафлуфен-етил, сафлуфенацил, сульфентразон, тидіазимін, тіафенацил, етил [3-[2-хлор-4-фтор-5-(1-метил-6-трифторметил-2,4-діоксо-1,2,3,4-тетрагідропіримідин-3-іл)фенокси]-2-піридилокси]ацетат (CAS 353292-31-6; S-3100), N-етил-3-(2,6-дихлор-4-трифторметилфенокси)-5-метил-1Н-піразол-1-карбоксамід (CAS 452098-92-9), N-тетрагідрофурфурил-3-(2,6-дихлор-4-трифторметилфенокси)-5-метил-1Н-піразол-1-карбоксамід (CAS 915396-43-9), N-етил-3-(2-хлор-6-фтор-4-трифторметилфенокси)-5-метил-1Н-піразол-1-карбоксамід (CAS 452099-05-7), N-тетрагідрофурфурил-3-(2-хлор-6-фтор-4-трифторметилфенокси)-5-метил-1Н-піразол-1-карбоксамід (CAS 452100-03-7), 3-[7-фтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[1,4]оксазин-6-іл]-1,5-диметил-6-тіоксо-[1,3,5]тріазинан-2,4-діон, 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[*b*][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-тріазинан-2,4-діон (CAS 1258836-72-4), 2-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-проп-2-ініл-3,4-дигідро-2Н-бензо[1,4]оксазин-6-іл)-4,5,6,7-тетрагідро-ізоіндол-1,3-діон, 1-метил-6-трифторметил-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-проп-2-ініл-3,4-дигідро-2Н-бензо[1,4]оксазин-6-іл)-1Н-піримідин-2,4-діон, метил (Е)-4-[2-хлор-5-[4-хлор-5-(дифторметокси)-1Н-метил-піразол-3-іл]-4-фтор-фенокси]-3-метокси-бут-2-еноат [CAS 948893-00-3], 3-[7-хлор-5-фтор-2-(трифторметил)-1Н-бензімідазол-4-іл]-1-метил-6-(трифторметил)-1Н-піримідин-2,4-діон (CAS 212754-02-4).

Згідно з іншим переважним варіантом втілення винаходу, композиція містить, окрім ППО-інгібуючого гербіциду, бажано ацифлуорфен, ацифлуорфен-натрію, бутафенацил, цинідон-етил, карфентразон-етил, флуміоксазин, флутіацет-метил, фомесафен, лактофен, оксадіаргіл, оксифлуорфен, сафлуфенацил, сульфентразон, етил [3-[2-хлор-4-фтор-5-(1-метил-6-трифторметил-2,4-діоксо-1,2,3,4-тетрагідропіримідин-3-іл)фенокси]-2-піридилокси]ацетат (CAS 353292-31-6; S-3100), 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[*b*][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-тріазинан-2,4-діон (CAS 1258836-72-4), особливо бажано сафлуфенацил, 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[*b*][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-тріазинан-2,4-діон (CAS 1258836-72-4), щонайменше одну та особливо одну гербіцидно активну сполуку з групи *b*5), зокрема, вибрану з групи, що складається з наступних: кломазон, дифлуфенкан, флуорохлоридон, ізоксафлутол, мезотріон, піколінафен, сулкотріон, тефурилтріон, темботріон, топрамезон, біциклопірон, амітрол та флуметурон.

Згідно з іншим переважним варіантом втілення винаходу, композиція містить, окрім ППО-інгібуючого гербіциду, бажано ацифлуорфен, ацифлуорфен-натрію, бутафенацил, цинідон-етил, карфентразон-етил, флуміоксазин, флутіацет-метил, фомесафен, лактофен, оксадіаргіл, оксифлуорфен, сафлуфенацил, сульфентразон, етил [3-[2-хлор-4-фтор-5-(1-метил-6-трифторметил-2,4-діоксо-1,2,3,4-тетрагідропіримідин-3-іл)фенокси]-2-піридилокси]ацетат (CAS 353292-31-6; S-3100), 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[*b*][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-тріазинан-2,4-діон (CAS 1258836-72-4), особливо бажано сафлуфенацил, 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[*b*][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-тріазинан-2,4-діон (CAS 1258836-72-4), щонайменше одну та особливо одну гербіцидно активну сполуку з групи *b*6), зокрема, вибрану з групи, що складається з наступних: гліфосат, гліфосат-ізопропіламонію та гліфосат-тримезію (сульфосат).

Згідно з іншим переважним варіантом втілення винаходу, композиція містить, окрім ППО-інгібуючого гербіциду, бажано ацифлуорфен, ацифлуорфен-натрію, бутафенацил, цинідон-етил, карфентразон-етил, флуміоксазин, флутіацет-метил, фомесафен, лактофен, оксадіаргіл, оксифлуорфен, сафлуфенацил, сульфентразон, етил [3-[2-хлор-4-фтор-5-(1-метил-6-трифторметил-2,4-діоксо-1,2,3,4-тетрагідропіримідин-3-іл)фенокси]-2-піридилокси]ацетат (CAS 353292-31-6; S-3100), 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[*b*][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-тріазинан-2,4-діон (CAS 1258836-72-4), особливо бажано

сафлуфенацил, 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[*b*][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-тріазинан-2,4-діон (CAS 1258836-72-4), щонайменше одну та особливо одну гербіцидно активну сполуку з групи b7), зокрема, вибрану з групи, що складається з наступних: глюфосинат, глюфосинат-Р та глюфосинат-амонію.

5 Згідно з іншим переважним варіантом втілення винаходу, композиція містить, окрім ППО-інгібуючого гербіциду, бажано ацифлуорфен, ацифлуорфен-натрію, бутафенацил, цинідон-етил, карфентразон-етил, флуміоксазин, флутіацет-метил, фомесафен, лактофен, оксадіаргіл, оксифлуорфен, сафлуфенацил, сульфентразон, етил [3-[2-хлор-4-фтор-5-(1-метил-6-трифторметил-2,4-діоксо-1,2,3,4-тетрагідропіримідин-3-іл)фенокси]-2-піридилокси]ацетат (CAS 353292-31-6; S-3100, 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[*b*][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-тріазинан-2,4-діон (CAS 1258836-72-4) особливо бажано сафлуфенацил, 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[*b*][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-тріазинан-2,4-діон (CAS 1258836-72-4), щонайменше одну та особливо одну гербіцидно активну сполуку з групи b9), зокрема, вибрану з групи, що складається з пендиметаліну та трифлураліну.

Згідно з іншим переважним варіантом втілення винаходу, композиція містить, окрім ППО-інгібуючого гербіциду, бажано ацифлуорфен, ацифлуорфен-натрію, бутафенацил, цинідон-етил, карфентразон-етил, флуміоксазин, флутіацет-метил, фомесафен, лактофен, оксадіаргіл, оксифлуорфен, сафлуфенацил, сульфентразон, етил [3-[2-хлор-4-фтор-5-(1-метил-6-трифторметил-2,4-діоксо-1,2,3,4-тетрагідропіримідин-3-іл)фенокси]-2-піридилокси]ацетат (CAS 353292-31-6; S-3100, 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[*b*][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-тріазинан-2,4-діон (CAS 1258836-72-4)), особливо бажано сафлуфенацил, 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[*b*][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-тріазинан-2,4-діон (CAS 1258836-72-4), щонайменше одну та особливо одну гербіцидно активну сполуку з групи b10), зокрема, вибрану з групи, що складається з наступних: ацетохлор, кафенстрол, диметенамід-Р, фентразамід, флуфенацет, мефенацет, метазахлор, метолахлор, S-метолахлор, феноксасульфен та піроксасульфен. Окрім цього, перевагу надають композиціям, що містять окрім ППО-інгібуючого гербіциду, бажано ацифлуорфен, ацифлуорфен-натрію, бутафенацил, цинідон-етил, карфентразон-етил, флуміоксазин, флутіацет-метил, фомесафен, лактофен, оксадіаргіл, оксифлуорфен, сафлуфенацил, сульфентразон, етил [3-[2-хлор-4-фтор-5-(1-метил-6-трифторметил-2,4-діоксо-1,2,3,4-тетрагідропіримідин-3-іл)фенокси]-2-піридилокси]ацетат (CAS 353292-31-6; S-3100), 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[*b*][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-тріазинан-2,4-діон (CAS 1258836-72-4), особливо бажано сафлуфенацил, 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[*b*][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-тріазинан-2,4-діон (CAS 1258836-72-4), щонайменше одну та особливо одну гербіцидно активну сполуку з групи b10), зокрема, вибрану з групи, що складається з ізоксазолінових сполук формул II.1, II.2, II.3, II.4, II.5, II.6, II.7, II.8 та II.9, як визначено вище.

Згідно з іншим переважним варіантом втілення винаходу, композиція містить, окрім ППО-інгібуючого гербіциду, бажано ацифлуорфен, ацифлуорфен-натрію, бутафенацил, цинідон-етил, карфентразон-етил, флуміоксазин, флутіацет-метил, фомесафен, лактофен, оксадіаргіл, оксифлуорфен, сафлуфенацил, сульфентразон, етил [3-[2-хлор-4-фтор-5-(1-метил-6-трифторметил-2,4-діоксо-1,2,3,4-тетрагідропіримідин-3-іл)фенокси]-2-піридилокси]ацетат (CAS 353292-31-6; S-3100, 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[*b*][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-тріазинан-2,4-діон (CAS 1258836-72-4), особливо бажано сафлуфенацил, 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[*b*][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-тріазинан-2,4-діон (CAS 1258836-72-4), щонайменше одну та особливо одну гербіцидно активну сполуку з групи b13), зокрема, вибрану з групи, що складається з 2,4-D та його солей та естерів, аміноциклопірахлору та його солі та естерів, амінопіраліду та його солей, таких як амінопіралід-тріс(2-гідроксипропіл)амонію та його естери, клопіраліду та його солей та естерів, дікамби та його солей та естерів, флуороксибір-метилу, квінклоразу та квінмераку.

Згідно з іншим переважним варіантом втілення винаходу, композиція містить, окрім ППО-інгібуючого гербіциду, бажано ацифлуорфен, ацифлуорфен-натрію, бутафенацил, цинідон-етил, карфентразон-етил, флуміоксазин, флутіацет-метил, фомесафен, лактофен, оксадіаргіл, оксифлуорфен, сафлуфенацил, сульфентразон, етил [3-[2-хлор-4-фтор-5-(1-метил-6-трифторметил-2,4-діоксо-1,2,3,4-тетрагідропіримідин-3-іл)фенокси]-2-піридилокси]ацетат (CAS 353292-31-6; S-3100), 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[*b*][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-тріазинан-2,4-діон (CAS 1258836-72-4), особливо бажано сафлуфенацил, 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-

бензо[b][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-тріазинан-2,4-діон (CAS 1258836-72-4), щонайменше одну та особливо одну гербіцидно активну сполуку з групи b14), зокрема, вибрану з групи, що складається з дифлуфензопіру та дифлуфензопіру-натрію.

5 Згідно з іншим переважним варіантом втілення винаходу, композиція містить, окрім ППО-інгібуючого гербіциду, бажано ацифлуорфен, ацифлуорфен-натрію, бутафенацил, цинідон-етил, карфентразон-етил, флуміоксазин, флутіацет-метил, фомесафен, лактофен, оксадіаргіл, оксифлуорфен, сафлуфенацил, сульфентразон, етил [3-[2-хлор-4-фтор-5-(1-метил-6-трифторметил-2,4-діоксо-1,2,3,4-тетрагідропіримідин-3-іл)фенокси]-2-піридилокси]ацетат (CAS 353292-31-6; S-3100), 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[b][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-тріазинан-2,4-діон (CAS 1258836-72-4), особливо бажано сафлуфенацил, 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[b][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-тріазинан-2,4-діон (CAS 1258836-72-4), щонайменше одну та особливо одну гербіцидно активну сполуку з групи b15), зокрема, вибрані з групи, що складається з наступних: дімрон (= даімурон), інданофан, індазифлам, оксазикломефон та тріазифлам.

15 Тут та нижче по тексту, термін "бінарні композиції" включає композиції, що містять одну або більше, наприклад, 1, 2 або 3 активні сполуки ППО-інгібуючого гербіциду, та один або більше, наприклад, 1, 2 або 3 гербіциди В.

20 У бінарних композиціях, що містять щонайменше один ППО-інгібуючий гербіцид, як компонент А, та щонайменше один гербіцид В, масове співвідношення активних сполук А:В зазвичай знаходиться в діапазоні від 1:1000 до 1000:1, бажано в діапазоні від 1:500 до 500:1, зокрема, в діапазоні від 1:250 до 250:1 та особливо бажано в діапазоні від 1:75 до 75:1.

Особливо бажані гербіциди В включають гербіциди В як визначено вище; зокрема, гербіциди В.1 - В.229, наведені у таблиці В нижче:

Таблиця В

Гербіцид В

В.1	клетодим
В.2	клодінафоп-пропаргіл
В.3	циклоксидим
В.4	цигалофоп-бутил
В.5	феноксапроп-етил
В.6	феноксапроп-Р-етил
В.7	флуазифоп
В.8	метаміфоп
В.9	піноксаден
В.10	профоксидим
В.11	квізалофоп
В.12	сетоксидим
В.13	тепралоксидим
В.14	тралкоксидим
В.15	еспрокарб
В.16	етофумезат
В.17	молінат
В.18	просульфокарб
В.19	тіобенкарб
В.20	триаллат
В.21	бенсульфурон-метил
В.22	біспірибак-натрію
В.23	клорансулам-метил
В.24	хлорсульфурон
В.25	клоримурон
В.26	циклосульфамурон
В.27	диклосулам
В.28	флорасулам
В.29	флуметсулам
В.30	флупірсульфурон-метил-натрію

Гербицид В

V.31	форамсульфурон
V.32	галосулфурон-метил
V.33	імазамокс
V.34	імазамокс-амонію
V.35	імазапik
V.36	імазапik-амонію
V.37	імазапik-ізопропіламонію
V.38	імазапip
V.39	імазапip-амонію
V.40	імазапip-ізопропіламонію
V.41	імазаквін
V.42	імазаквін-амонію
V.43	імазетапip
V.44	імазетапip-амонію
V.45	імазетапip-ізопропіламонію
V.46	імазосулфурон
V.47	йодосулфурон-метил-натрію
V.48	іофенсульфурон
V.49	іофенсульфурон-натрію
V.50	мезосулфурон-метил
V.51	метазосулфурон
V.52	метсульфурон-метил
V.53	метосулам
V.54	нікосулфурон
V.55	пенокосулам
V.56	пропоксикарбазон-натрію
V.57	піразосулфурон-етил
V.58	пірибензоксим
V.59	пірифталід
V.60	піритіобак-натрію
V.61	пірокосулам
V.62	пропірисулфурон
V.63	римсульфурон
V.64	сульфосулфурон
V.65	тієнкарбазон-метил
V.66	тіфенсульфурон-метил
V.67	трибенурон-метил
V.68	трифлорисулфурон
V.69	тритосулфурон
V.70	тріафамон
V.71	аметрине
V.72	атразин
V.73	бентазон
V.74	бромксиніл
V.75	бромксиніл-октаноат
V.76	бромксиніл-гептаноат
V.77	бромксиніл-калію
V.78	діурон
V.79	флуометурон
V.80	гексазинон
V.81	ізопротурон
V.82	лінурон
V.83	метамітрон
V.84	метрибузин

Гербицид В

B.85	прометрин
B.86	пропаніл
B.87	simazin
B.88	тербутилазин
B.89	тербутрин
B.90	паракват-дихлорид
B.91	ацифлуорфен
B.92	ацифлуорфен-натрію
B.93	азафенідин
B.94	бенкарбазон
B.95	бензфендізон
B.96	біфенокс
B.97	бутафенацил
B.98	карфентразон
B.99	карфентразон-етил
B.100	хлометоксифен
B.101	цинідон-етил
B.102	флуазолат
B.103	флуфенпір
B.104	флуфенпір-етил
B.105	флуміклорак
B.106	флуміклорак-пентил
B.107	флуміоксазин
B.108	фторглікофен
B.109	фторглікофен-етил
B.110	флутіацет
B.111	флутіацет-метил
B.112	фомесафен
B.113	галосафен
B.114	лактофен
B.115	оксадіаргіл
B.116	оксадіазон
B.117	оксифлуорфен
B.118	пентоксазон
B.119	профлуазол
B.120	піраклоніл
B.121	пірафлуфен
B.122	пірафлуфен-етил
B.123	сафлуфенацил
B.124	сульфентразон
B.125	тидіазимін
B.126	тіафенацил
B.127	етил [3-[2-хлор-4-фтор-5-(1-метил-6-трифторметил-2,4-діоксо-1,2,3,4-тетрагідропіримідин-3-іл)фенокси]-2-піридилокси]ацетат (CAS 353292-31-6)
B.128	1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[b][1,4]-оксазин-6-іл)-1,3,5-тріазинан-2,4-діон (CAS 1258836-72-4)
B.129	N-етил-3-(2,6-дихлор-4-трифторметилфенокси)-5-метил-1Н-піразол-1-карбоксамід (CAS 452098-92-9)
B.130	N-тетрагідрофурфурил-3-(2,6-дихлор-4-трифторметилфенокси)-5-метил-1Н-піразол-1-карбоксамід (CAS 915396-43-9)
B.131	N-етил-3-(2-хлор-6-фтор-4-трифторметилфенокси)-5-метил-1Н-піразол-1-карбоксамід (CAS 452099-05-7)
B.132	N-тетрагідрофурфурил-3-(2-хлор-6-фтор-4-трифторметилфенокси)-5-метил-1Н-піразол-1-карбоксамід (CAS 452100-03-7)

Гербіцид В

B.133	3-[7-фтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[1,4]оксазин-6-іл]-1,5-диметил-6-тіоксо-[1,3,5]тріазинан-2,4-діон
B.134	2-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-проп-2-ініл-3,4-дигідро-2Н-бензо[1,4]оксазин-6-іл)-4,5,6,7-тетрагідро-ізоіндол-1,3-діон
B.135	1-метил-6-трифторметил-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-проп-2-ініл-3,4-дигідро-2Н-бензо[1,4]оксазин-6-іл)-1Н-піримідин-2,4-діон
B.136	метил (Е)-4-[2-хлор-5-[4-хлор-5-(дифторметокси)-1Н-метил-піразол-3-іл]-4-фтор-фенокси]-3-метокси-бут-2-еноат [CAS 948893-00-3]
B.137	3-[7-хлор-5-фтор-2-(трифторметил)-1Н-бензімідазол-4-іл]-1-метил-6-(трифторметил)-1Н-піримідин-2,4-діон (CAS 212754-02-4)
B.138	бензобіциклон
B.139	кломазон
B.140	дифлуфенкан
B.141	флурохлоридон
B.142	ізоксафлутол
B.143	мезотріон
B.144	норфлуразоне
B.145	піколінафен
B.146	сулкотріон
B.147	тефурилтріон
B.148	темботріон
B.149	топрамезон
B.150	топрамезон-натрію
B.151	біциклопірон
B.152	амітрол
B.153	флуометурон
B.154	гліфосат
B.155	гліфосат-амонію
B.156	гліфосат-диметиламонію
B.157	гліфосат-ізопропіламонію
B.158	гліфосат-тримезію (сульфосат)
B.159	гліфосат-калію
B.160	глюфосинат
B.161	глюфосинат-амонію
B.162	глюфосинат-Р
B.163	глюфосинат-Р-амонію
B.164	Пендиметалін
B.165	трифлуралін
B.166	ацетохлор
B.167	бутахлор
B.168	кафенстрол
B.169	диметенамід-Р
B.170	фентразамід
B.171	флуфенацет
B.172	мефенацет
B.173	метазахлор
B.174	метолахлор
B.175	S-метолахлор
B.176	претілахлор
B.177	феноксасульффон
B.178	ізоксабен
B.179	іпфенкарбазон
B.180	піроксасульффон
B.181	2,4-D

Гербицид В

V.182	2,4-D-ізобутил
V.183	2,4-D-диметиламонію
V.184	2,4-D-N,N,N-триметилетаноламонію
V.185	амінопіралід
V.186	амінопіралід-метил
V.187	амінопіралід-трис(2-гідроксипропіл)амонію
V.188	клопіралід
V.189	клопіралід-метил
V.190	клопіралід-оламін
V.191	дікамба
V.192	дікамба-бутотил
V.193	дікамба-диглікольамін
V.194	дікамба-диметиламонію
V.195	дікамба-діоламін
V.196	дікамба-ізопропіламонію
V.197	дікамба-калію
V.198	дікамба-натрію
V.199	дікамба-троламін
V.200	дікамба-N,N-біс-(3-амінопропіл)метиламін
V.201	дікамба-диетилентриамін
V.202	Флуроксипір
V.203	флуроксипір-метил
V.204	МСРА
V.205	МСРА-2-етилгексил
V.206	МСРА-диметиламонію
V.207	Квінклорак
V.208	квінклорак-диметиламонію
V.209	Квінмерак
V.210	квінмерак-диметиламонію
V.211	Аміноциклопірахлор
V.212	аміноциклопірахлор-калію
V.213	аміноциклопірахлор-метил
V.214	Дифлуфензопір
V.215	дифлуфензопір-натрію
V.216	Дімрон
V.217	Інданофан
V.218	Індазифлам
V.219	Оксазикломефон
V.220	Тріазифлам
V.221	II.1
V.222	II.2
V.223	II.3
V.224	II.4
V.225	II.5
V.226	II.6
V.227	II.7
V.228	II.8
V.229	II.9

Особливо переважними є композиції 1,1 - 1,229, що містять ацифлуорфен та сполуку(и) як визначено у відповідному рядку таблиці В-1:

Таблиця В-1(композиції 1,1 – 1.229)

№ комп.	Гербіцид В
1.1	В.1
1.2	В.2
1.3	В.3
1.4	В.4
1.5	В.5
1.6	В.6
1.7	В.7
1.8	В.8
1.9	В.9
1.10	В.10
1.11	В.11
1.12	В.12
1.13	В.13
1.14	В.14
1.15	В.15
1.16	В.16
1.17	В.17
1.18	В.18
1.19	В.19
1.20	В.20
1.21	В.21
1.22	В.22
1.23	В.23
1.24	В.24
1.25	В.25
1.26	В.26
1.27	В.27

№ комп.	Гербіцид В
1.28	В.28
1.29	В.29
1.30	В.30
1.31	В.31
1.32	В.32
1.33	В.33
1.34	В.34
1.35	В.35
1.36	В.36
1.37	В.37
1.38	В.38
1.39	В.39
1.40	В.40
1.41	В.41
1.42	В.42
1.43	В.43
1.44	В.44
1.45	В.45
1.46	В.46
1.47	В.47
1.48	В.48
1.49	В.49
1.50	В.50
1.51	В.51
1.52	В.52
1.53	В.53
1.54	В.54

№ комп.	Гербіцид В
1.55	В.55
1.56	В.56
1.57	В.57
1.58	В.58
1.59	В.59
1.60	В.60
1.61	В.61
1.62	В.62
1.63	В.63
1.64	В.64
1.65	В.65
1.66	В.66
1.67	В.67
1.68	В.68
1.69	В.69
1.70	В.70
1.71	В.71
1.72	В.72
1.73	В.73
1.74	В.74
1.75	В.75
1.76	В.76
1.77	В.77
1.78	В.78
1.79	В.79
1.80	В.80
1.81	В.81

№ комп.	Гербицид В
1.82	В.82
1.83	В.83
1.84	В.84
1.85	В.85
1.86	В.86
1.87	В.87
1.88	В.88
1.89	В.89
1.90	В.90
1.91	В.91
1.92	В.92
1.93	В.93
1.94	В.94
1.95	В.95
1.96	В.96
1.97	В.97
1.98	В.98
1.99	В.99
1.100	В.100
1.101	В.101
1.102	В.102
1.103	В.103
1.104	В.104
1.105	В.105
1.106	В.106
1.107	В.107
1.108	В.108

№ комп.	Гербицид В
1.109	В.109
1.110	В.110
1.111	В.111
1.112	В.112
1.113	В.113
1.114	В.114
1.115	В.115
1.116	В.116
1.117	В.117
1.118	В.118
1.119	В.119
1.120	В.120
1.121	В.121
1.122	В.122
1.123	В.123
1.124	В.124
1.125	В.125
1.126	В.126
1.127	В.127
1.128	В.128
1.129	В.129
1.130	В.130
1.131	В.131
1.132	В.132
1.133	В.133
1.134	В.134
1.135	В.135

№ комп.	Гербицид В
1.136	В.136
1.137	В.137
1.138	В.138
1.139	В.139
1.140	В.140
1.141	В.141
1.142	В.142
1.143	В.143
1.144	В.144
1.145	В.145
1.146	В.146
1.147	В.147
1.148	В.148
1.149	В.149
1.150	В.150
1.151	В.151
1.152	В.152
1.153	В.153
1.154	В.154
1.155	В.155
1.156	В.156
1.157	В.157
1.158	В.158
1.159	В.159
1.160	В.160
1.161	В.161
1.162	В.162

№ комп.	Гербіцид В
1.163	В.163
1.164	В.164
1.165	В.165
1.166	В.166
1.167	В.167
1.168	В.168
1.169	В.169
1.170	В.170
1.171	В.171
1.172	В.172
1.173	В.173
1.174	В.174
1.175	В.175
1.176	В.176
1.177	В.177
1.178	В.178
1.179	В.179
1.180	В.180
1.181	В.181
1.182	В.182
1.183	В.183
1.184	В.184
1.185	В.185
1.186	В.186
1.187	В.187
1.188	В.188
1.189	В.189

№ комп.	Гербіцид В
1.190	В.190
1.191	В.191
1.192	В.192
1.193	В.193
1.194	В.194
1.195	В.195
1.196	В.196
1.197	В.197
1.198	В.198
1.199	В.199
1.200	В.200
1.201	В.201
1.202	В.202
1.203	В.203
1.204	В.204
1.205	В.205
1.206	В.206
1.207	В.207
1.208	В.208
1.209	В.209
1.210	В.210
1.211	В.211
1.212	В.212
1.213	В.213
1.214	В.214
1.215	В.215
1.216	В.216

№ комп.	Гербіцид В
1.217	В.217
1.218	В.218
1.219	В.219
1.220	В.220
1.221	В.221
1.222	В.222
1.223	В.223
1.224	В.224
1.225	В.225
1.226	В.226
1.227	В.227
1.228	В.228
1.229	В.229

Також особливо переважними є композиції 2.1. - 2.229, які відрізняються від відповідних композицій 1,1 - 1,229 тільки тим, що вони містять як компонент А ацифлуорфен-натрію.

5 Також особливо переважними є композиції 3.1. - 3.229, які відрізняються від відповідних композицій 1,1 - 1,229 тільки тим, що вони містять як компонент А азафенідин.

Також особливо переважними є композиції 4.1. - 4.229, які відрізняються від відповідних

композицій 1,1 - 1,229 тільки тим, що вони містять як компонент А сульфентразон.

Також особливо переважними є композиції 35.1. - 35.229, які відрізняються від відповідних композицій 1,1 - 1,229 тільки тим, що вони містять як компонент А тидіазимін.

5 Також особливо переважними є композиції 36.1. - 36.229, які відрізняються від відповідних композицій 1,1 - 1,229 тільки тим, що вони містять як компонент А тіафенацил.

Також особливо переважними є композиції 37.1. - 37.229, які відрізняються від відповідних композицій 1,1 - 1,229 тільки тим, що вони містять як компонент А етил [3-[2-хлор-4-фтор-5-(1-метил-6-трифторметил-2,4-діоксо-1,2,3,4-тетрагідропіримідин-3-іл)фенокс]-2-піридилокси]ацетат (CAS 353292-31-6; S-3100).

10 Також особливо переважними є композиції 38.1. - 38.229, які відрізняються від відповідних композицій 1,1 - 1,229 тільки тим, що вони містять як компонент А 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[b][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-тріазинан-2,4-діон (CAS 1258836-72-4)

15 Також особливо переважними є композиції 39.1. - 39.229, які відрізняються від відповідних композицій 1,1 - 1,229 тільки тим, що вони містять як компонент А

N-етил-3-(2,6-дихлор-4-трифторметилфенокс)-5-метил-1Н-піразол-1-карбоксамід (CAS 452098-92-9).

20 Також особливо переважними є композиції 40.1. - 40.229, які відрізняються від відповідних композицій 1,1 - 1,229 тільки тим, що вони містять як компонент А N-тетрагідрофурфурил-3-(2,6-дихлор-4-трифторметилфенокс)-5-метил-1Н-піразол-1-карбоксамід (CAS 915396-43-9).

Також особливо переважними є композиції 41.1. - 41.229, які відрізняються від відповідних композицій 1,1 - 1,229 тільки тим, що вони містять як компонент А

N-етил-3-(2-хлор-6-фтор-4-трифторметилфенокс)-5-метил-1Н-піразол-1-карбоксамід (CAS 452099-05-7).

25 Також особливо переважними є композиції 42.1. - 42.229, які відрізняються від відповідних композицій 1,1 - 1,229 тільки тим, що вони містять як компонент А N-тетрагідрофурфурил-3-(2-хлор-6-фтор-4-трифторметилфенокс)-5-метил-1Н-піразол-1-карбоксамід (CAS 452100-03-7).

Також особливо переважними є композиції 43.1. - 43.229, які відрізняються від відповідних композицій 1,1 - 1,229 тільки тим, що вони містять як компонент А

30 3-[7-фтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[1,4]оксазин-6-іл]-1,5-диметил-6-тіоксо-[1,3,5]тріазинан-2,4-діон.

Також особливо переважними є композиції 44.1. - 44.229, які відрізняються від відповідних композицій 1,1 - 1,229 тільки тим, що вони містять як компонент А метил (Е)-4-[2-хлор-5-[4-хлор-5-(дифторметокси)-1Н-метил-піразол-3-іл]-4-фтор-фенокс]-3-метокси-бут-2-еноат (CAS 948893-00-3).

35 Також особливо переважними є композиції 45.1. - 45.229, які відрізняються від відповідних композицій 1,1 - 1,229 тільки тим, що вони містять як компонент А

3-[7-хлор-5-фтор-2-(трифторметил)-1Н-бензімідазол-4-іл]-1-метил-6-(трифторметил)-1Н-піримідин-2,4-діон (CAS 212754-02-4).

40 Також особливо переважними є композиції 46.1. - 46.229, які відрізняються від відповідних композицій 1,1 - 1,229 тільки тим, що вони містять як компонент А

2-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-проп-2-ініл-3,4-дигідро-2Н-бензо[1,4]оксазин-6-іл)-4,5,6,7-тетрагідро-ізоіндол-1,3-діон.

45 Також особливо переважними є композиції 47.1. - 47.229, які відрізняються від відповідних композицій 1,1 - 1,229 тільки тим, що вони містять як компонент А

1-метил-6-трифторметил-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-проп-2-ініл-3,4-дигідро-2Н-бензо[1,4]оксазин-6-іл)-1Н-піримідин-2,4-діон

Також особливо переважними є композиції 48.1. - 48.229, які відрізняються від відповідних композицій 1,1 - 1,229 тільки тим, що вони додатково містять беноксакор як сафенер С.

50 Також особливо переважними є композиції 49.1. - 49.229, які відрізняються від відповідних композицій 1,1 - 1,229 тільки тим, що вони додатково містять клоквінтоцет як сафенер С.

Також особливо переважними є композиції 50.1. - 50.229, які відрізняються від відповідних композицій 1,1 - 1,229 тільки тим, що вони додатково містять ципросульфамід як сафенер С.

55 Також особливо переважними є композиції 51.1. - 51.229, які відрізняються від відповідних композицій 1,1 - 1,229 тільки тим, що вони додатково містять дихлормід як сафенер С.

Також особливо переважними є композиції 52.1. - 52.229, які відрізняються від відповідних композицій 1,1 - 1,229 тільки тим, що вони додатково містять фенхлоразол як сафенер С.

Також особливо переважними є композиції 53.1. - 53.229, які відрізняються від відповідних композицій 1,1 - 1,229 тільки тим, що вони додатково містять фенклорим як сафенер С.

60 Також особливо переважними є композиції 54.1. - 54.229, які відрізняються від відповідних

композицій 1,1 - 1,229 тільки тим, що вони додатково містять фурилазол як сафенер С.

Також особливо переважними є композиції 55.1. - 55.229, які відрізняються від відповідних композицій 1,1 - 1,229 тільки тим, що вони додатково містять ізоксадифен як сафенер С.

Також особливо переважними є композиції 56.1. - 56.229, які відрізняються від відповідних композицій 1,1 - 1,229 тільки тим, що вони додатково містять мефенпір як сафенер С.

Також особливо переважними є композиції 57.1. - 57.229, які відрізняються від відповідних композицій 1,1 - 1,229 тільки тим, що вони додатково містять 4-(дихлорацетил)-1-окса-4-азаспіро[4,5]декан (MON4660, CAS 71526-07-3) як сафенер С.

Також особливо переважними є композиції 58.1. - 58.229, які відрізняються від відповідних композицій 1,1 - 1,229 тільки тим, що вони додатково містять 2,2,5-триметил-3-(дихлорацетил)-1,3-оксазолідин (R-29148, CAS 52836-31-4) як сафенер С.

Зазвичай бажано використовувати сполуки, зокрема, ППО-інгібуючі гербіциди та композиції описані вище, які є придатними для винаходу у комбінації із гербіцидами, що є селективними щодо обробки зернових та які доповнюють спектр бур'янів, на які діють ці сполуки при застосованому рівні нанесення. Зазвичай також бажано наносити сполуки винаходу та інші додаткові гербіциди одночасно, або як комбіновану композицію, або як базову суміш.

Відомо, що молекули полінуклеотиду та поліпептиди винаходу включають молекули полінуклеотиду та поліпептиди, що містять нуклеотидну або амінокислотну послідовність, достатньо ідентичну нуклеотидним послідовностям SEQ ID No: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45 або 47, або амінокислотним послідовностям SEQ ID No: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46 або 48. Термін "достатньо ідентична" стосується першої амінокислотної або нуклеотидної послідовності, що містить достатню або мінімальну кількість ідентичних або еквівалентних (наприклад, з однаковим бічним ланцюгом) амінокислотних залишків або нуклеотидів із другою амінокислотою або нуклеотидною послідовністю, так що перша та друга амінокислотні або нуклеотидні послідовності мають спільний структурний домен та/або спільну функціональну активність.

Зазвичай, "ідентичність послідовності" стосується обсягу до якого дві оптимально вирівняні ДНК або амінокислотні послідовності є постійними для всього вікна вирівнювання компонентів, наприклад, нуклеотиди або амінокислоти. "Фракція ідентичності" для вирівняних сегментів тест послідовності та порівнювальної послідовності означає кількість ідентичних компонентів, що поділяють дві вирівняні послідовності, поділену на загальну кількість компонентів у сегментів порівнювальної послідовності, тобто, уся порівнювальна послідовність або менша визначена частина порівнювальної послідовності. "Процент ідентичності" це фракція ідентичності помножена на 100. Оптимальне вирівнювання послідовностей для вирівнювання вікна порівняння доре відоме у галузі та може бути здійснено за допомогою алгоритму локальної гомології Сміта та Ватермана, алгоритму вирівнювання гомології Нідлмана та Вунша, пошуку подібностей Пірсона та Ліпмана, та бажано комп'ютерним виконанням цих алгоритмів, таким як GAP, BESTFIT, FASTA та TFASTA, доступним як частина GCG. Wisconsin Package. (Accelrys Inc. Burlington, Mass.)

Полінуклеотиди та Олігонуклеотиди

Термін "виділений полінуклеотид", включаючи ДНК, РНК або їх комбінації, одно- або дво-спіральні, у сенсовій або антисенсовій орієнтації або їх комбінації, dsРНК тощо, означає полінуклеотид, щонайменше частково відділений від полінуклеотид них послідовностей з якими він пов'язаний або асоційований у нативному стані. Це означає, що інші молекули нуклеїнової кислоти присутні у кількості менше ніж 5% на основі маси бажаної нуклеїнової кислоти, бажано менше ніж 2 мас.%, більш бажано менше ніж 1 мас.%, найбільш бажано менше ніж 0,5 мас.%. Бажано, "виділена" нуклеїнова кислота не містить послідовностей, що природно контактують із нуклеїновою кислотою (тобто, послідовності розташовані біля 5' та 3' кігців нуклеїнової кислоти) у геном ній ДНК організму з якого походить нуклеїнова кислота. Наприклад, у різних варіантах втілення, виділений протеїн, що забезпечує резистентність та/або толерантність, який кодується молекулою нуклеїнової кислоти, може містити менше ніж приблизно 5 кб, 4 кб, 3 кб, 2 кб, 1 кб, 0,5 кб або 0,1 кб послідовностей нуклеотидів, що природно контактують із молекулою нуклеїнової кислоти у геном ній ДНК клітини, з якої походить нуклеїнова кислота. Більш того, "виділена" молекула нуклеїнової кислоти, така як молекула кДНК, може не містити інший клітинний матеріал з яким вона природна асоційована, або культуральне середовище при одержанні рекомбінантними техніками, або хімічних попередників або інших хімікатів при хімічному синтезі. Бажано, виділений полінуклеотид є на щонайменше 60% вільним, бажано щонайменше 75% вільним, та найбільш бажано на щонайменше 90% вільним від інших компонентів, з якими він природно асоційований. Фахівцю у галузі зрозуміло, що виділений

полінуклеотид може бути екзогенним полінуклеотидом присутнім у, наприклад, транс генному організмі, що природно не містить полінуклеотид.

Більш того, терміни "полінуклеотид(и)", "послідовність нуклеїнової кислоти", "послідовність нуклеотидів", "нуклеїнова кислота(и)", "молекула нуклеїнової кислоти" використовують взаємозамінно та відносяться до нуклеотидів, рибонуклеотидів або дезоксирибонуклеотидів або їх комбінації, у полімерній нерозгалуженій формі будь-якої довжини.

Термін "нуклеїнова кислота мутованої ППО" стосується нуклеїнової кислоти ППО із послідовністю мутованою із нуклеїнової кислоти ППО дикого типу та що забезпечує підвищену толерантність до ППО-інгібуючого гербіциду рослину, що її експресує. Більш того, термін "мутована протопорфіриногеноксидаза (мутована ППО)" стосується заміни амінокислоти первинних послідовностей дикого типу SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46 або 48, або її варіанту, похідної, гомолога, ортолога або паралога, іншою амінокислотою. Вираз "мутована амінокислота" буде використано далі для позначення амінокислоти, заміненої іншою амінокислотою, таким чином позначаючи місце мутації у первинній послідовності протеїну.

У переважному варіанті втілення, нуклеотидна послідовність ППО, яка кодує мутовану ППО, містить послідовність SEQ ID NO: 1, 3, 23, 29, 37, 45 або 47, або її варіант або похідну.

Більш того, фахівцю у галузі зрозуміло, що нуклеотидні послідовності ППО включають гомологи, паралоги та ортологи із SEQ ID NO: 1, 3, 23, 29, 37, 45 або 47, як визначено далі.

Термін "варіант" по відношенню до послідовності (наприклад, поліпептидної або нуклеїнової послідовності, такої як – наприклад – нуклеотидна послідовність, що регулює транскрипцію винаходу) означає по суті однакові послідовності. Для нуклеотидних послідовностей, що містять відкриту рамку зчитування, варіанти включають ті послідовності, які внаслідок вродженості генетичного коду, кодують ідентичну амінокислотну послідовність нативного протеїну. Природні алельні варіанти, такі як ці, можуть бути ідентифіковані за відомими способами молекулярної біології, наприклад, за допомогою полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) та гібридизації. Варіант нуклеотидних послідовностей включає також штучні нуклеотидні послідовності, такі як одержані, наприклад, за допомогою сайт-спрямованого мутагенезу, кодують нативний протеїн, а також ті, що кодують поліпептид із амінокислотними заміщеннями порівняно із нативним протеїном, наприклад, мутована ППО даного винаходу, як описано у даному документі. Зазвичай, варіанти нуклеотидної послідовності винаходу мають щонайменше 30, 40, 50, 60 - 70%, наприклад, бажано 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78% - 79%, зазвичай щонайменше 80%, наприклад, 81%-84%, щонайменше 85%, наприклад, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97% - 98% та 99% "ідентичності послідовності" нуклеотиду до нуклеотидної послідовності SEQ ID NO: SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45 або 47. Процент % ідентичності полінуклеотиду визначають за допомогою GAP аналізу (Needleman and Wunsch, 1970) (програма GCG) із штрафом за створення гепу =5, та штрафом за подовження гепу =0,3. Доки не зазначено протилежне, потрібна послідовність має довжину щонайменше 45 нуклеотидів, та аналіз GAP вирівнює дві послідовності уздовж ділянки у щонайменше 45 нуклеотидів. Бажано, потрібна послідовність має довжину щонайменше 150 нуклеотидів, та аналіз GAP вирівнює дві послідовності уздовж ділянки у щонайменше 150 нуклеотидів. Більш бажано, потрібна послідовність має довжину щонайменше 300 нуклеотидів, та аналіз GAP вирівнює дві послідовності уздовж ділянки у щонайменше 300 нуклеотидів. Ще більш бажано, аналіз GAP вирівнює дві послідовності уздовж їх всієї довжини.

Поліпептиди

"По суті очищений поліпептид" або "очищений" поліпептид означає, що він був відділений від одного або більше ліпідів, нуклеїнових кислот, інших поліпептидів або інших забруднюючих молекул, з якими він природно асоційований. Бажано щоб по суті очищений поліпептид був на щонайменше 60% вільний, більш бажано щонайменше 75% вільний, та більш бажано на щонайменше 90% вільний від інших компонентів, з якими він природно асоційований. Фахівцю у галузі зрозуміло, що очищений поліпептид може бути рекомбінантно одержаним поліпептидом. Терміни "поліпептид" та "протеїн" використовують взаємозамінно, та стосуються одного поліпептидного ланцюга модифікованого або ні додаванням не-амінокислотних груп. Зрозуміло, що такі поліпептидні ланцюги можуть взаємодіяти із іншими поліпептидами або протеїнами, такими як кофактори. Терміни "протеїни" та "поліпептиди" також включають варіанти, мутанти, модифікації, аналоги та/або похідні поліпептидів винаходу, як описано у даному документі.

Процент % ідентичності поліпептиду визначають за допомогою GAP аналізу (Needleman and Wunsch, 1970) (програма GCG) із штрафом за створення гепу =5, та штрафом за подовження гепу =0,3. Потрібна послідовність має довжину щонайменше 25 амінокислот, та аналіз GAP

вирівнює дві послідовності уздовж ділянки у щонайменше 25 амінокислот. Більш бажано, потрібна послідовність має довжину щонайменше 50 амінокислот, та аналіз GAP вирівнює дві послідовності уздовж ділянки у щонайменше 50 амінокислот. Більш бажано, потрібна послідовність має довжину щонайменше 100 амінокислот, та аналіз GAP вирівнює дві послідовності уздовж ділянки у щонайменше 100 амінокислот. Ще більш бажано, потрібна послідовність має довжину щонайменше 250 амінокислот, та аналіз GAP вирівнює дві послідовності уздовж ділянки у щонайменше 250 амінокислот. Ще більш бажано, аналіз GAP вирівнює дві послідовності уздовж їх всієї довжини.

Стосовно визначеного поліпептиду, зрозуміло, що % ідентичності вищий, ніж зазначений вище, включає бажані варіанти втілення. Таким чином, де можливо, у світлі мінімального проценту ідентичності, бажано щоб ППО поліпептид винаходу містив амінокислотну послідовність, яка на щонайменше 40%, більш бажано щонайменше 45%, більш бажано щонайменше 50%, більш бажано щонайменше 55%, більш бажано щонайменше 60%, більш бажано щонайменше 65%, більш бажано щонайменше 70%, більш бажано щонайменше 75%, більш бажано щонайменше 80%, більш бажано щонайменше 85%, більш бажано щонайменше 90%, більш бажано щонайменше 91%, більш бажано щонайменше 92%, більш бажано щонайменше 93%, більш бажано щонайменше 94%, більш бажано щонайменше 95%, більш бажано щонайменше 96%, більш бажано щонайменше 97%, більш бажано щонайменше 98%, більш бажано щонайменше 99%, більш бажано щонайменше 99,1%, більш бажано щонайменше 99,2%, більш бажано щонайменше 99,3%, більш бажано щонайменше 99,4%, більш бажано щонайменше 99,5%, більш бажано щонайменше 99,6%, більш бажано щонайменше 99,7%, більш бажано щонайменше 99,8%, та ще більш бажано щонайменше 99,9% ідентична послідовності SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46 або 48.

"Варіант" поліпептиду означає поліпептид, що походить від протеїну із SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46 або 48, шляхом делеції (так званого усічення) або додавання однієї або більше амінокислот до N-кінця та/або С-кінця нативного протеїну; делеції або додавання однієї або більше амінокислот до одного або більше місць нативного протеїну; або заміщення однієї або більше амінокислот у одному або більше місцях нативного протеїну. Такі варіанти можуть бути результатом, наприклад, генетичного поліморфізму або людського втручання. Способи таких втручань добре відомі у галузі.

"Похідні" протеїну включають пептиди, олігопептиди, поліпептиди, протеїни та ферменти, що мають амінокислотні заміщення, делеції та/або вставки, порівняно з не модифікованим протеїном, та мають однакову біологічну та функціональну активність, що й не модифікований протеїн, з якого вони походять.

"Гомологи" протеїну включають пептиди, олігопептиди, поліпептиди, протеїни та ферменти, що мають амінокислотні заміщення, делеції та/або вставки, порівняно з не модифікованим протеїном, та мають однакову біологічну та функціональну активність, що й не модифікований протеїн, з якого вони походять.

Делеція стосується видалення однієї або більше амінокислот з протеїну.

Вставка стосується одного або більше амінокислотних залишків введених у заздалегідь визначене місце у протеїні. Вставки можуть включати N-кінцеві та/або С-кінцеві злиття, а також вставки однієї або більше амінокислот всередину послідовності. Взагалі, вставки всередині амінокислотної послідовності є меншими, ніж N- або С-кінцеві злиття, на порядок приблизно 1 - 10 залишків. Приклади N- або С-термінальних злитих протеїнів або пептидів включають домен зв'язування або домен активації активатора транскрипції, як використано у дріжджовій дво-гібридній системі, протеїнах поверхні фагів, (гістидин)-6-маркері, глутатіон S-трансфераза-маркері, протеїн А, протеїні, що зв'язує мальтозу, дигідрофолатредуктазі, епітопі Tag•100, епітопі с-тус, FLAG®-епітопі, lacZ, CMP (пептид, що зв'язує кальмодулін), епітопі HA, епітопі протеїну С та епітопі VSV.

Заміщення стосується заміни амінокислот протеїну іншими амінокислотами із подібними властивостями (такими як подібна гідрофобність, гідрофільність, антигенність, здатність утворювати або розривати α -спіральні структури або β -пластинчасті структури). Амінокислотні заміщення зазвичай стосується одиночних залишків, проте можуть відноситись і до кластерів, залежно від функціональних обмежень поліпептиду, та можуть знаходитись в діапазоні від 1 до 10 амінокислот; вставки зазвичай мають порядок приблизно 1 - 10 амінокислотних залишків. Амінокислотні заміщення бажано є консервативними амінокислотними заміщеннями. Таблиці консервативних заміщень добре відомі у галузі (дивитись, наприклад, Creighton (1984) Proteins. W.H. Freeman and Company (Eds)).

Приклади консервативних амінокислотних заміщень

Залишок	Консервативні заміщення	Залишок	Консервативні заміщення
Ala	Ser	Leu	Ile; Val
Arg	Lys	Lys	Arg; Gln
Asn	Gln; His	Met	Leu; Ile
Asp	Glu	Phe	Met; Leu; Tyr
Gln	Asn	Ser	Thr; Gly
Cys	Ser	Thr	Ser; Val
Glu	Asp	Trp	Tyr
Gly	Pro	Tyr	Trp; Phe
His	Asn; Gln	Val	Ile; Leu
Ile	Leu, Val		

Амінокислотні заміщення, делеції та/або вставки можна здійснити, використовуючи техніки синтезу пептидів, добре відомі у галузі, такі як твердо-фазний синтез пептидів тощо, або технологію рекомбінантних ДНК. Способи використання послідовностей ДНК для одержання варіантів протеїну, внаслідок заміщень, вставок або делецій добре відомі у галузі. Наприклад, технології заміщу вальних мутацій у визначених місцях у ДНК добре відомі у галузі та включають M13 мутагенез, T7-Gen in vitro мутагенез (USB, Клівленд, ОН), сайт-спрямований мутагенез QuickChange (Stratagene, Сан Дієго, CA), PCR-опосередкований сайт-спрямований мутагенез або інші протоколи сайт-спрямованого мутагенезу.

“Похідні” також включають пептиди, олігопептиди, поліпептиди, які можуть, порівняно із амінокислотною послідовністю природної форми протеїну, такого як бажаний протеїн, містити заміщення амінокислот амінокислотними залишками неприродного походження, або додавання амінокислотних залишків неприродного походження. “Похідні” протеїну також включають пептиди, олігопептиди, поліпептиди, які мстять природні змінені (глікозильовані, ацильовані, пренильовані, фосфорильовані, міристоільовані, сульфатовані тощо) або неприродні змінені амінокислотні залишки, порівняно із амінокислотною послідовністю природної форми протеїну. Похідна також може містити одне або більше амінокислотних заміщень або додавань, порівняно із амінокислотною послідовністю з якої вона походить, наприклад, репортерна молекула або інший ліганд, ковалентно або нековалентно зв’язана із амінокислотною послідовністю, наприклад, репортерна молекула зв’язана для покращення її виявлення, та неприродні амінокислотні залишки, порівняно із амінокислотною послідовністю природної форми протеїну. Більш того, “похідні” також включають злиття природної форми протеїну із маркерними пептидами, такими як FLAG, HIS6 або тіоредоксин (для огляду маркерних пептидів, дивитись Terpe, Appl. Microbiol. Biotechnol. 60, 523-533, 2003).

“Ортологи” та “паралоги” включають еволюційні концепти, використані для опису пращурних відносин генів. Паралоги є генами одного виду, одержані дуплікацією гену пращура; ортологи є генами різних організмів, одержані шляхом видоутворення, та також походять від спільного гену пращура. Необмежувачий перелік прикладів таких ортологів показано у Таблиці 1.

У галузі добре відомо, що паралоги та ортологи можуть поділяти певні домени, що містять придатні амінокислотні залишки у певних місцях, таких як кармани зв’язування певних субстратів, сполук, таких як, наприклад, гербіциди, або мотиви зв’язування для взаємодії із іншими протеїнами.

Термін “домен” стосується набору амінокислот, закріпленого у певних положеннях уздовж вирівнювання послідовностей еволюційно пов’язаних протеїнів. У той час як амінокислоти у інших положеннях можуть відрізнятися між гомологами, амінокислоти сильно закріплені у певних положеннях вказують на незамінні амінокислоти у структурі, стабільності або функції протеїну. Такі амінокислоти ідентифікують за їх високим рівнем консервативності у вирівняних послідовностях родини гомологів протеїну, та вони можуть бути використані як ідентифікатори при визначенні приналежності будь-якого поліпептиду до попередньо визначеної родини поліпептидів.

Термін “мотив” або “консенсусна послідовність” стосується короткої консервативної ділянки у послідовності еволюційно пов’язаних протеїнів. Мотиви часто є високо консервативними частинами доменів, проте також можуть включати тільки частину домену, або бути розташовані назовні від консервативного домену (у разі якщо всі амінокислоти мотиву випадають з

визначеного домену).

Існують спеціальні бази даних для ідентифікації доменів, наприклад, SMART (Schultz et al. (1998) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95, 5857-5864; Letunic et al. (2002) Nucleic Acids Res 30, 242-244), InterPro (Mulder et al., (2003) Nucl. Acids. Res. 31, 315-318), Prosite (Bucher and Bairoch (1994), A generalized profile syntax for biomolecular sequences motifs and its function in automatic sequence interpretation. (In) ISMB-94; Proceedings 2nd International Conference on Intelligent Systems for Molecular Biology. Altman R., Brutlag D., Karp P., Lathrop R., Searls D., Eds., pp53-61, AAAI Press, Menlo Park; Hulo et al., Nucl. Acids. Res. 32:D134-D137, (2004)), або Pfam (Bateman et al., Nucleic Acids Research 30(1): 276-280 (2002)). Набір інструментів для віртуального аналізу протеїнових послідовностей наявний сервері протеоміки ExPASy (Швейцарський інститут біоінформатики (Gasteiger et al., ExPASy: the proteomics server for in-depth protein knowledge and analysis, Nucleic Acids Res. 31:3784-3788(2003)). Домени або мотиви також можуть бути ідентифіковані, використовуючи стандартні техніки, такі як вирівнювання послідовностей.

Способи вирівнювання послідовностей для порівняння відомі у галузі, такі способи включають GAP, BESTFIT, BLAST, FASTA та TFASTA. GAP використовує алгоритм Нідлмана та Вунша ((1970) J Mol Biol 48: 443-453) для здійснення глобального (тобто, перекривання повних послідовностей) вирівнювання двох послідовностей, що робить максимальним кількість співпадінь та мінімізує кількість гепів. Алгоритм BLAST (Altschul et al. (1990) J Mol Biol 215: 403-10) розраховує процент ідентичності послідовностей, та здійснює статистичний аналіз подібності між двома послідовностями. Програмне забезпечення для аналізу BLAST публічно наявне у Національному Центрі Біотехнологічної Інформації (NCBI). Гомологи ідентифікують, використовуючи, наприклад, алгоритм множинного вирівнювання послідовностей ClustalW (версія 1.83), із параметрами попарного вирівнювання за замовчуванням, та способом підрахунку процентів. Глобальний процент подібності та ідентичності також визначають за одним із способів, наявних у програмному забезпеченні MatGAT (Campanella et al., BMC Bioinformatics. 2003 Jul 10;4:29. MatGAT: an application that generates similarity/identity matrices using protein or DNA sequences.). незначне ручне корегування може бути здійснене для оптимізації вирівнювання між консервативними мотивами, що очевидно фахівцю у галузі. Більш того, замість використання повнодовжинних послідовностей для ідентифікації гомологів, можуть бути використані певні домени. Значення ідентичності послідовностей можуть бути визначені для всієї нуклеїнової або амінокислотної послідовності, або для певних доменів або консервативних мотивів, використовуючи згадані вище програми із параметрами за замовчуванням. Для локальних вирівнювань, особливо придатним є алгоритм Сміта-Ватермана (Smith TF, Waterman MS (1981) J. Mol. Biol 147(1);195-7).

Винахідники даного винаходу виявили, що шляхом заміщення одного або більше ключових амінокислотних залишків, використовуючи, наприклад, один з вищенаведених способів для мутування нуклеїнових кислот, що їх кодують, може бути значно підвищена толерантність або резистентність до гербіцидів, порівняно із активністю ферментів ППО дикого типу із SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46 або 48. Бажані заміщення мутованої ППО є заміщеннями, що підвищують толерантність рослини до гербіциду, проте залишають біологічну активність оксидази неушкодженою.

Відповідно, у іншому варіанті даного винаходу, ключові амінокислотні залишки ферменту ППО, що містить SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46 або 48, її варіант, похідну, ортолог, паралог або гомолог, заміщені будь-якою іншою амінокислотою.

У одному варіанті втілення, ключові амінокислотні залишки ферменту ППО, її варіанта, похідної, ортологу, паралогу або гомологу, заміщені консервативною амінокислотою, як показано у Таблиці 2.

Фахівцю у галузі зрозуміло, що амінокислоти, розташовані поблизу положень амінокислот, що згадані нижче, також можуть бути заміщені. Таким чином, у іншому варіанті втілення, варіант SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46 або 48, її варіант, похідна, ортолог, паралог або гомолог, містить мутовану ППО, де амінокислота ± 3 , ± 2 або ± 1 амінокислотне положення від ключової амінокислоти, заміщена будь-якою іншою амінокислотою.

На основі відомих у галузі технік можна розробити високо характеристичну модель послідовності, за допомогою якої можна знайти додаткові кандидати мутованої ППО із бажаною активністю.

Пошук додаткових кандидатів мутованої ППО шляхом використання придатної моделі послідовності також є включеним у даний винахід. Фахівцю у галузі зрозуміло, що дана модель послідовності не обмежена конкретними дистанціями між двома амінокислотними залишками

вказаної панелі. Кожна з дистанцій між двома сусідами у вищевказаній панелі може, наприклад, змінюватись незалежно від одна від одної на розмір у ± 10 , ± 5 , ± 3 , ± 2 або ± 1 амінокислотне положення без значного впливу на бажану активність.

Більш того, шляхом застосування сайт-спрямованого мутагенезу, зокрема, насичуваного мутагенезу (дивитись, наприклад, Schenk et al., Biospektrum 03/2006, pages 277-279), винахідники даного винаходу ідентифікували та генерували певні амінокислотні заміщення та їх комбінації, які – при введенні в рослину шляхом трансформації та експресії відповідної нуклеїнової кислоти, що кодує мутовану ППО – забезпечують підвищену резистентність або толерантність до ППО-інгібуючого гербіциду вказаній рослині.

Таким чином, у особливо переважному варіанті втілення, варіант або похідна мутованої ППО стосується поліпептиду, що містить SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 46 або SEQ ID NO: 48, який містить одиночне заміщення амінокислоти з наступної Таблиці 3а.

Таблиця 3а

Одиночні амінокислотні заміщення у SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 48

Номер мутації	SEQ ID NO:	Комбінація положень ключових амінокислот	Бажане заміщення
1	2	Arg128	Ala
2	2	Arg128	Leu
3	2	Arg128	Val
4	2	Arg128	Ile
5	2	Arg128	Met
6	2	Arg128	His
7	2	Arg128	Lys
8	2	Arg128	Asp
9	2	Arg128	Glu
10	2	Arg128	Ser
11	2	Arg128	Thr
12	2	Arg128	Asn
13	2	Arg128	Gln
14	2	Arg128	Cys
15	2	Arg128	Gly
16	2	Arg128	Pro
17	2	Arg128	Phe
18	2	Arg128	Tyr
19	2	Arg128	Trp
20	2	Phe420	Ala
21	2	Phe420	Leu
22	2	Phe420	Val
23	2	Phe420	Ile
24	2	Phe420	Met
25	2	Phe420	His
26	2	Phe420	Lys
27	2	Phe420	Asp
28	2	Phe420	Glu
29	2	Phe420	Ser
30	2	Phe420	Thr
31	2	Phe420	Asn
32	2	Phe420	Gln
33	2	Phe420	Cys
34	2	Phe420	Gly
35	2	Phe420	Pro
36	2	Phe420	Phe
37	2	Phe420	Tyr
38	2	Phe420	Trp

Таблиця 3а (продовження)

Номер мутації	SEQ ID NO:	Комбінація положень ключових амінокислот	Бажане заміщення
39	4	Arg128	Ala
40	4	Arg128	Leu
41	4	Arg128	Val
42	4	Arg128	Ile
43	4	Arg128	Met
44	4	Arg128	His
45	4	Arg128	Lys
46	4	Arg128	Asp
47	4	Arg128	Glu
48	4	Arg128	Ser
49	4	Arg128	Thr
50	4	Arg128	Asn
51	4	Arg128	Gln
52	4	Arg128	Cys
53	4	Arg128	Gly
54	4	Arg128	Pro
55	4	Arg128	Phe
56	4	Arg128	Tyr
57	4	Arg128	Trp
58	4	Phe420	Ala
59	4	Phe420	Leu
60	4	Phe420	Val
61	4	Phe420	Ile
62	4	Phe420	Met
63	4	Phe420	His
64	4	Phe420	Lys
65	4	Phe420	Asp
66	4	Phe420	Glu
67	4	Phe420	Ser
68	4	Phe420	Thr
69	4	Phe420	Asn
70	4	Phe420	Gln
71	4	Phe420	Cys
72	4	Phe420	Gly
73	4	Phe420	Pro
74	4	Phe420	Phe
75	4	Phe420	Tyr
76	4	Phe420	Trp
77	24	Arg130	Ala
78	24	Arg130	Leu
79	24	Arg130	Val
80	24	Arg130	Ile
81	24	Arg130	Met
82	24	Arg130	His
83	24	Arg130	Lys
84	24	Arg130	Asp
85	24	Arg130	Glu
86	24	Arg130	Ser
87	24	Arg130	Thr
88	24	Arg130	Asn
89	24	Arg130	Gln
90	24	Arg130	Cys
91	24	Arg130	Gly

Таблиця 3а (продовження)

Номер мутації	SEQ ID NO:	Комбінація положень ключових амінокислот	Бажане заміщення
92	24	Arg130	Pro
93	24	Arg130	Phe
94	24	Arg130	Tyr
95	24	Arg130	Trp
96	24	Phe433	Ala
97	24	Phe433	Leu
98	24	Phe433	Val
99	24	Phe433	Ile
100	24	Phe433	Met
101	24	Phe433	His
102	24	Phe433	Lys
103	24	Phe433	Asp
104	24	Phe433	Glu
105	24	Phe433	Ser
106	24	Phe433	Thr
107	24	Phe433	Asn
108	24	Phe433	Gln
109	24	Phe433	Cys
110	24	Phe433	Gly
111	24	Phe433	Pro
112	24	Phe433	Phe
113	24	Phe433	Tyr
114	24	Phe433	Trp
115	30	Arg130	Ala
116	30	Arg130	Leu
117	30	Arg130	Val
118	30	Arg130	Ile
119	30	Arg130	Met
120	30	Arg130	His
121	30	Arg130	Lys
122	30	Arg130	Asp
123	30	Arg130	Glu
124	30	Arg130	Ser
125	30	Arg130	Thr
126	30	Arg130	Asn
127	30	Arg130	Gln
128	30	Arg130	Cys
129	30	Arg130	Gly
130	30	Arg130	Pro
131	30	Arg130	Phe
132	30	Arg130	Tyr
133	30	Arg130	Trp
134	30	Phe433	Ala
135	30	Phe433	Leu
136	30	Phe433	Val
137	30	Phe433	Ile
138	30	Phe433	Met
139	30	Phe433	His
140	30	Phe433	Lys
141	30	Phe433	Asp
142	30	Phe433	Glu
143	30	Phe433	Ser
144	30	Phe433	Thr

Таблиця 3а (продовження)

Номер мутації	SEQ ID NO:	Комбінація положень ключових амінокислот	Бажане заміщення
145	30	Phe433	Asn
146	30	Phe433	Gln
147	30	Phe433	Cys
148	30	Phe433	Gly
149	30	Phe433	Pro
150	30	Phe433	Phe
151	30	Phe433	Tyr
152	30	Phe433	Trp
153	38	Arg98	Ala
154	38	Arg98	Leu
155	38	Arg98	Val
156	38	Arg98	Ile
157	38	Arg98	Met
158	38	Arg98	His
159	38	Arg98	Lys
160	38	Arg98	Asp
161	38	Arg98	Glu
162	38	Arg98	Ser
163	38	Arg98	Thr
164	38	Arg98	Asn
165	38	Arg98	Gln
166	38	Arg98	Cys
167	38	Arg98	Gly
168	38	Arg98	Pro
169	38	Arg98	Phe
170	38	Arg98	Tyr
171	38	Arg98	Trp
172	38	Phe392	Ala
173	38	Phe392	Leu
174	38	Phe392	Val
175	38	Phe392	Ile
176	38	Phe392	Met
177	38	Phe392	His
178	38	Phe392	Lys
179	38	Phe392	Asp
180	38	Phe392	Glu
181	38	Phe392	Ser
182	38	Phe392	Thr
183	38	Phe392	Asn
184	38	Phe392	Gln
185	38	Phe392	Cys
186	38	Phe392	Gly
187	38	Phe392	Pro
188	38	Phe392	Phe
189	38	Phe392	Tyr
190	38	Phe392	Trp
191	46	Arg139	Ala
192	46	Arg139	Leu
193	46	Arg139	Val
194	46	Arg139	Ile
195	46	Arg139	Met
196	46	Arg139	His
197	46	Arg139	Lys

Таблиця 3а (продовження)

Номер мутації	SEQ ID NO:	Комбінація положень ключових амінокислот	Бажане заміщення
198	46	Arg139	Asp
199	46	Arg139	Glu
200	46	Arg139	Ser
201	46	Arg139	Thr
202	46	Arg139	Asn
203	46	Arg139	Gln
204	46	Arg139	Cys
205	46	Arg139	Gly
206	46	Arg139	Pro
207	46	Arg139	Phe
208	46	Arg139	Tyr
209	46	Arg139	Trp
210	46	Phe465	Ala
211	46	Phe465	Leu
212	46	Phe465	Val
213	46	Phe465	Ile
214	46	Phe465	Met
215	46	Phe465	His
216	46	Phe465	Lys
217	46	Phe465	Asp
218	46	Phe465	Glu
219	46	Phe465	Ser
220	46	Phe465	Thr
221	46	Phe465	Asn
222	46	Phe465	Gln
223	46	Phe465	Cys
224	46	Phe465	Gly
225	46	Phe465	Pro
226	46	Phe465	Phe
227	46	Phe465	Tyr
228	46	Phe465	Trp
229	48	Arg157	Ala
230	48	Arg157	Leu
231	48	Arg157	Val
232	48	Arg157	Ile
233	48	Arg157	Met
234	48	Arg157	His
235	48	Arg157	Lys
236	48	Arg157	Asp
237	48	Arg157	Glu
238	48	Arg157	Ser
239	48	Arg157	Thr
240	48	Arg157	Asn
241	48	Arg157	Gln
242	48	Arg157	Cys
243	48	Arg157	Gly
244	48	Arg157	Pro
245	48	Arg157	Phe
246	48	Arg157	Tyr
247	48	Arg157	Trp
248	48	Tyr439	Ala
249	48	Tyr439	Leu
250	48	Tyr439	Val

Таблиця 3а (продовження)

Номер мутації	SEQ ID NO:	Комбінація положень ключових амінокислот	Бажане заміщення
251	48	Tyr439	Ile
252	48	Tyr439	Met
253	48	Tyr439	His
254	48	Tyr439	Lys
255	48	Tyr439	Asp
256	48	Tyr439	Glu
257	48	Tyr439	Ser
258	48	Tyr439	Thr
259	48	Tyr439	Asn
260	48	Tyr439	Gln
261	48	Tyr439	Cys
262	48	Tyr439	Gly
263	48	Tyr439	Pro
264	48	Tyr439	Phe
265	48	Tyr439	Tyr
266	48	Tyr439	Trp

У наступному особливо переважному варіанті втілення, варіант або похідна мутованої ППО стосується поліпептиду, що містить SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO:4, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 48, що містить комбінацію амінокислотних заміщень, вибраних з наступної Таблиці 3b.

Таблиця 3b

SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO:4, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 48 (комбіновані амінокислотні заміщення)

Номер комбінації	SEQ ID NO:	Комбінація ключової амінокислоти	Бажане заміщення
267	2 & 4	Arg128	Leu
		Phe420	Ala
268	2 & 4	Arg128	Leu
		Phe420	Leu
269	2 & 4	Arg128	Leu
		Phe420	Val
270	2 & 4	Arg128	Leu
		Phe420	Ile
271	2 & 4	Arg128	Leu
		Phe420	Met
272	2 & 4	Arg128	Ala
		Phe420	Ala
273	2 & 4	Arg128	Ala
		Phe420	Leu
274	2 & 4	Arg128	Ala
		Phe420	Val
275	2 & 4	Arg128	Ala
		Phe420	Ile
276	2 & 4	Arg128	Ala
		Phe420	Met
277	2 & 4	Arg128	Val
		Phe420	Ala
278	2 & 4	Arg128	Val
		Phe420	Leu

Таблиця 3b (продовження)

Номер комбінації	SEQ ID NO:	Комбінація ключової амінокислоти	Бажане заміщення
279	2 & 4	Arg128	Val
		Phe420	Val
280	2 & 4	Arg128	Val
		Phe420	Ile
281	2 & 4	Arg128	Val
		Phe420	Met
282	2 & 4	Arg128	Ile
		Phe420	Ala
283	2 & 4	Arg128	Ile
		Phe420	Leu
284	2 & 4	Arg128	Ile
		Phe420	Val
285	2 & 4	Arg128	Ile
		Phe420	Ile
286	2 & 4	Arg128	Ile
		Phe420	Met
287	2 & 4	Arg128	Met
		Phe420	Ala
288	2 & 4	Arg128	Met
		Phe420	Leu
289	2 & 4	Arg128	Met
		Phe420	Val
290	2 & 4	Arg128	Met
		Phe420	Ile
291	2 & 4	Arg128	Met
		Phe420	Met
292	2 & 4	Arg128	Tyr
		Phe420	Ala
293	2 & 4	Arg128	Tyr
		Phe420	Leu
294	2 & 4	Arg128	Tyr
		Phe420	Val
295	2 & 4	Arg128	Tyr
		Phe420	Ile
296	2 & 4	Arg128	Tyr
		Phe420	Met
297	2 & 4	Arg128	Gly
		Phe420	Ala
298	2 & 4	Arg128	Gly
		Phe420	Leu
299	2 & 4	Arg128	Gly
		Phe420	Val
300	2 & 4	Arg128	Gly
		Phe420	Ile
301	2 & 4	Arg128	Gly
		Phe420	Met
302	2 & 4	Arg128	Asn
		Phe420	Ala
303	2 & 4	Arg128	Asn
		Phe420	Leu
304	2 & 4	Arg128	Asn
		Phe420	Val

Таблиця 3b (продовження)

Номер комбінації	SEQ ID NO:	Комбінація ключової амінокислоти	Бажане заміщення
305	2 & 4	Arg128	Asn
		Phe420	Ile
306	2 & 4	Arg128	Asn
		Phe420	Met
307	2 & 4	Arg128	Cys
		Phe420	Ala
308	2 & 4	Arg128	Cys
		Phe420	Leu
309	2 & 4	Arg128	Cys
		Phe420	Val
310	2 & 4	Arg128	Cys
		Phe420	Ile
311	2 & 4	Arg128	Cys
		Phe420	Met
312	2 & 4	Arg128	Phe
		Phe420	Ala
313	2 & 4	Arg128	Phe
		Phe420	Leu
314	2 & 4	Arg128	Phe
		Phe420	Val
315	2 & 4	Arg128	Phe
		Phe420	Ile
316	2 & 4	Arg128	Phe
		Phe420	Met
317	2 & 4	Arg128	Ser
		Phe420	Ala
318	2 & 4	Arg128	Ser
		Phe420	Leu
319	2 & 4	Arg128	Ser
		Phe420	Val
320	2 & 4	Arg128	Ser
		Phe420	Ile
321	2 & 4	Arg128	Ser
		Phe420	Met
322	2 & 4	Arg128	Thr
		Phe420	Ala
323	2 & 4	Arg128	Thr
		Phe420	Leu
324	2 & 4	Arg128	Thr
		Phe420	Val
325	2 & 4	Arg128	Thr
		Phe420	Ile
326	2 & 4	Arg128	Thr
		Phe420	Met
327	2 & 4	Arg128	Gln
		Phe420	Ala
328	2 & 4	Arg128	Gln
		Phe420	Leu
329	2 & 4	Arg128	Gln
		Phe420	Val
330	2 & 4	Arg128	Gln
		Phe420	Ile

Таблиця 3b (продовження)

Номер комбінації	SEQ ID NO:	Комбінація ключової амінокислоти	Бажане заміщення
331	2 & 4	Arg128	Gln
		Phe420	Met
332	2 & 4	Arg128	His
		Phe420	Ala
333	2 & 4	Arg128	His
		Phe420	Leu
334	2 & 4	Arg128	His
		Phe420	Val
335	2 & 4	Arg128	His
		Phe420	Ile
336	2 & 4	Arg128	His
		Phe420	Met
337	24	Arg130	Leu
		Phe433	Ala
338	24	Arg130	Leu
		Phe433	Leu
339	24	Arg130	Leu
		Phe433	Val
340	24	Arg130	Leu
		Phe433	Ile
341	24	Arg130	Leu
		Phe433	Met
342	24	Arg130	Ala
		Phe433	Ala
343	24	Arg130	Ala
		Phe433	Leu
344	24	Arg130	Ala
		Phe433	Val
345	24	Arg130	Ala
		Phe433	Ile
346	24	Arg130	Ala
		Phe433	Met
347	24	Arg130	Val
		Phe433	Ala
348	24	Arg130	Val
		Phe433	Leu
349	24	Arg130	Val
		Phe433	Val
350	24	Arg130	Val
		Phe433	Ile
351	24	Arg130	Val
		Phe433	Met
352	24	Arg130	Ile
		Phe433	Ala
353	24	Arg130	Ile
		Phe433	Leu
354	24	Arg130	Ile
		Phe433	Val
355	24	Arg130	Ile
		Phe433	Ile
356	24	Arg130	Ile
		Phe433	Met

Таблиця 3b (продовження)

Номер комбінації	SEQ ID NO:	Комбінація ключової амінокислоти	Бажане заміщення
357	24	Arg130	Met
		Phe433	Ala
358	24	Arg130	Met
		Phe433	Leu
359	24	Arg130	Met
		Phe433	Val
360	24	Arg130	Met
		Phe433	Ile
361	24	Arg130	Met
		Phe433	Met
362	24	Arg130	Tyr
		Phe433	Ala
363	24	Arg130	Tyr
		Phe433	Leu
364	24	Arg130	Tyr
		Phe433	Val
365	24	Arg130	Tyr
		Phe433	Ile
366	24	Arg130	Tyr
		Phe433	Met
367	24	Arg130	Gly
		Phe433	Ala
368	24	Arg130	Gly
		Phe433	Leu
369	24	Arg130	Gly
		Phe433	Val
370	24	Arg130	Gly
		Phe433	Ile
371	24	Arg130	Gly
		Phe433	Met
372	24	Arg130	Asn
		Phe433	Ala
373	24	Arg130	Asn
		Phe433	Leu
374	24	Arg130	Asn
		Phe433	Val
375	24	Arg130	Asn
		Phe433	Ile
376	24	Arg130	Asn
		Phe433	Met
377	24	Arg130	Cys
		Phe433	Ala
378	24	Arg130	Cys
		Phe433	Leu
379	24	Arg130	Cys
		Phe433	Val
380	24	Arg130	Cys
		Phe433	Ile
381	24	Arg130	Cys
		Phe433	Met
382	24	Arg130	Phe
		Phe433	Ala

Таблиця 3b (продовження)

Номер комбінації	SEQ ID NO:	Комбінація ключової амінокислоти	Бажане заміщення
383	24	Arg130	Phe
		Phe433	Leu
384	24	Arg130	Phe
		Phe433	Val
385	24	Arg130	Phe
		Phe433	Ile
386	24	Arg130	Phe
		Phe433	Met
387	24	Arg130	Ser
		Phe433	Ala
388	24	Arg130	Ser
		Phe433	Leu
389	24	Arg130	Ser
		Phe433	Val
390	24	Arg130	Ser
		Phe433	Ile
391	24	Arg130	Ser
		Phe433	Met
392	24	Arg130	Thr
		Phe433	Ala
393	24	Arg130	Thr
		Phe433	Leu
394	24	Arg130	Thr
		Phe433	Val
395	24	Arg130	Thr
		Phe433	Ile
396	24	Arg130	Thr
		Phe433	Met
397	24	Arg130	Gln
		Phe433	Ala
398	24	Arg130	Gln
		Phe433	Leu
399	24	Arg130	Gln
		Phe433	Val
400	24	Arg130	Gln
		Phe433	Ile
401	24	Arg130	Gln
		Phe433	Met
402	24	Arg130	His
		Phe433	Ala
403	24	Arg130	His
		Phe433	Leu
404	24	Arg130	His
		Phe433	Val
405	24	Arg130	His
		Phe433	Ile
406	24	Arg130	His
		Phe433	Met
407	30	Arg130	Leu
		Phe433	Ala
408	30	Arg130	Leu
		Phe433	Leu

Таблиця 3b (продовження)

Номер комбінації	SEQ ID NO:	Комбінація ключової амінокислоти	Бажане заміщення
409	30	Arg130	Leu
		Phe433	Val
410	30	Arg130	Leu
		Phe433	Ile
411	30	Arg130	Leu
		Phe433	Met
412	30	Arg130	Ala
		Phe433	Ala
413	30	Arg130	Ala
		Phe433	Leu
414	30	Arg130	Ala
		Phe433	Val
415	30	Arg130	Ala
		Phe433	Ile
416	30	Arg130	Ala
		Phe433	Met
417	30	Arg130	Val
		Phe433	Ala
418	30	Arg130	Val
		Phe433	Leu
419	30	Arg130	Val
		Phe433	Val
420	30	Arg130	Val
		Phe433	Ile
421	30	Arg130	Val
		Phe433	Met
422	30	Arg130	Ile
		Phe433	Ala
423	30	Arg130	Ile
		Phe433	Leu
424	30	Arg130	Ile
		Phe433	Val
425	30	Arg130	Ile
		Phe433	Ile
426	30	Arg130	Ile
		Phe433	Met
427	30	Arg130	Met
		Phe433	Ala
428	30	Arg130	Met
		Phe433	Leu
429	30	Arg130	Met
		Phe433	Val
430	30	Arg130	Met
		Phe433	Ile
431	30	Arg130	Met
		Phe433	Met
432	30	Arg130	Tyr
		Phe433	Ala
433	30	Arg130	Tyr
		Phe433	Leu
434	30	Arg130	Tyr
		Phe433	Val

Таблиця 3b (продовження)

Номер комбінації	SEQ ID NO:	Комбінація ключової амінокислоти	Бажане заміщення
435	30	Arg130	Tyr
		Phe433	Ile
436	30	Arg130	Tyr
		Phe433	Met
437	30	Arg130	Gly
		Phe433	Ala
438	30	Arg130	Gly
		Phe433	Leu
439	30	Arg130	Gly
		Phe433	Val
440	30	Arg130	Gly
		Phe433	Ile
441	30	Arg130	Gly
		Phe433	Met
442	30	Arg130	Asn
		Phe433	Ala
443	30	Arg130	Asn
		Phe433	Leu
444	30	Arg130	Asn
		Phe433	Val
445	30	Arg130	Asn
		Phe433	Ile
446	30	Arg130	Asn
		Phe433	Met
447	30	Arg130	Cys
		Phe433	Ala
448	30	Arg130	Cys
		Phe433	Leu
449	30	Arg130	Cys
		Phe433	Val
450	30	Arg130	Cys
		Phe433	Ile
451	30	Arg130	Cys
		Phe433	Met
452	30	Arg130	Phe
		Phe433	Ala
453	30	Arg130	Phe
		Phe433	Leu
454	30	Arg130	Phe
		Phe433	Val
455	30	Arg130	Phe
		Phe433	Ile
456	30	Arg130	Phe
		Phe433	Met
457	30	Arg130	Ser
		Phe433	Ala
458	30	Arg130	Ser
		Phe433	Leu
459	30	Arg130	Ser
		Phe433	Val
460	30	Arg130	Ser
		Phe433	Ile

Таблиця 3b (продовження)

Номер комбінації	SEQ ID NO:	Комбінація ключової амінокислоти	Бажане заміщення
461	30	Arg130	Ser
		Phe433	Met
462	30	Arg130	Thr
		Phe433	Ala
463	30	Arg130	Thr
		Phe433	Leu
464	30	Arg130	Thr
		Phe433	Val
465	30	Arg130	Thr
		Phe433	Ile
466	30	Arg130	Thr
		Phe433	Met
467	30	Arg130	Gln
		Phe433	Ala
468	30	Arg130	Gln
		Phe433	Leu
469	30	Arg130	Gln
		Phe433	Val
470	30	Arg130	Gln
		Phe433	Ile
471	30	Arg130	Gln
		Phe433	Met
472	30	Arg130	His
		Phe433	Ala
473	30	Arg130	His
		Phe433	Leu
474	30	Arg130	His
		Phe433	Val
475	30	Arg130	His
		Phe433	Ile
476	30	Arg130	His
		Phe433	Met
477	38	Arg98	Leu
		Phe392	Ala
478	38	Arg98	Leu
		Phe392	Leu
479	38	Arg98	Leu
		Phe392	Val
480	38	Arg98	Leu
		Phe392	Ile
481	38	Arg98	Leu
		Phe392	Met
482	38	Arg98	Ala
		Phe392	Ala
483	38	Arg98	Ala
		Phe392	Leu
484	38	Arg98	Ala
		Phe392	Val
485	38	Arg98	Ala
		Phe392	Ile
486	38	Arg98	Ala
		Phe392	Met

Таблиця 3b (продовження)

Номер комбінації	SEQ ID NO:	Комбінація ключової амінокислоти	Бажане заміщення
487	38	Arg98	Val
		Phe392	Ala
488	38	Arg98	Val
		Phe392	Leu
489	38	Arg98	Val
		Phe392	Val
490	38	Arg98	Val
		Phe392	Ile
491	38	Arg98	Val
		Phe392	Met
492	38	Arg98	Ile
		Phe392	Ala
493	38	Arg98	Ile
		Phe392	Leu
494	38	Arg98	Ile
		Phe392	Val
495	38	Arg98	Ile
		Phe392	Ile
496	38	Arg98	Ile
		Phe392	Met
497	38	Arg98	Met
		Phe392	Ala
498	38	Arg98	Met
		Phe392	Leu
499	38	Arg98	Met
		Phe392	Val
500	38	Arg98	Met
		Phe392	Ile
501	38	Arg98	Met
		Phe392	Met
502	38	Arg98	Tyr
		Phe392	Ala
503	38	Arg98	Tyr
		Phe392	Leu
504	38	Arg98	Tyr
		Phe392	Val
505	38	Arg98	Tyr
		Phe392	Ile
506	38	Arg98	Tyr
		Phe392	Met
507	38	Arg98	Gly
		Phe392	Ala
508	38	Arg98	Gly
		Phe392	Leu
509	38	Arg98	Gly
		Phe392	Val
510	38	Arg98	Gly
		Phe392	Ile
511	38	Arg98	Gly
		Phe392	Met
512	38	Arg98	Asn
		Phe392	Ala

Таблиця 3b (продовження)

Номер комбінації	SEQ ID NO:	Комбінація ключової амінокислоти	Бажане заміщення
513	38	Arg98	Asn
		Phe392	Leu
514	38	Arg98	Asn
		Phe392	Val
515	38	Arg98	Asn
		Phe392	Ile
516	38	Arg98	Asn
		Phe392	Met
517	38	Arg98	Cys
		Phe392	Ala
518	38	Arg98	Cys
		Phe392	Leu
519	38	Arg98	Cys
		Phe392	Val
520	38	Arg98	Cys
		Phe392	Ile
521	38	Arg98	Cys
		Phe392	Met
522	38	Arg98	Phe
		Phe392	Ala
523	38	Arg98	Phe
		Phe392	Leu
524	38	Arg98	Phe
		Phe392	Val
525	38	Arg98	Phe
		Phe392	Ile
526	38	Arg98	Phe
		Phe392	Met
527	38	Arg98	Ser
		Phe392	Ala
528	38	Arg98	Ser
		Phe392	Leu
529	38	Arg98	Ser
		Phe392	Val
530	38	Arg98	Ser
		Phe392	Ile
531	38	Arg98	Ser
		Phe392	Met
532	38	Arg98	Thr
		Phe392	Ala
533	38	Arg98	Thr
		Phe392	Leu
534	38	Arg98	Thr
		Phe392	Val
535	38	Arg98	Thr
		Phe392	Ile
536	38	Arg98	Thr
		Phe392	Met
537	38	Arg98	Gln
		Phe392	Ala
538	38	Arg98	Gln
		Phe392	Leu

Таблиця 3b (продовження)

Номер комбінації	SEQ ID NO:	Комбінація ключової амінокислоти	Бажане заміщення
539	38	Arg98	Gln
		Phe392	Val
540	38	Arg98	Gln
		Phe392	Ile
541	38	Arg98	Gln
		Phe392	Met
542	38	Arg98	His
		Phe392	Ala
543	38	Arg98	His
		Phe392	Leu
544	38	Arg98	His
		Phe392	Val
545	38	Arg98	His
		Phe392	Ile
546	38	Arg98	His
		Phe392	Met
547	46	Arg139	Leu
		Phe465	Ala
548	46	Arg139	Leu
		Phe465	Leu
549	46	Arg139	Leu
		Phe465	Val
550	46	Arg139	Leu
		Phe465	Ile
551	46	Arg139	Leu
		Phe465	Met
552	46	Arg139	Ala
		Phe465	Ala
553	46	Arg139	Ala
		Phe465	Leu
554	46	Arg139	Ala
		Phe465	Val
555	46	Arg139	Ala
		Phe465	Ile
556	46	Arg139	Ala
		Phe465	Met
557	46	Arg139	Val
		Phe465	Ala
558	46	Arg139	Val
		Phe465	Leu
559	46	Arg139	Val
		Phe465	Val
560	46	Arg139	Val
		Phe465	Ile
561	46	Arg139	Val
		Phe465	Met
562	46	Arg139	Ile
		Phe465	Ala
563	46	Arg139	Ile
		Phe465	Leu
564	46	Arg139	Ile
		Phe465	Val

Таблиця 3b (продовження)

Номер комбінації	SEQ ID NO:	Комбінація ключової амінокислоти	Бажане заміщення
565	46	Arg139	Ile
		Phe465	Ile
566	46	Arg139	Ile
		Phe465	Met
567	46	Arg139	Met
		Phe465	Ala
568	46	Arg139	Met
		Phe465	Leu
569	46	Arg139	Met
		Phe465	Val
570	46	Arg139	Met
		Phe465	Ile
571	46	Arg139	Met
		Phe465	Met
572	46	Arg139	Tyr
		Phe465	Ala
573	46	Arg139	Tyr
		Phe465	Leu
574	46	Arg139	Tyr
		Phe465	Val
575	46	Arg139	Tyr
		Phe465	Ile
576	46	Arg139	Tyr
		Phe465	Met
577	46	Arg139	Gly
		Phe465	Ala
578	46	Arg139	Gly
		Phe465	Leu
579	46	Arg139	Gly
		Phe465	Val
580	46	Arg139	Gly
		Phe465	Ile
581	46	Arg139	Gly
		Phe465	Met
582	46	Arg139	Asn
		Phe465	Ala
583	46	Arg139	Asn
		Phe465	Leu
584	46	Arg139	Asn
		Phe465	Val
585	46	Arg139	Asn
		Phe465	Ile
586	46	Arg139	Asn
		Phe465	Met
587	46	Arg139	Cys
		Phe465	Ala
588	46	Arg139	Cys
		Phe465	Leu
589	46	Arg139	Cys
		Phe465	Val
590	46	Arg139	Cys
		Phe465	Ile

Таблиця 3b (продовження)

Номер комбінації	SEQ ID NO:	Комбінація ключової амінокислоти	Бажане заміщення
591	46	Arg139	Cys
		Phe465	Met
592	46	Arg139	Phe
		Phe465	Ala
593	46	Arg139	Phe
		Phe465	Leu
594	46	Arg139	Phe
		Phe465	Val
595	46	Arg139	Phe
		Phe465	Ile
596	46	Arg139	Phe
		Phe465	Met
597	46	Arg139	Ser
		Phe465	Ala
598	46	Arg139	Ser
		Phe465	Leu
599	46	Arg139	Ser
		Phe465	Val
600	46	Arg139	Ser
		Phe465	Ile
601	46	Arg139	Ser
		Phe465	Met
602	46	Arg139	Thr
		Phe465	Ala
603	46	Arg139	Thr
		Phe465	Leu
604	46	Arg139	Thr
		Phe465	Val
605	46	Arg139	Thr
		Phe465	Ile
606	46	Arg139	Thr
		Phe465	Met
607	46	Arg139	Gln
		Phe465	Ala
608	46	Arg139	Gln
		Phe465	Leu
609	46	Arg139	Gln
		Phe465	Val
610	46	Arg139	Gln
		Phe465	Ile
611	46	Arg139	Gln
		Phe465	Met
612	46	Arg139	His
		Phe465	Ala
613	46	Arg139	His
		Phe465	Leu
614	46	Arg139	His
		Phe465	Val
615	46	Arg139	His
		Phe465	Ile
616	46	Arg139	His
		Phe465	Met

Таблиця 3b (продовження)

Номер комбінації	SEQ ID NO:	Комбінація ключової амінокислоти	Бажане заміщення
617	48	Arg157	Leu
		Tyr439	Ala
618	48	Arg157	Leu
		Tyr439	Leu
619	48	Arg157	Leu
		Tyr439	Val
620	48	Arg157	Leu
		Tyr439	Ile
621	48	Arg157	Leu
		Tyr439	Met
622	48	Arg157	Ala
		Tyr439	Ala
623	48	Arg157	Ala
		Tyr439	Leu
624	48	Arg157	Ala
		Tyr439	Val
625	48	Arg157	Ala
		Tyr439	Ile
626	48	Arg157	Ala
		Tyr439	Met
627	48	Arg157	Val
		Tyr439	Ala
628	48	Arg157	Val
		Tyr439	Leu
629	48	Arg157	Val
		Tyr439	Val
630	48	Arg157	Val
		Tyr439	Ile
631	48	Arg157	Val
		Tyr439	Met
632	48	Arg157	Ile
		Tyr439	Ala
633	48	Arg157	Ile
		Tyr439	Leu
634	48	Arg157	Ile
		Tyr439	Val
635	48	Arg157	Ile
		Tyr439	Ile
636	48	Arg157	Ile
		Tyr439	Met
637	48	Arg157	Met
		Tyr439	Ala
638	48	Arg157	Met
		Tyr439	Leu
639	48	Arg157	Met
		Tyr439	Val
640	48	Arg157	Met
		Tyr439	Ile
641	48	Arg157	Met
		Tyr439	Met
642	48	Arg157	Tyr
		Tyr439	Ala

Таблиця 3b (продовження)

Номер комбінації	SEQ ID NO:	Комбінація ключової амінокислоти	Бажане заміщення
643	48	Arg157	Tyr
		Tyr439	Leu
644	48	Arg157	Tyr
		Tyr439	Val
645	48	Arg157	Tyr
		Tyr439	Ile
646	48	Arg157	Tyr
		Tyr439	Met
647	48	Arg157	Gly
		Tyr439	Ala
648	48	Arg157	Gly
		Tyr439	Leu
649	48	Arg157	Gly
		Tyr439	Val
650	48	Arg157	Gly
		Tyr439	Ile
651	48	Arg157	Gly
		Tyr439	Met
652	48	Arg157	Asn
		Tyr439	Ala
653	48	Arg157	Asn
		Tyr439	Leu
654	48	Arg157	Asn
		Tyr439	Val
655	48	Arg157	Asn
		Tyr439	Ile
656	48	Arg157	Asn
		Tyr439	Met
657	48	Arg157	Cys
		Tyr439	Ala
658	48	Arg157	Cys
		Tyr439	Leu
659	48	Arg157	Cys
		Tyr439	Val
660	48	Arg157	Cys
		Tyr439	Ile
661	48	Arg157	Cys
		Tyr439	Met
662	48	Arg157	Phe
		Tyr439	Ala
663	48	Arg157	Phe
		Tyr439	Leu
664	48	Arg157	Phe
		Tyr439	Val
665	48	Arg157	Phe
		Tyr439	Ile
666	48	Arg157	Phe
		Tyr439	Met
667	48	Arg157	Ser
		Tyr439	Ala
668	48	Arg157	Ser
		Tyr439	Leu

Таблиця 3b (продовження)

Номер комбінації	SEQ ID NO:	Комбінація ключової амінокислоти	Бажане заміщення
669	48	Arg157	Ser
		Tyr439	Val
670	48	Arg157	Ser
		Tyr439	Ile
671	48	Arg157	Ser
		Tyr439	Met
672	48	Arg157	Thr
		Tyr439	Ala
673	48	Arg157	Thr
		Tyr439	Leu
674	48	Arg157	Thr
		Tyr439	Val
675	48	Arg157	Thr
		Tyr439	Ile
676	48	Arg157	Thr
		Tyr439	Met
677	48	Arg157	Gln
		Tyr439	Ala
678	48	Arg157	Gln
		Tyr439	Leu
679	48	Arg157	Gln
		Tyr439	Val
680	48	Arg157	Gln
		Tyr439	Ile
681	48	Arg157	Gln
		Tyr439	Met
682	48	Arg157	His
		Tyr439	Ala
683	48	Arg157	His
		Tyr439	Leu
684	48	Arg157	His
		Tyr439	Val
685	48	Arg157	His
		Tyr439	Ile
686	48	Arg157	His
		Tyr439	Met

Потрібно розуміти, що будь-яка амінокислота, окрім згаданих у таблицях 3 вище, може бути використана як замісник. Аналізи для тестування функціональності таких мутантів наявні у галузі, та відповідно, описані у Прикладах даного винаходу.

У переважному варіанті втілення, мутована ППО стосується поліпептиду із SEQ ID NO: 2 або SEQ ID NO: 4, де амінокислотна послідовність відрізняється від амінокислотної послідовності SEQ ID NO: 2 або SEQ ID NO: 4 у положенні 128, та/або положенні 420.

Приклади різниць у цих амінокислотних положеннях включають, проте не обмежуються, одним або більше з наступних:

амінокислота у або, що відповідає положенню 128 SEQ ID NO:2, не означає аргінін;

амінокислота у або, що відповідає положенню 420 SEQ ID NO:2, не означає Фенілаланін,

У деяких варіантах втілення, мутований фермент ППО із SEQ ID NO: 2 або SEQ ID NO: 4 містить одну або більше з наступних:

амінокислота у або, що відповідає положенню 128 SEQ ID NO:2, означає Leu, Ala, Val, or Ile;

амінокислота у або, що відповідає положенню 420 SEQ ID NO:2, означає Val, Met, Ala, Ile або Leu;

У іншому переважному варіанті втілення, мутована ППО містить послідовність SEQ ID NO: 2, її варіант, похідну, ортолог, паралог або гомолог, де:

У іншому переважному варіанті втілення, мутована ППО містить послідовність SEQ ID NO: 48, її варіант, похідну, ортолог, паралог або гомолог, де: амінокислота у або, що відповідає положенню 157 означає Gln, та амінокислота у або, що відповідає положенню 439 означає Val.

5 У іншому переважному варіанті втілення, мутована ППО містить послідовність SEQ ID NO: 48, її варіант, похідну, ортолог, паралог або гомолог, де: амінокислота у або, що відповідає положенню 157 означає Gln, та амінокислота у або, що відповідає положенню 439 означає Ile.

10 У іншому переважному варіанті втілення, мутована ППО містить послідовність SEQ ID NO: 48, її варіант, похідну, ортолог, паралог або гомолог, де: амінокислота у або, що відповідає положенню 157 означає Gln, та амінокислота у або, що відповідає положенню 439 означає Met.

15 У іншому переважному варіанті втілення, мутована ППО містить послідовність SEQ ID NO: 48, її варіант, похідну, ортолог, паралог або гомолог, де: амінокислота у або, що відповідає положенню 157 означає His, та амінокислота у або, що відповідає положенню 439 означає Ala.

20 У іншому переважному варіанті втілення, мутована ППО містить послідовність SEQ ID NO: 48, її варіант, похідну, ортолог, паралог або гомолог, де: амінокислота у або, що відповідає положенню 157 означає His, та амінокислота у або, що відповідає положенню 439 означає Leu.

У іншому переважному варіанті втілення, мутована ППО містить послідовність SEQ ID NO: 48, її варіант, похідну, ортолог, паралог або гомолог, де: амінокислота у або, що відповідає положенню 157 означає His, та амінокислота у або, що відповідає положенню 439 означає Val.

25 У іншому переважному варіанті втілення, мутована ППО містить послідовність SEQ ID NO: 48, її варіант, похідну, ортолог, паралог або гомолог, де: амінокислота у або, що відповідає положенню 157 означає His, та амінокислота у або, що відповідає положенню 439 означає Ile.

30 У іншому переважному варіанті втілення, мутована ППО містить послідовність SEQ ID NO: 48, її варіант, похідну, ортолог, паралог або гомолог, де: амінокислота у або, що відповідає положенню 157 означає His, та амінокислота у або, що відповідає положенню 439 означає Met.

35 Фахівцю у галузі зрозуміло як ідентифікувати консервативні ділянки та мотиви, що поділяють гомологи, ортологи та паралоги, які кодуються SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45 або 47, як ті, що показані у Таблиці 1. Після ідентифікації таких консервативних ділянок, які можуть представляти придатні мотиви зв'язування, амінокислоти, що відповідають амінокислотам, наведеним у Таблицях 3a та 3b, можуть бути заміщені будь-якою іншою амінокислотою, наприклад, консервативними амінокислотами, показаними у Таблиці 2, переважно амінокислотами з Таблиць 3a та 3b.

40 Таблиця 3c показує бажані сайти мутації, що поділяються гомлогами, ортологами та паралогами, наведеними у Таблиці 1.

Таблица 3с

SEQ ID NO	Pos 1	Pos 2	Pos 3	Pos 4	Pos 5	Pos 6	Pos 7	Pos 8	Pos 9	Pos 10	Pos 11	Pos 12	Pos 13	Pos 14	Pos 15
2	N126	K127	R128	Y129	I130	A131	S149	I151	A154	P164	K169	E182	S183	E189	F196
4	N126	K127	R128	Y129	I130	A131	S149	I151	A154	P164	K169	E182	S183	E189	F196
6	N126	K127	R128	Y129	I130	A131	S149	I151	A154	P164	K169	E182	S183	E189	F196
8	N126	K127	R128	Y129	I130	A131	S149	I151	A154	P164	K169	E182	S183	E189	F196
10	K145	K146	R147	Y148	I149	V150	S168	V170	T173	P183	K188	E200	S201	Q207	V214
12	A153	P154	R155	F156	V157	L158	F176	L178	I181	F189	-	E203	S204	R210	V217
14	A160	P161	R162	F163	V164	L165	F183	L185	F188	F196	-	E210	S211	R217	V224
16	S167	P168	R169	F170	V171	L172	F190	L192	F195	L203	-	E217	S218	R224	V231
18	N126	K126	R127	Y128	I129	A130	S148	I150	A153	P163	K168	E181	S182	E186	F195
20	A162	P163	R164	F165	V166	L167	F185	L187	I190	F198	-	E212	S213	R219	V226
22	A140	P141	R142	F143	V144	L145	F163	L165	I168	L176	-	E190	S191	R187	V204
24	H128	K129	R130	Y131	I132	V133	S151	V153	T156	P168	T174	E187	S188	E194	V201
26	A155	P166	R167	F168	V169	W170	F187	L189	I192	L200	-	E215	S216	R222	V229
28	L128	P129	R130	W131	I132	L133	-	L152	T155	V165	-	E180	S181	R187	I194
30	H128	K129	R130	Y131	I132	V133	S151	V153	T156	P168	T174	E187	S188	E194	V201
32	A141	P142	R143	F144	V145	L146	F164	L166	I169	L177	-	E191	S192	R196	V205
34	N96	K97	R98	Y99	I100	A101	S119	I121	A124	P134	K139	E152	S153	E159	F166
36	A142	P143	R144	F145	V146	L147	F165	L167	I170	F178	-	E192	S193	R199	V206
38	N96	K97	R98	Y99	I100	A101	S119	F121	T124	P134	N139	E150	S151	Q157	V164
40	H96	K97	R98	Y99	I100	V101	S119	L121	A124	P134	R139	E152	S153	E159	V166
42	A28	P29	R30	F31	V32	L33	F51	L53	I56	F64	-	E78	S79	R85	V92
44	H93	K94	R95	Y96	I97	V98	S116	V118	T121	P131	R139	E152	S153	C158	V165
46	H137	K138	R139	Y140	I141	V142	S160	V162	T165	P175	R183	E196	S197	E203	V210
48	A155	P156	R157	F158	V159	L160	F178	L180	F183	L191	-	E205	S206	R212	V219

Таблица 3с продолжения

SEQ ID NO	Pos 16	Pos 17	Pos 18	Pos 19	Pos 20	Pos 21	Pos 22	Pos 23	Pos 24	Pos 25	Pos 26	Pos 27	Pos 28	Pos 29	Pos 30
2	D202	C209	G210	G211	L216	M218	H219	H220	N227	S234	S246	K259	P260	R261	L295
4	D202	C209	G210	G211	L216	M218	H219	H220	N227	S234	S246	K260	P260	R261	L295
6	D202	C209	G210	-	L215	M217	Y218	H219	N226	S233	S245	K258	P260	R260	L294
8	D202	C209	G210	-	L215	M217	H218	H219	N226	S233	S245	K258	P259	R260	L294
10	D220	S227	A228	A229	L234	M236	K237	H238	N245	S248	A261	K276	K277	G278	L312
12	E223	Y230	A231	G232	L237	M239	K240	A241	K248	G254	E266	K281	P262	K283	S316
14	E230	Y237	A238	G239	L244	M245	K247	A248	N256	G261	D273	K288	P286	K290	T323
16	E237	Y244	A245	G246	L251	M253	K254	A255	V262	G268	E280	K295	P296	K297	S330
18	D201	S208	G209	G210	L215	M217	R218	H219	N226	S233	S245	K259	P260	R261	L295
20	E232	Y239	A240	G241	L246	M248	K249	A250	K257	G263	E275	T290	P291	K292	S325
22	E210	Y217	A218	G219	L224	M226	K227	A228	R235	G241	E253	K268	P269	K270	T303
24	D207	S214	A215	G216	L221	I223	R224	H225	N232	S239	A251	R286	R287	N288	L302
26	E236	Y242	A243	G244	L249	M251	K252	A253	I260	G266	E276	K294	P295	K296	V329
28	E200	Y207	A208	G209	L214	M216	R217	A218	E225	G232	N244	S271	S272	S273	V306
30	D207	S214	A215	G216	L221	I223	C224	H225	N232	S239	A251	R286	R287	N288	L302
32	E211	Y218	A219	G220	L225	M227	K228	A229	R236	G242	E254	T269	P270	K271	T304
34	D172	C179	G180	G181	L186	M188	H189	H190	N197	S204	S216	K230	P231	R232	L266
36	E212	Y219	A220	G221	L226	M228	K229	A230	K237	G243	E255	K270	P271	Q272	S306
38	D170	C177	G178	G179	L184	M186	H187	H188	N195	S202	P214	K229	K230	R231	L265
40	D172	S179	A180	A181	L186	M188	R189	H190	N197	S204	A218	N231	K232	H233	L267
42	E96	Y105	A106	G107	L112	M114	K115	A116	R123	G129	E141	K166	P157	K168	S191
44	D171	S178	G179	G180	L185	I187	R188	H189	N196	S203	T215	G230	R231	N232	L268
46	D216	S223	G224	G225	L230	I232	R233	H234	N241	S248	T260	G275	R276	N277	L311
48	E225	Y232	A233	G234	L239	M241	K242	A243	T250	G256	E288	K283	P284	K285	S318

Таблиця 3с продовження

SEQ ID NO	Pos 31	Pos 32	Pos 33	Pos 34	Pos 35	Pos 36	Pos 37	Pos 38	Pos 39	Pos 40	Pos 41	Pos 42	Pos 43	Pos 44	Pos 45
2	Q301	G308	S324	R336	G346	F349	L351	D352	T358	L384	L397	F417	T418	T419	F420
4	Q301	G308	S324	R335	G346	F349	L351	D352	T358	L384	L397	F417	T418	T419	F420
6	Q300	G307	S323	R334	G345	F348	L350	D351	T357	L383	L396	F416	T417	T418	F419
8	Q300	G307	S323	R334	G345	F348	L350	D351	T357	L383	L396	F416	T417	T418	F419
10	S318	E323	R337	C348	G359	F362	L364	N365	N371	L397	L410	Y430	T431	T432	F433
12	E322	-	Q340	Y351	A355	L368	N370	F371	G377	L404	L414	L434	L435	N436	Y437
14	E329	-	Q347	Y358	A372	L375	K377	F378	A384	L411	L421	L441	L442	N443	Y444
16	S336	-	R354	Y365	A379	L382	K384	F385	A391	L418	L428	M446	L449	N450	Y451
18	H301	E308	F324	N335	E346	F349	L351	D352	S358	L384	L397	Y417	T418	T419	F420
20	E331	-	R349	Y369	A374	L377	S379	F380	A386	L413	L423	L443	L444	N445	Y446
22	D309	-	Q327	Y338	A352	L355	R357	F358	A364	L391	L401	L421	L422	N423	Y424
24	F306	G315	T336	S347	G358	V361	L363	D364	D370	L386	L410	Y430	T431	T432	F433
26	A335	-	F353	Y364	A378	L381	S383	F384	G390	L418	L428	L448	L449	N450	Y451
28	G312	A319	V362	F373	A388	L391	E393	V394	A400	L430	L440	L460	L461	N462	F463
30	L308	G315	T336	S347	G358	F361	L363	D364	D370	L386	L410	Y430	T431	T432	F433
32	D310	-	Q328	Y339	A353	L356	I358	F359	A365	L392	L402	L422	L423	N424	Y425
34	Q272	G279	S295	R306	G317	F320	L322	D323	S329	L355	L368	F388	T389	T390	F391
36	E311	-	Q329	H340	A354	L357	K359	L360	A366	L393	L403	L423	L424	N425	Y426
38	C271	D278	S286	C307	G318	F321	L323	N324	D330	L358	L369	Y389	T390	T391	F392
40	H273	Q280	D294	Y305	G316	F319	L321	N322	G328	L354	L367	Y387	T388	T389	F390
42	D197	-	L215	Y226	A240	L243	K245	F246	A252	L279	L289	L309	L310	N311	Y312
44	C272	G279	S300	S311	G322	F325	L327	D328	D334	L360	L374	Y394	T395	G396	F397
46	C317	G324	S345	S355	G367	F370	L372	D373	D379	L405	L419	Y462	T463	S464	F465
48	L324	-	R342	Y353	A367	L370	K372	F373	A379	L406	L416	M36	L437	S438	Y439

Більш того, даний винахід стосується способу ідентифікації ППО-інгібуючого гербіциду шляхом використання мутованої ППО, яка кодується нуклеїновою кислотою що містить нуклеотидну послідовність SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45 або 47, або її варіант або похідну.

Вказаний спосіб включає наступні стадії:

а) генерування трансгенної клітини або рослини, що містить нуклеїнову кислоту, яка кодує мутовану ППО, де експресується мутована ППО;

б) нанесення ППО-інгібуючого гербіциду на трансгенну клітину або рослину з а) та на контрольну клітину або рослину того ж виду;

с) визначення росту або життєздатності трансгенної клітини або рослини та контрольної клітини або рослини після нанесення вказаного ППО-інгібуючого гербіциду, та

д) вибір "ППО-інгібуючого гербіциду" який забезпечує погіршення росту контрольної клітини або рослини, порівняно із ростом транс генної клітини або рослини.

Термін "контрольна клітина" або "подібна, дикого типу рослина, рослинна тканина, рослинна клітина або клітина хазяїн" означають рослину, рослинну тканину, рослинну клітину або клітину хазяїна, відповідно, що не має властивостей резистентності до гербіциду та/або певного полінуклеотиду винаходу, описаних у даному документі. Застосування терміну "дикий тип" не включає рослину, рослинну тканину, рослинну клітину або клітину хазяїна, яка не містить рекомбінантної ДНК у своєму геномі, та/або не має властивостей резистентності до гербіциду, що відрізняються від описаних.

Інший об'єкт стосується способу ідентифікації нуклеотидної послідовності, яка кодує мутовану ППО, яка є резистентною або толерантною до ППО-інгібуючого гербіциду, де спосіб включає:

а) генерування бібліотеки нуклеїнових кислот, що кодують мутовану ППО,

б) скринінг популяції одержаних нуклеїнових кислот, що кодують мутовану ППО, шляхом експресії кожної вказаної нуклеїнової кислоти у клітині або рослині, та обробка вказаної клітини або рослини ППО-інгібуючим гербіцидом,

с) порівняння рівнів толерантності до ППО-інгібуючого гербіциду, забезпечених вказаною популяцією нуклеїнових кислот, що кодують мутовану ППО, із рівнем толерантності до ППО-інгібуючого гербіциду, забезпеченим нуклеїновою кислотою, що кодує контрольну ППО,

д) вибір щонайменше однієї нуклеїнової кислоти, що кодує мутовану ППО, що забезпечує

значне підвищення рівня толерантності до ППО-інгібуючого гербіциду, порівняно із рівнем, забезпеченим, нуклеїною кислотою, яка кодує контрольну ППО.

У переважному варіанті втілення, нуклеїнова кислота, що кодує мутовану ППО, вибрана на стадії d) забезпечує щонайменше 2-кратну резистентність або толерантність клітини або рослини до ППО-інгібуючого гербіциду, порівняно із рівнем, забезпеченим, нуклеїною кислотою, яка кодує контрольну ППО.

У подальшому переважному варіанті втілення, нуклеїнова кислота, що кодує мутовану ППО, вибрана на стадії d) забезпечує щонайменше 2-кратну, щонайменше 5-кратну, щонайменше 10-кратну, щонайменше 20-кратну, щонайменше 50-кратну, щонайменше 100-кратну, щонайменше 500-кратну резистентність або толерантність клітини або рослини до ППО-інгібуючого гербіциду, порівняно із рівнем, забезпеченим, нуклеїною кислотою, яка кодує контрольну ППО.

Резистентність або толерантність може бути визначена шляхом генерування трансгенної рослини або клітини хазяїна, бажано рослинної клітини, що містить нуклеїнову кислоту з бібліотеки стадії a) та порівняння вказаної трансгенної рослини із контрольною рослиною або клітиною хазяїном, бажано рослинною клітиною.

Інший об'єкт стосується способу ідентифікації рослини або водорості, що містить нуклеїнову кислоту, яка містить нуклеотидну послідовність, що кодує ППО дикого типу або мутовану ППО, яка є резистентною або толерантною до ППО-інгібуючого гербіциду, де спосіб включає:

- a) ідентифікацію ефективної кількості ППО-інгібуючого гербіциду у культурі рослинних клітин або зелених водоростей, що призводить до загибелі вказаних клітин
- b) обробку вказаних рослинних клітин або зелених водоростей мутагенізуючим агентом,
- c) контактування вказаної популяції мutowаних клітин із ефективною кількістю ППО-інгібуючого гербіциду, визначеною на стадії a),
- d) вибір щонайменше однієї клітини, що вижила за цих тест умов,
- e) ПЛР-ампліфікація та секвенування генів ППО з клітин, вибраних на стадії d) та порівняння таких послідовностей із послідовностями гену ППО дикого типу, відповідно.

У переважному варіанті втілення, вказаний мутагенізуючий агент означає етилметансульфонат (EMS).

Багато способів, добре відомих фахівцям у галузі, є доступними для одержання придатного кандидату нуклеїнових кислот для ідентифікації нуклеотидної послідовності, яка кодує мутовану ППО з виду іншого організму, включаючи мікроорганізми, рослини, гриби, водорості, змішані культури тощо, а також джерела ДНК зовнішнього середовища, такі як ґрунт. Ці способи включають одержання бібліотек кДНК або геномної ДНК, застосування олігонуклеотидних праймерів, що придатно розкладаються, застосування зондів на основі відомих послідовностей або аналізів на комплементацию (наприклад, для росту у присутності тирозину), а також застосування мутагенезу та перестановки для одержання рекомбінованих або переставлених послідовностей, що кодують мутовану ППО.

Нуклеїнові кислоти, що містять послідовності, які кодують кандидат у або контрольні ППО, можуть бути експресовані в дріжджах, у бактеріальному штамі хазяїні, у водоростях або у вищих рослинах, таких як тютюнник або *Arabidopsis*, та відносні рівні наявної толерантності послідовностей, що кодують ППО, порівнювали за видимим індикаторним фенотипом трансформованого штаму або рослини у присутності різних концентрацій вибраних ППО-інгібуючих гербіцидів. Відповіді на дози та відносні зсуви у відповідях на дози, пов'язані із цими індикаторними фенотипами (утворення коричневого кольору, інгібування росту, гербіцидний ефект тощо) придатно виражали наступними термінами, наприклад, GR50 (концентрація для зменшення росту на 50%) або MIC (мінімальна інгібуюча концентрація), де збільшення значень відповідає збільшенню толерантності експресованої ППО. Наприклад, у відносно швидкій системі аналізу на основі трансформації бактерії, такої як *E. coli*, кожна послідовність, яка кодує мутовану ППО, може бути експресована, наприклад, як послідовність ДНК під контролем експресії контрольованого промотора, такого як *lacZ* промотор, та здійснюючи придатні розрахунки, наприклад, шляхом застосування штучної ДНК, таких дії як застосування кодону з метою одержання як порівняння рівня експресії різних послідовностей ППО. Такі штами, що експресують нуклеїнові кислоти, які містять альтернативні послідовності ППО, можуть бути висаджені на різні концентрації вибраного ППО-інгібуючого гербіциду у, необов'язково, тирозин-доповнене середовище, та відносні рівні толерантності експресованих ППО ферментів оцінювали на основі розміру, та MIC для інгібування утворення коричневого хромотичного пігменту.

У іншому варіанті втілення, нуклеїнові кислоти кандидати трансформують у рослинний матеріал для одержання трансгенної рослини, яка регенерує у морфологічно нормальні

фертильні рослини, які потім оцінюють на диференціальну толерантність до вибраних ППО-інгібуючих гербіцидів, як описано у Прикладах нижче. У галузі відомо багато придатних способів трансформування із використанням придатних селективних маркерів, таких як канаміцин, бінарні вектори, такі як *Agrobacterium* та регенерації рослини як, наприклад, з листя тютюника.

Необов'язково, контрольну популяцію рослин трансформують нуклеїновою кислотою, що експресує контрольну ППО. Альтернативно, нетрансформована дводольна рослина, така як *Arabidopsis* або *Тобассо*, може бути використана як контроль з огляду на те, що вона експресує свою власну ендегенну ППО. середнє значення та розподілення рівнів толерантності до гербіцидів при первинній трансформації рослин та їх потомства до ППО-інгібуючих гербіцидів, описаних вище, оцінювали звичайним шляхом на основі пошкоджень рослини, симптомів відбілювання меристем тощо, при різних концентраціях гербіцидів. Ці дані можуть бути відображені наступними показниками, наприклад, значення GR50 одержані з кривих доза/відповідь, із дозою зазначено по осі x, та "процентом знищених", "гербіцид ним ефектом", "кількістю зелених рослин, що проросли " тощо позначеним по осі y, де підвищення значень GR50 відповідають підвищенню рівнів толерантності експресованої ППО. гербіциди можуть бути придатно нанесені перед та після сходження.

Інший об'єкт даного винаходу стосується виділеної нуклеїнової кислоти, що кодує мутовану ППО, як описано вище, де нуклеїнова кислота містить нуклеотидну послідовність SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45 або 47, або її варіант або похідну.

У одному варіанті втілення, нуклеїнову кислоту ідентифікують за описаним вище способом.

У переважному варіанті втілення, кодована мутована ППО є варіантом SEQ ID NO: 2 або SEQ ID NO. 4, або її ортологом, що містить одну або більше з наступних: амінокислота у або, що відповідає положенню 128 SEQ ID NO:2, не означає аргінін; та/або амінокислота у або, що відповідає положенню 420 SEQ ID NO:2, не означає Фенілаланін.

У іншому варіанті втілення, винахід стосується рослинної клітини, трансформованої нуклеїновою кислотою, яка кодує поліпептид мутованої ППО даного винаходу, або рослинної клітини, яку мутували з одержанням рослини, яка експресує нуклеїнову кислоту, яка кодує поліпептид мутованої ППО даного винаходу, де експресія нуклеїнової кислоти у рослинній клітині приводить до підвищеної резистентності або толерантності до ППО-інгібуючого гербіциду, порівняно із рослинною клітиною дикого типу. Бажано, нуклеїнова кислота, яка кодує поліпептид мутованої ППО, містить полінуклеотидну послідовність, вибрану з групи, яка складається з наступних: а) а полінуклеотид із SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45 або 47, або її варіант або похідну; б) полінуклеотид, що кодує поліпептид із SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46 або 48, або її варіант або похідну; с) полінуклеотид, що містить щонайменше 60 послідовних нуклеотидів з будь-якої з а) або б); та d) полінуклеотид комплементарний до полінуклеотиду з будь-якої з а) - с).

Термін "експресія" або "експресія гену" означає транскрипцію певного гену або певних генів або певного генетичного конструкту. Термін "експресія" або "експресія гену", зокрема, означає транскрипцію певного гену або певних генів або певного генетичного конструкту у структурну РНК (рРНК, тРНК) або мРНК із наступною трансляцією останньої у протеїн або без неї. Процес включає транскрипцію ДНК та обробку одержаного мРНК продукту.

Для одержання бажаного ефекту, тобто, рослин толерантних або резистентних до ППО-інгібуючого гербіциду даного винаходу, зрозуміло, що щонайменше одна нуклеїнова кислота "над-експресується" за способами, відомими фахівцям у галузі.

Термін "підвищена експресія" або "надекспресія" означає будь-яку форму експресії, що є додатковою до вихідного рівня експресії дикого типу. Способи підвищення експресії генів або генних продуктів добре відомі у галузі та включають, наприклад, надекспресію що контролюється відповідними промоторами, застосування енхансерів транскрипції або трансляції. Виділені нуклеїнові кислоти, які слугують елементами промотора або енхансера, можуть бути введені у придатне положення (зазвичай апстрім) негетерологічного полінуклеотиду, для арегулювання експресії нуклеїнової кислоти, яка кодує бажаний поліпептид. Наприклад, ендегенні промотори можуть бути змінені шляхом *in vivo* мутації, делеції та/або заміщення (дивитись, Kmiec, US 5,565,350; Zarling et al., WO9322443), або виділені промотори можуть бути введені у рослинну клітину у відповідному положенні та відстані від гену даного винаходу, так щоб контролювати експресію гену.

Якщо експресія поліпептиду є бажаною, зазвичай бажано включити ділянку поліаденілування на 3'-кінці кодуючої ділянки полінуклеотиду. Ділянка поліаденілування може походити від природного гену, з інших рослинних генів або з т-ДНК. Послідовність із 3'-кінцем

може походити від, наприклад, генів нопалінсинтази або октопінсинтази, або альтернативно з іншого рослинного гену, або менш бажано з будь-якого іншого еукаріотичного гену.

Послідовність інтрону також може бути додана до 5'-нетрансльованої ділянки (UTR) або кодувальної послідовності частково кодувальної послідовності для збільшення кількості зрілої мРНК, що акумулюється у цитозолі. Включення здатного до сплайсингу інтрону у транскрипційну одиницю як у рослинний, так і у тваринний експресійний конструкт, підвищує експресію гену як на рівні мРНК, так і на рівні протеїну у 1000-раз (Buchman and Berg (1988) Mol. Cell Biol. 8: 4395-4405; Callis et al. (1987) Genes Dev 1:1183-1200). Таке інтронне покращення експресії гену зазвичай є найбільшим, коли включення здійснюють біля 5'-кінця транскрипційної одиниці. Застосування інтронів кукурудзи Adh1-S інтрон 1, 2 та 6, інтрон Bronze-1, є добре відомим у галузі. Для загальної інформації дивитись: The Maize Handbook, Chapter 116, Freeling and Walbot, Eds., Springer, N.Y. (1994).

Термін "введення" або "трансформація" включає трансфер екзогенного полінуклеотиду у клітину хазяїна, незалежно від використаного для трансферу способу. Рослинна тканина, здатна до подальшого клонованого розмноження, шляхом органогенезу або ембріогенезу, може бути трансформована генетичним конструктом даного винаходу, та з неї регенерована ціла рослина. Вибір певної тканини залежить від системи клонального розмноження доступної для, та що найбільше підходить для, певних видів, що трансформують. Приклади тканин мішеней включають листові диски, пилки, зародки, сім'ядолі, гіпокотилі, мегагаметофіти, калусна тканина, наявні меристематичні тканини (наприклад, апікальна меристема, аксиллярні бруньки та меристеми коріння), та викликані меристематичні тканини (наприклад, меристема сім'ядолі та гіпокотилі). Полінуклеотид може бути тимчасово або стабільно введений у клітину хазяїна, та може підтримуватись неінтегрованим, наприклад, як плазміда. Альтернативно, він може бути інтегрованим у геном хазяїна. Одержана трансформована рослинна клітина може бути використана для регенерації трансформованої рослини, відомим у галузі чином.

Трансфер чужорідних генів у геном рослини називається трансформацією. Трансформація рослинних видів наразі є рутинним процесом. Переважно, можна використовувати будь-який спосіб трансформації для введення бажаного гену у придатну клітину прашура. Способи, описані для трансформації та регенерації рослин з рослинних тканин та клітин, можуть бути використані для тимчасової або стабільної трансформації. Способи трансформації включають застосування ліпосом, електропорацію, хімічних речовин, що підвищують вільний захват ДНК, ін'єкцію ДНК безпосередньо у рослину, бомбардування частинками, трансформацію з використанням вірусів або пилку, та мікропроекцію. Способи можуть бути вибрані з способи кальцій/полі етиленгліколь для протопластів (Krens, F.A. et al., (1982) Nature 296, 72-74; Negrutiu I et al. (1987) Plant Mol Biol 8: 363-373); електропорації протопластів (Shillito R.D. et al. (1985) Bio/Technol 3, 1099-1102); мікроін'єкції у рослинний матеріал (Crossway A et al., (1986) Mol. Gen Genet 202: 179-185); бомбардування частинками, покритими ДНК або РНК (Klein TM et al., (1987) Nature 327: 70), інфікування вірусами (що не інтегрують) тощо. Трансгенні рослини, включаючи трансгенні культурні рослини, бажано одержують за допомогою трансформації, опосередкованої *Agrobacterium*. Переважним способом трансформації є трансформація рослин. З цією метою, можливо, наприклад, дозволити вплив агробактерій на насіння рослин або інокулювати меристему рослини агробактеріями. Особливо доцільно згідно винаходу використовувати суспензію трансформованих агробактерій для впливу на інтактну рослину, або, щонайменше на квітковий зародок. Рослину потім вирощують до одержання насіння з обробленої рослини (Clough and Bent, Plant J. (1998) 16, 735-743). Способи трансформації рису, опосередкованої *Agrobacterium*, включають добре відомі способи, такі як описані у наступних посиланнях: Європейська патентна заявка EP 1198985 A1, Aldemita and Hodges (Planta 199: 612-617, 1996); Chan et al. (Plant Mol Biol 22 (3): 491-506, 1993), Hiei et al. (Plant J 6 (2): 271-282, 1994), опис яких включено у даний документ за допомогою посилань. У випадку трансформації кукурудзи, переважним способом є спосіб, описаний у Ishida et al. (Nat. Biotechnol 14(6): 745-50, 1996) або Frame et al. (Plant Physiol 129(1): 13-22, 2002), опис яких включено у даний документ за допомогою посилань. Вказані способи також описані як приклади у B. Jenes et al., Techniques for Gene Transfer, in: Transgenic Plants, Vol. 1, Engineering and Utilization, eds. S.D. Kung and R. Wu, Academic Press (1993) 128-143, та у Potrykus Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Molec. Biol. 42 (1991) 205-225). Нуклеїнові кислоти або конструкт, що експресують, бажано клонують у вектор, придатний для трансформації *Agrobacterium tumefaciens*, наприклад, pBin19 (Bevan et al., Nucl. Acids Res. 12 (1984) 8711). *Agrobacteria* трансформовані таким вектором потім можуть бути використані для трансформації рослин, наприклад, рослин використаних як модель, як *Arabidopsis* (*Arabidopsis thaliana* в рамках даного винаходу не розглядається як культурна рослина), або культурних рослин, наприклад, тютюнник, наприклад, шляхом занурення

пошкодженого листа або посіченого листа у розчин з агробактеріями, та потім їх культивування у придатному середовищі. Трансформація рослин за допомогою *Agrobacterium tumefaciens* описана, наприклад, Höfgen and Willmitzer in Nucl. Acid Res. (1988) 16, 9877, або відома з F.F. White, Vectors for Gene Transfer in Higher Plants; in Transgenic Plants, Vol. 1, Engineering and Utilization, eds. S.D. Kung and R. Wu, Academic Press, 1993, pp. 15-38.

Більш того, у трансформації соматичних клітин, які потім повинні регенерувати у інтактні рослини, також можливо трансформування клітин меристем рослини та, зокрема, тих клітин, що розвинулись у гамети. У цьому випадку, трансформовані гамети за природним розвитком рослини дають трансгенні рослини. Таким чином, наприклад, насіння *Arabidopsis* обробляють агробактеріями, та насіння одержують з рослин, що розвиваються, певна частина яких є трансформованою, та таким чином трансгенною [Feldman, KA and Marks MD (1987). Mol Gen Genet 208:274-289; Feldmann K (1992). In: C Koncz, N-H Chua and J Shell, eds, Methods in Arabidopsis Research. World Scientific, Singapore, pp. 274-289]. Альтернативні способи ґрунтовані на повторному видаленні суцвіть та інкубуванні місця зрізу по центру розетки із трансформованими агробактеріями, таким чином одержуючи трансформоване насіння пізніше (Chang (1994). Plant J. 5: 551-558; Katavic (1994). Mol Gen Genet, 245: 363-370). Однак, особливо ефективним способом є вакуумна інфільтрація із модифікаціями, наприклад, спосіб "занурення квітки". У випадку вакуумної інфільтрації *Arabidopsis*, інтактні рослини при пониженому тиску обробляють суспензією агробактерій [Bechthold, N (1993). C R Acad Sci Paris Life Sci, 316: 1194-1199], у той час як у способі "занурення квітки" квіткові тканини, що розвиваються, короткочасно інкубують із суспензією агробактерій, обробленою поверхнево-активною речовиною [Clough, SJ and Bent AF (1998) The Plant J. 16, 735-743]. певну пропорцію транс генного насіння збирають в обох випадках, та це насіння можна відрізнити від нетрансгенного насіння шляхом вирощування у вищенаведених селективних умовах. Більш того, переважною придатна трансформація пластид, тому що пластиди успадковуються по материнській лінії у більшості культурних рослин, що знижує або прибирає ризик переносу транс гену через пилок. Трансформацію геному хлоропласту зазвичай здійснюють за способом, схематично описаним у Klaus et al., 2004 [Nature Biotechnology 22 (2), 225-229]. Коротко, послідовності, що трансформують, клонують разом із селективним маркерним геном між послідовностями, що перетинаються, гомологічними геному хлоропласту. Ці гомологічні послідовності, що перетинаються, спрямовують сайт-специфічну інтеграцію у пластом. Трансформація пластид була описана для багатьох видів рослин, та огляд наведено у Bock (2001) Transgenic plastids in basic research and plant biotechnology. J Mol Biol. 2001 Sep 21; 312 (3):425-38 or Maliga, P (2003) Progress towards commercialization of plastid transformation technology. Trends Biotechnol. 21, 20-28. певний біотехнологічний прогрес було нещодавно описано у вигляді пластидних трансформантів, що не містять маркерів, що можуть бути одержані за допомогою перехідного спів-інтегрованого маркерного гену (Klaus et al., 2004, Nature Biotechnology 22(2), 225-229). Генетично модифіковані рослинні клітини можуть регенерувати за всіма відомими способами. Придатні способи можна знайти у вищенаведених публікаціях S.D. Kung and R. Wu, Potrykus або Höfgen and Willmitzer.

Зазвичай після трансформації, рослинні клітини або клітинні угруповання відбирають на наявність одного або більше маркерів, що кодуються генами, які експресуються рослиною, що були спів-перенесені із переважним геном, після чого трансформований матеріал регенерує у цілу рослину. Для відбору трансформованих рослин, рослинний матеріал, одержаний під час трансформації, як правило, піддають селективним умовам, з тим щоб трансформовані рослини можна було відрізнити від нетрансформованих. Наприклад, насіння, одержане вищевказаним чином, може бути висіяне, та після первинного періоду росту, піддане придатному відбору шляхом зрошення. Іншим варіантом є вирощування насіння, у разі потреби після стерилізації, на площки з агаром, використовуючи придатний селективний агент, таким чином, тільки трансформоване насіння зможе вирости у рослину. Альтернативно, трансформовані рослини аналізують на наявність селективного маркера, такого як вищеописані.

Після трансферу ДНК та регенерації, імовірно трансформовані рослини також можуть бути оцінені, наприклад, використовуючи аналіз Саузерн на присутність потрібного гену, кількості копій та/або геномної організації. Альтернативно або додатково, рівні експресії тільки введеної ДНК можна спостерігати, використовуючи аналіз Нозерн та/або Вестерн, обидва відомі у галузі.

Одержані трансформовані рослини можуть бути розведені багатьма способами, такими як клональне розведення або класична селекція. Наприклад, перше покоління (або T1) трансформованої рослини може бути самозапиленим, та гомозиготне друге покоління (або T2) відібрані трансформанти, та рослини T2 потім можуть бути розведені за класичною селекцією. Одержані трансформовані організми можуть мати різні форми. Наприклад, вони можуть бути

гібридами трансформованих клітин та нетрансформованих клітин; клональними трансформантами (наприклад, всі клітини, трансформовані експресійною касетою); трансплантати трансформованих та нетрансформованих тканин (наприклад, у рослинах, трансформований кореневий пагін привитий на нетрансформований пагін).

5 Переважно, нуклеїнова кислота ППО дикого типу або мутованої ППО містить полінуклеотидну послідовність, вибрану з групи, яка складається з: а) полінуклеотиду із SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45 або 47, або її варіант або похідну; б) полінуклеотиду, що кодує поліпептид із SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46 або 48, або її варіант або похідну; с) 10 полінуклеотиду, що містить щонайменше 60 послідовних нуклеотидів з будь-якої з а) або б); та д) полінуклеотиду комплементарного полінуклеотиду з будь-якого з а) - с).

Переважно, експресія нуклеїнової кислоти у рослині приводить до підвищення резистентності до ППО-інгібуючого гербіциду, порівняно із рослиною дикого типу.

У іншому варіанті втілення, винахід стосується рослини, бажано трансгенної рослини, що 15 містить рослинну клітину даного винаходу, де експресія нуклеїнової кислоти у рослині приводить до підвищення резистентності до ППО-інгібуючого гербіциду, порівняно із рослиною дикого типу.

Рослини, описані у даному документі, можуть бути трангенними культурними рослинами або нетрансгенними рослинами.

20 Для цілей винаходу, "трансгенний", "трансген" або "рекомбінантний" означає відносно, наприклад, послідовності нуклеїнової кислоти, експресійну касету, генний конструкт або вектор, що містить послідовність нуклеїнової кислоти, або організм, трансформований послідовностями нуклеїнової кислоти, експресійними касетами або векторами винаходу, де всі ці конструкти одержані рекомбінантними способами, де

25 (а) послідовності нуклеїнової кислоти, що кодують протеїни придатні у способах винаходу, або

(b) генетичні контрольні послідовності, операбельно зв'язані із послідовністю нуклеїнової кислоти винаходу, наприклад, промотором, або

(с) а) та б)

30 не розташовані у їх природному генетичному оточенні або були модифіковані рекомбінантними способами, де модифікація приймає форму, наприклад, заміщення, додавання, делеції, інверсії або вставки одного або більше нуклеотидних залишків для експресії мутованої ППО даного винаходу. Природне генетичне оточення означає природні геномні або хромосомні локуси у вихідній рослині або присутність у геномі бібліотеці. У випадку геномної 35 бібліотеки, природне генетичне оточення послідовності нуклеїнової кислоти бажано підтримується, щонайменше частково. Середовище перетинає послідовність нуклеїнової кислоти щонайменше з одного боку та має довжину послідовності щонайменше 50 п.о., бажано щонайменше 500 п.о., особливо бажано щонайменше 1000 п.о., найбільш бажано щонайменше 5000 п.о. Природна експресійна касета – наприклад, природна комбінація природних 40 послідовностей нуклеїнових кислот промотору із відповідною нуклеїновою кислотою, що кодує поліпептид, придатний у способах даного винаходу, як визначено вище – стає транс генною експресійною касетою коли її модифікують за неприродними штучними способами, такими як, наприклад, обробка мутагеном. Придатні способи описані, наприклад, у US 5,565,350 або WO 00/15815.

45 Транс генна рослина для цілей винаходу таким чином, означає рослину де нуклеїнові кислоти винаходу не знаходяться у свої природних локусах у геномі вказаної рослини, та нуклеїнові кислоти експресують гомологічно або гетерологічно. Однак, як згадувалось, транс генний також означає, що хоча нуклеїнові кислоти винаходу або використані у способі винаходу знаходяться у природних положеннях у геномі рослини, послідовності були модифіковані, 50 порівняно із природними, та/або, що були модифіковані регуляторні послідовності природних послідовностей. Трансгенний бажано означає експресію нуклеїнових кислот винаходу у неприродних локусах у геномі, тобто, гомологічну або, бажано гетерологічну експресію нуклеїнових кислот. Бажані трансгенні рослини наведені у даному документі. Також, термін "трансгенна" стосується будь-якої рослини, рослинної клітини, калусу, рослинної тканини або 55 частини рослини, що містить весь або частину щонайменше одного рекомбінантного полінуклеотиду. У багатьох випадках, весь або частина щонайменше одного рекомбінантного полінуклеотиду стабільно інтегровано у хромосому або придатний екстра-хромосомний елемент, так що він передається наступним поколінням. Для цілей винаходу, термін "рекомбінантний полінуклеотид" стосується полінуклеотиду зміненого, переорганізованого або 60 модифікованого способами генної інженерії. Приклади включають будь-який клонований

полінуклеотид або полінуклеотиди, зв'язані або приєднані до гетерологічних послідовностей. Термін "рекомбінантний" не стосується зміни полінуклеотидів, яка є результатом природних явищ, таких як спонтанні мутації, або не спонтанний мутагенез із наступною селекцією.

Рослини, що містять мутації, які виникли внаслідок не спонтанного мутагенезу та селективного розведення, називають не-трансгенні рослини та вони є частиною даного винаходу. У варіантах втілення, де рослина є трансгенною та містить множинні нуклеїнові кислоти мутованої ППО, нуклеїнові кислоти можуть походити від різних геномів або з одного геному. Альтернативно, у варіантах втілення, де рослин не є трансгенною та містить множинні нуклеїнові кислоти мутованої ППО, нуклеїнові кислоти розташовані у різних або одному геномі. Як використано у даному документі, "мутагенізований" стосується організму або його ДНК, що містить зміни у біомолекулярній послідовності нативного генетичного матеріалу, порівняно із послідовністю генетичного матеріалу відповідного організму або ДНК дикого типу, де зміни генетичного матеріалу були викликані та/або підібрані людиною. Способи викликання мутацій викликають мутації рандомічно у генетичному матеріалі, або у специфічних локусах генетичного матеріалу (тобто, може бути спрямований мутагенез), наприклад, застосуванням генної пластики.

У певних варіантах втілення, даний винахід включає резистентні до гербіциду рослини, одержані мутаційною селекцією. Такі рослини містять полінуклеотид, що кодує мутовану ППО та є толерантним до одного або більше ППО-інгібуючих гербіцидів. Такі способи включають, наприклад, піддавання рослин або насіння дії мутагену, зокрема, хімічного мутагену, такого як, наприклад, етилметансульфонат (EMS), та відбір рослин із покращеною толерантністю до щонайменше одного або більше ППО-інгібуючих гербіцидів.

Однак, даний винахід не обмежено толерантними до гербіциду рослинами, одержаними мутагенезом, що застосовує хімічний мутаген EMS. Будь-який відомий у галузі спосіб мутагенезу може бути використаний для одержання резистентних до гербіциду рослин даного винаходу. Такі способи мутагенезу включають, наприклад, застосування одного або більше з наступних мутагенів: опромінення, наприклад рентгенівські промені, гама-промені (наприклад, кобальт 60 або цезій 137), нейтрони, (наприклад, продукт розщеплення ядра за допомогою урану 235 у атомному реакторі), бета-опромінення (наприклад, випромінюється радіоізотопами, такими як фосфор 32 або вуглецем 14), та УФ-опромінення (бажано 2500 - 2900 нм), та хімічні мутагени, наприклад, аналоги основ (наприклад, 5-бромурацил), пов'язані сполуки (наприклад, 8-етоксикафеїн), антибіотики (наприклад, стрептонігрин), алкілувальні агенти (наприклад, сірчані іприти, азотні іприти, епоксиди, етиленаміни, сульфати, сульфонати, сульфони, лактони), азид, гідроксиламін, азотиста кислота або акридині. Резистентні до гербіциду рослини також можуть бути одержані, використовуючи культури тканин для відбору рослинних клітин, що містять резистентні до гербіциду мутації, та потім регенерацію з них резистентних до гербіциду рослин. Дивитись, наприклад, у патентах США № 5,773,702 та 5,859,348, опис яких включено за допомогою посилань. Деталі мутаційної селекції можна знайти у "Principals of Cultivar Development" Fehr, 1993 Macmillan Publishing Company, опис якого включено за допомогою посилань.

Більш того, термін "рослина" включає культурні рослини на будь-якій стадії зрілості або розвитку, а також будь-які тканини або органи (частини рослини) взяті з будь-якої такої рослини, доки не зазначено протилежне у контексті. Частини рослин включають, проте не обмежуються наступними: стебла, коріння, квіти, сім'ябруньки, тичинки, листя, зародки, меристемні ділянки, калусні тканини, культури пильників, гаметофіти, спорофіти, пилок, мікроспори, протопласти, тощо.

Рослина даного винаходу містить щонайменше одну нуклеїнову кислоту мутованої ППО або надекспресовану нуклеїнову кислоту ППО дикого типу, та має підвищену толерантність до ППО-інгібуючого гербіциду, порівняно із рослиною дикого типу. Рослини даного винаходу можуть містити численні нуклеїнові кислоти ППО дикого типу або мутованої ППО з різних геномів, з огляду на те, що ці рослини можуть містити більше ніж один геном. Наприклад, рослина містить два геноми, які зазвичай називають геноми А та В. Внаслідок того, що ППО є потрібним метаболічним ферментом, вважається, що кожен геном має щонайменше один ген, що кодує фермент ППО (тобто, щонайменше один ген ППО). Як використано у даному документі, термін "локус гену ППО" стосується положення гену ППО у геномі, та терміни "ген ППО" та "нуклеїнова кислота ППО" стосуються нуклеїнової кислоти, яка кодує фермент ППО. Нуклеїнова кислота ППО у кожному геномі відрізняється своєю нуклеотидною послідовністю від нуклеїнової кислоти ППО у іншому геномі. Фахівець у галузі може визначити геном з якого походить кожна нуклеїнова кислота ППО за допомогою генетичного схрещування та/або способів секвенування або способів розщеплення екзонуклеазами, відомих у галузі.

Даний винахід включає рослини, що містять один, два, три або більше алелей мутованої ППО, де рослина має підвищену толерантність до ППО-інгібуючого гербіциду, порівняно із рослиною дикого типу. Алелі мутованої ППО можуть містити нуклеотидну послідовність, вибрану з групи, яка складається з полінуклеотиду із SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45 або 47, або її варіантом або похідною, полінуклеотиду, що кодує поліпептид із SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46 або 48, або її варіантом або похідною, гомологом, ортологом, паралогом, полінуклеотиду, що містить щонайменше 60 послідовних нуклеотидів будь-якого з вищенаведених полінуклеотидів; та полінуклеотид комплементарний будь-якому з вищенаведених полінуклеотидів.

“Алелі” або “алельні варіанти” є альтернативними формами наведеного гену, розташованого у одному хромосомному положенні. Алельні варіанти включають однонуклеотидні поліморфізми (SNP), а також поліморфізми маленьких вставок/делецій (INDEL). Розмір INDEL зазвичай становить менше ніж 100 п.о. SNP та INDEL утворюють великий набір варіантів послідовностей у природних поліморфних штаммах більшості організмів.

Термін “сорт” стосується групи рослин всередині виду, які відрізняються спільним набором характеристик або властивостей, які розглядаються фахівцями у галузі як достатні для відрізнєння одного культивуру або сорту від іншого. Термін не стверджує, що всі рослини певного культивуру або сорту будуть генетично ідентичними на генетичному або молекулярному рівні, або, що будь-яка наведена рослина є гомозиготою по всіх локусах. Культивар або сорт розглядають як “розведення гомозигот” стосовно певної ознаки, якщо гомозиготний культивар або сорт є самозапиленням, то все потомство містить ознаку. Терміни “лінія розведення” або “лінія” стосуються групи рослин всередині культивуру, які відрізняються спільним набором характеристик або властивостей, які розглядаються фахівцями у галузі як достатні для відрізнєння однієї лінії розведення або лінії від іншої. Термін не стверджує, що всі рослини певної лінії розведення або лінії будуть генетично ідентичними на генетичному або молекулярному рівні, або, що будь-яка наведена рослина є гомозиготою по всіх локусах. Лінію розведення або лінію розглядають як “розведення гомозигот” стосовно певної ознаки, якщо гомозиготна лінія розведення або лінія є самозапиленою, то все потомство містить ознаку. У даному винаході, ознака з’являється внаслідок мутації у гені ППО рослини або насіння.

У деяких варіантах втілення, застосовують традиційне розведення рослин за допомогою якого ознаку толерантності до ППО-інгібуючого гербіциду вводять у потомство рослини, яку одержують. У одному варіанті втілення, даний винахід стосується способу одержання потомства рослин, толерантного до ППО-інгібуючого гербіциду, де спосіб включає: схрещування бітьківської рослини із рослиною толерантною до ППО-інгібуючого гербіциду для введення характеристик толерантності до ППО-інгібуючого гербіциду у ідіоплазму потомства рослини, де потомство рослини має підвищену толерантність до ППО-інгібуючих гербіцидів, порівняно із батьківською рослиною. У інших варіантах втілення, спосіб також включає стадію інтрогресії характеристик толерантності до ППО-інгібуючого гербіциду за допомогою традиційних способів розведення рослин, з метою одержання потомства із характеристиками толерантності до ППО-інгібуючого гербіциду.

Рослини винаходу резистентні до гербіцидів, що містять полінуклеотиди, які кодують поліпептиди мутованої ППО, також застосовують у способах підвищення резистентності до гербіцидів рослини шляхом звичайного розведення, включаючи статеве розмноження. Способи включають схрещування першої рослини, яка представлена резистентною до гербіциду рослиною винаходу, із другою рослиною, що може бути резистентною до того ж гербіциду або ні, або може бути резистентною до іншого гербіциду або гербіцидів, ніж перша рослина. Другою рослиною може бути будь-яка рослина здатна давати репродуктивне потомство (тобто, насіння) при схрещуванні із першою рослиною. Зазвичай, проте необов’язково, перша та друга рослини є рослинами одного виду. Способи можуть необов’язково включати відбір потомства рослин, що містить поліпептиди мутованої ППО першої рослини та резистентність до гербіциду другої рослини. Потомство рослин одержане за таким способом даного винаходу має підвищену резистентність до гербіциду, порівняно із першою та другою рослинами. Коли перша та друга рослини є резистентними до різних гербіцидів, потомство буде мати комбіновану толерантність до гербіцидів як першої, так і другої рослини. Способи винаходу також можуть включати одне або більше поколінь зворотного схрещування рослин потомства з першого схрещування із рослиною тієї ж лінії або генотипу, що й перша або друга рослини. Альтернативно, потомство з першого або будь-якого наступного схрещування може бути схрещене із третьою рослиною іншої лінії або генотипу. Даний винахід також стосується рослин, органів рослин, рослинних тканин, рослинних клітин, насіння та нелюдських клітин хазяїнів, трансформованих

щонайменше однією молекулою поліуклеотиду, експресійною касетою або вектором трансформації винаходу. Такі трансформовані рослини, органи рослини, рослинні тканини, рослинні клітини, насіння та нелюдські клітини хазяї мають покращену толерантність або резистентність до щонайменше одного гербіциду, при концентрації гербіциду, що знищує або

пригнічує ріст нетрансформованих рослин, органів рослин, рослинних тканин, рослинних клітин, насіння та нелюдських клітин хазяїнів, відповідно. Бажано, трансформовані рослини, органи рослини, рослинні тканини, рослинні клітини, насіння винаходу є рослинами *Arabidopsis thaliana* та культурними рослинами.

У інших аспектах, рослини винаходу включають рослини, які є толерантними до ППО-інгібуючих гербіцидів, та піддавались додатковим генетичним модифікаціям шляхом селекції, мутагенезу або генної інженерії, наприклад, внаслідок чого стали толерантними до інших класів гербіцидів, таких як інгібітори АНАС; ауксинові гербіциди; відбілюючі гербіциди, такі як інгібітори гідроксифенілпіруват діоксигенази (HPPD) або інгібітори фітоендесатурази (PDS); інгібітори EPSPS, такі як гліфосат; інгібітори глутамінсинтези (GS), такі як глюфосинат; інгібітори біосинтезу ліпідів, такі як інгібітори ацетил СоА карбоксилази (АССаза); або оксинілові гербіциди (тобто, бромоксиніл абоіоксиніл), в результаті стандартних способів селекції або генної інженерії. Таким чином, рослини винаходу толерантні до ППО-інгібуючих гербіцидів можна зробити резистентними до багатьох класів гербіцидів за допомогою чисельних генетичних модифікацій, таких як резистентність до гліфосату та глюфосинату, або як до гліфосату, так і до гербіциду з іншого класу, такого як HPPD інгібітори, АНАС інгібітори або інгібітори АССази. Ці технології надання резистентності до гербіцидів описані, наприклад, у Pest Management Science (at volume, year, page): 61, 2005, 246; 61, 2005, 258; 61, 2005, 277; 61, 2005, 269; 61, 2005, 286; 64, 2008, 326; 64, 2008, 332; Weed Science 57, 2009, 108; Australian Journal of Agricultural Research 58, 2007, 708; Science 316, 2007, 1185; наведені за допомогою посилань. Наприклад, рослини винаходу толерантні до ППО-інгібуючих гербіцидів, у деяких варіантах втілення, можуть бути толерантними до інгібіторів АССази, таких як "дими" {наприклад, циклоксидим, сетоксидим, клетодим або тепралоксидим), "фопи" {наприклад, , клодінафоп, диклофоп, флуазифоп, галоксифоп або квізалопфоп), та "дени" (такі як піноксаден); до фуксинових гербіцидів, таких як дикамба; до інгібіторів EPSPS, таких як гліфосат; до інших інгібіторів ППО; та до інгібіторів GS, таких як глюфосинат.

Окрім цих класів інгібіторів, рослини винаходу толерантні до ППО-інгібуючих гербіцидів також можуть бути толерантними до гербіцидів із іншим типом дії, наприклад, інгібітори хлорофілу/каротеноїдного пігменту, руйнівники клітинної мембрани, інгібітори фотосинтезу, інгібітори клітинного поділу, інгібітори коріння, інгібітори пагонів та їх комбінації.

Такі ознаки толерантності можуть бути експресовані, наприклад: як мутантні або дикого типу ППО протеїни, як мутантні АНАС протеїни, мутантні АССаза протеїни, мутантні EPSPS протеїни, або протеїни мутантної глутамінсинтези; або як мутантна нативна інбредна або трансгенна арилоксиалканоксидіоксигеназа (AAD або DHT), галоарилнітрилаза (BXN), дегалогеназа 2,2-дихлорпропіонової кислоти (DEH), гліфосат-N- ацетилтрансфераза (GAT), гліфосатдекарбоксилаза (GDC), гліфосатоксидоредуктаза (GOX), глутатіон-S-трансфераза (GST), фосфінотріцинацетилтрансфераза (PAT або bar), або CYP450 протеїни, що розкладають гербіциди.

Рослини винаходу толерантні до ППО-інгібуючих гербіцидів також можуть мати інші ознаки включаючи, проте не обмежуючись наступними: пестицидні властивості, такі як Bt Cry та інші протеїни, що мають пестицидну активність щодо жуків, метеликів, нематод або інших шкідників; харчові та нутрацевтичні властивості, такі як модифікований вміст олії або олійний профіль, висока концентрація протеїнів або амінокислот, та інші види ознак, відомі у галузі.

Більш того, у інших варіантах втілення, рослини винаходу толерантні до ППО-інгібуючих гербіцидів також включають рослини одержані техніками рекомбінантної ДНК та/або селекцією та/або іншим чином відібрані щодо наявності ознак, які дають їм можливість синтезувати один або більше інсектицидних протеїни, особливо з бактеріального роду *Bacillus*, зокрема з *Bacillus thuringiensis*, такі як [дельта]-ендотоксини, наприклад, CryIA(b), CryIA(c), CryIF, CryIF(a2), CryIIA(b), CryIIIA, CryIIIB(b) або Cry9c; вегетативні інсектицидні протеїни (VIP), наприклад, VIP1, VIP2, VIP3 або VIP3A; інсектицидні протеїни бактерій, що колонізують нематоди, наприклад, *Photorhabdus* spp. або *Xenorhabdus* spp.; токсини, що виробляються тваринами, такі як токсини скорпіонів, токсини арахнідів, токсини ос або комахо-специфічні нейротоксини; токсини, одержані з грибів, такі як токсини стрептоміцетів; рослинні лектини, такі як лектини гороху або ячменю; аглутиніни; інгібітори протеїнази, такі як інгібітори трипсину, інгібітори серинпротеїнази, інгібітори пататину, цистатину або папаїну; рибосомо-інактивуючі протеїни (RIP), такі як рицин, кукурудзяний-RIP, абрин, луфін, сапорин або брієдин; ферменти метаболізму стероїдів, такі як

3-гідрокси-стероїдна оксдаза, екдистероїд-IDP-глікозилтрансфераза, оксидази холестерину, інгібітори екдизону або HMG- CoA-редуктази; блокатори іонних каналів, такі як блокатори натрієвих або кальцієвих каналів; естераза ювенільного гормону; рецептори діуретичного гормону (рецептори хелікокініну); стілбенсинтаза, бібензолсинтаза, хітинази або глюканази. У контексті даного винаходу ці інсектицидні протеїни або токсини також означають пре-токсини, гібридні протеїни, усічені або іншим чином модифіковані протеїни. Гібридні протеїни характеризуються новою комбінацією доменів протеїну (дивитись, наприклад, WO 02/015701). Наступні приклади таких токсинів або генетично модифікованих рослин, здатних синтезувати такі токсини, описані, наприклад, у EP-A 374 753, WO 93/007278, WO 95/34656, EP-A 427 529, EP-A 451 878, WO 03/18810 та WO 03/52073. Способи одержання таких генетично модифікованих рослин відомі фахівцям у галузі та описані, наприклад, у вищевказаних публікаціях. Ці інсектицидні протеїни, що містяться у генетично модифікованих рослинах, надають рослині, що продукує ці протеїни, толерантності до шкідників з усіх таксономічних груп артропод, зокрема жуків (Coleoptera), двокрилих комах (Diptera), попелиць (Lepidoptera) та нематод (Nematoda).

У деяких варіантах втілення, одного або більше протеїнів токсинів (наприклад, інсектицидних протеїнів) у рослинах толерантних до ППО-інгібуючих гербіцидів є ефективною для боротьби із організмами, що включають, наприклад, членів класів та порядків: Coleoptera, такі як американська зернівка квасолева *Acanthoscelides obtectus*; листоїд *Agelastica alni*; щелкуни (*Agriotes lineatus*, *Agriotes obscurus*, *Agriotes bicolor*); точильник хлібний *Ahasverus advena*; нехрущ звичайний *Amphimallon solstitialis*; точильник домовий *Anobium punctatum*; *Anthonomus* spp. (довгоносики); бурякова крошка *Atomaria linearis*; шкіроїди (*Anthrenus* spp., *Attagenus* spp.); зерновка чотириплямиста *Callosobruchus maculatus*; блістянка сухофруктова *Carpophilus hemipterus*; скритнохоботник рапсовий насінний *Ceutorhynchus assimilis*; скритнохоботник кореневий капустиний *Ceutorhynchus picitarsis*; проволочники *Conoderus vespertinus* та *Conoderus falli*; слоник банановий *Cosmopolites sordidus*; новозеландський трав'яний хрущ *Costelytra zealandica*; блискучий хрущ *Cotinis nitida*; стебловий довгоносик соняшника *Cylindrocopturus adspersus*; ветчинний шкіроїд *Dermestes lardarius*; злакові кореневі хробаки *Diabrotica virgifera*, *Diabrotica virgifera virgifera* та *Diabrotica barberi*; мексиканський бобовий жук *Epilachna varivestis*; вусач домовий *Hylotropes bajulus*; довгоносик люцерновий *Hypera postica*; удавальник звичайний *Gibbium psyllodes*; тютюниковий жук *Lasioderma serricorne*; колорадський жук *Leptinotarsa decemlineata*; жуки древогризи (*Lyctus* spp., рапсовий квіткоїд *Meligethes aeneus*; травневий хрущ західний *Melolontha melolontha*; яблунева попелиця *Mezium americanum*; удавальник шовковистий *Niptus hololeucus*; хлібні точильники *Oryzaephilus surinamensis* та *Oryzaephilus Mercator*; скосар одинокий *Otiorhynchus sulcatus*; хріновий листоїд *Phaedon cochleariae*, хрестоцвітна блошка *Phyllotreta cruciferae*; блошка смугаста *Phyllotreta striolata*; рапсова блоха *Psylliodes chrysocephala*; *Ptinus* spp. (удавальники); зерновий точильник *Rhizopertha dominica*; довгоносик смугастий *Sitona lineatus*; рисові та амбарні жуки *Sitophilus oryzae* та *Sitophilus granaries*; довгоносик насіння соняшника *Smicronyx fulvus*; хлібний точильник *Stegobium paniceum*; великий хрущак борошна *Tenebrio molitor*, борошневий жук *Tribolium castaneum* та *Tribolium confusum*; амбарні та шафні жуки (*Trogoderma* spp.); амброзієвий листоїд *Zygogramma exclamationis*; Dermaptera (щипавки), такі як щипавка звичайна *Forficula auricularia* та щипавка прибрежна *Labidura riparia*; тарганоподібні, такі як чорний тарган *Blatta orientalis*; парниковий тарган *Oxidus gracilis*; бурякова мінуючи муха *Pegomyia betae*; шведська муха *Oscinella frit*; плодові мухи (*Dacus* spp., *Drosophila* spp.); Білі мурахи (терміти), включаючи види з родин *Hodotermitidae*, *Kalotermitidae*, *Mastotermitidae*, *Rhinotermitidae*, *Serritermitidae*, *Termitidae*, *Termopsidae*; клоп трав'яний *Lygus lineolaris*; бобова попелиця *Aphis fabae*; бахчева попелиця *Aphis gossypii*; яблунева попелиця *Aphis pomi*; шипувата чорна білокрилка *Aleurocanthus spiniferus*; тютюникова білокрилка *Bemesia tabaci*; капустяна попелиця *Brevicoryne brassicae*; грушеподібна листоблошка *Cacopsylla pyricola*; попелиця червоної смородини *Cryptomyzus ribis*; виноградна філоксера *Daktulosphaira vitifoliae*; цитрусова попелиця *Diaphorina citri*; картопляна цикадка *Empoasca fabae*; бобова цикадка *Empoasca Solana*; виноградна цикадка *Empoasca vitis*; кров'яна попелиця *Eriosoma lanigerum*; акацієва несправжня щитівка *Eulecanium corni*; сливова опилена попелиця *Hyalopterus arundinis*; темна цикадка *Laodelphax striatellus*; картопляна попелиця *Macrosiphum euphorbiae*; персикова попелиця *Myzus persicae*; рисова цикадка *Nephotettix cincticeps*; бура рисова цикадка *Nilaparvata lugens*; хмелева попелиця *Phorodon humuli*; звичайна попелиця черемшини *Rhopalosiphum padi*; велика злакова попелиця *Sitobion avenae*; *Lepidoptera*, такі як *Adoxophyes orana* (сітчаста листовертка); *Archips podana* (листовертка товстушка); *Bucculatrix pyrivorella* (мішка мінуючи грушева); *Bucculatrix thurberiella* (бавовникова міль); *Bupalus piniarius* (пядениця соснова); *Carpocapsa pomonella* (яблунева

плодожерка); *Chilo suppressalis* (огнівка жовта рисова); *Choristoneura fumiferana* (ялинова листовертка-брунькоїд); *Cochylis hospes* (сушка соняшника); *Diatraea grandiosella* (африканський точильник стебел); *Eupoecilia ambiguella* (дворічна листовертка); *Helicoverpa armigera* (бавовникова совка); *Helicoverpa zea* (бавовникова совка); *Heliothis virescens* (тютюнникова совка), *Homoeosoma electellum* (соняшникова міль); *Homona magnanima* (листовертка чайного дерева); *Lithocolletis blancardella* (плодова нижньомінуюча міль); *Lymantria dispar* (непарний шовкопряд); *Malacosoma neustria* (кільчастий коконопряд); *Mamestra brassicae* (капустяна совка); *Mamestra configurata* (совка латукова); *Operophtera brumata* (зимова пядениця); *Ostrinia nubilalis* (огнівка кукурудзяна), *Panolis flammea* (совка соснова), *Phyllocnistis citrella* (цитрусова мінуюча міль); *Pieris brassicae* (капустниця); *Rachiplusia ni* (соева пядениця); *Spodoptera exigua* (совка мала наземна); *Spodoptera littoralis* (єгипетська бавовникова совка); *Sylepta derogata* (бавовникова огнівка); *Trichoplusia ni* (совка ні); Orthoptera, такі як цвіркун домашній *Acheta domesticus*, сарана єгипетська (*Anacridium* spp.), сарана перелітна *Locusta migratoria*, червононогий коник *Melanoplus bivittatus*, кобилка відрізняльна *Melanoplus differentialis*, червононогий коник *Melanoplus femurrubrum*, мірмучий коник *Melanoplus sanguinipes*, ведмедик десятипалий *Neocurtilla hexadactyla*, червона сарана *Nomadacris septemfasciata*, ведмедик короткокрилий *Scapteriscus abbreviatus*, південний ведмедик *Scapteriscus borellii*, бурий ведмедик *Scapteriscus vicinus*, та пустинна сарана *Schistocerca gregaria*; Symphyla, такі як садова багатоніжка *Scutigera immaculata*; Thysanoptera, такі як тютюнниковий трипс *Frankliniella fusca*, квітковий трипс *Frankliniella intonsa*, західний квітковий трипс *Frankliniella occidentalis*, трипс бруньок бавовнику *Frankliniella schultzei*, декоративний трипс *Hercinothrips femoralis*, соевий трипс *Neohydatothrips variabilis*, цитрусовий трипс *Pezothrips kellyanus*, трипс авокадо *Scirtothrips perseae*, трипс дині *Thrips palmi*, та тютюновий трипс *Thrips tabaci*; тощо, та комбінації, що містять один або більше вищевказаних організмів.

У деяких варіантах втілення, експресія одного або більше протеїнів токсинів (наприклад, інсектицидні протеїни) у рослинах толерантних до ППО-інгібуючих гербіцидів є ефективною для боротьби із земляними блошками, наприклад, членами триби земляних блошок родини Chrysomelidae, бажано із *Phyllotreta* spp., такими як *Phyllotreta cruciferae* та/або *Phyllotreta triolata*. У інших варіантах втілення, експресія одного або більше протеїнів токсинів (наприклад, інсектицидні протеїни) у рослинах толерантних до ППО-інгібуючих гербіцидів є ефективною для боротьби із рапсовим насінним ськритнохоботником, латуковою совкою, жуками *Lygus*, або капустяною міллю.

Більш того, у одному варіанті втілення, рослини толерантні до ППО-інгібуючих гербіцидів також включають рослини, які, наприклад, шляхом застосування технік рекомбінантної ДНК та/або селекції та/або іншим чином відібрані щодо певних ознак, здатні синтезувати один або більше протеїнів для підвищення резистентності або толерантності цих рослин до бактеріальних, вірусних або грибкових патогенів. Способи одержання таких генетично модифікованих рослин відомі фахівцям у галузі.

Більш того, у іншому варіанті втілення, рослини толерантні до ППО-інгібуючих гербіцидів також включають рослини, які, наприклад, шляхом застосування технік рекомбінантної ДНК та/або селекції та/або іншим чином відібрані щодо певних ознак, здатні синтезувати один або більше протеїнів для підвищення продуктивності (наприклад, вмісту олії), толерантності до посухи, солоності або інших факторів навколишнього середовища, що обмежують ріст, або толерантності до шкідників та грибків, бактеріальних або вірусних патогенів цих рослин.

Більш того, у інших варіантах втілення, рослини толерантні до ППО-інгібуючих гербіцидів також включають рослини, які, наприклад, шляхом застосування технік рекомбінантної ДНК та/або селекції та/або іншим чином відібрані щодо певних ознак, змінені щоб містити модифіковану кількість однієї або більше сполук або нових сполук, наприклад, для покращення харчування людини або тварини, наприклад, олійні зернові, що продукують омега-3 жирні кислоти з довгим ланцюгом або ненасичені омега-9 жирні кислоти, які покращують здоров'я (наприклад, капуста Nexera(R), Dow Agro Sciences, Канада).

Більш того, у деяких варіантах втілення, рослини толерантні до ППО-інгібуючих гербіцидів також включають рослини, які, наприклад, шляхом застосування технік рекомбінантної ДНК та/або селекції та/або іншим чином відібрані щодо певних ознак, змінені щоб містити збільшену кількість вітамінів та/або мінералів, та/або покращений профіль нутрацевтичних сполук.

У одному варіанті втілення, рослини толерантні до ППО-інгібуючих гербіцидів даного винаходу, відносно рослини дикого типу, містять збільшену кількість або мають покращений профіль сполуки, вибраної з групи, яка включає: глюкозинолати (наприклад, глюкорафанін (4-метилсульфінілбутил-глюкозинолат), сульфорафан, 3-індолілметил-глюкозинолат (глюкобрасицин), 1-метокси-3-індолілметил-глюкозинолат (неоглюкобрасицин)); фенольні смоли

(наприклад, флавоноїди (наприклад, кверцетин, кемпферол), похідні гідроксициннамоїлу (наприклад, 1,2,2'-трисінапоїлгентиобіоза, 1,2-диферулоїлгентиобіоза, 1,2'-дисінапоїл-2-ферулоїлгентиобіоза, 3-О-кофеоїлхінна (неохлорогенна кислота)); та вітаміни та мінерали (наприклад, вітамін С, вітамін Е, каротін, фолієва кислота, ніацин, рібофлавін, тіамін, кальцій, залізо, магній, калію, селен та цинк).

У іншому варіанті втілення, рослини толерантні до ППО-інгібуючих гербіцидів даного винаходу, відносно рослини дикого типу, містять збільшену кількість або мають покращений профіль сполуки, вибраної з групи, яка включає: прогоїтрин; ізотіоціанати; індоли (продукти гідролізу глюकोзинолату); глутатіон; каротиноїди, такі як бета-каротін, лікопен, та каротиноїди хлорофілу, такі як лютеїн та зеаксанти; фенольні смоли, що містять флавоноїди, такі як флавоноли (наприклад, кверцетин, рутин), флавани/таніни (такі як проціанідини, що містять коумарин, проантоціанідини, катехіни та антоціани); флавоноли; фітоестрогени, такі як коуместани, лігнани, ресвератрол, ізофлавоноли, наприклад, геністеїн, даїдзетин та гліцетеїн; лактони резорциклінової кислоти; органосполуки сірки; фітостероли; терпеноїди, такі як карнозол, розмаринова кислота, гліциризин та сапоніни; хлорофіл; хлорофілі, цукри, антоціани та ваніль. У інших варіантах втілення, рослини толерантні до ППО-інгібуючих гербіцидів даного винаходу, відносно рослини дикого типу, містять збільшену кількість або мають покращений профіль сполуки, вибраної з групи, яка включає: вінкрістин, вінбластин, таксани (наприклад, таксол (паклітаксель), бакатин III, 10-десацетилбаккатин III, 10-десацетил таксол, ксилозил таксол, 7-епітаксол, 7-епібаккатин III, 10-десацетилцефаломанін, 7-епіцефаломанін, таксотер, цефаломанін, ксилозил цефаломанін, таксагіфін, 8-бенксоїлокси таксагіфін, 9-ацетилокси таксузин, 9-гідрокси таксузин, тайванксам, таксан Ia, таксан Ib, таксан Ic, таксан Id, GMP паклітаксель, 9-дигідро 13-ацетилбаккатин III, 10-десацетил-7-епітаксол, тетрагідроканабінол (THC), канабідіол (CBD), геністеїн, даїдзетин, кодеїн, морфін, хінін, шиконін, аджмалацин, серпентин, тощо.

Зрозуміло, що рослина даного винаходу може містити нуклеїнову кислоту ППО дикого типу або мутованої ППО. Передбачається, що лінії толерантні до ППО-інгібуючих гербіцидів можуть містити мутацію тільки у одному з чисельних ізоферментів ППО. Тому, даний винахід включає рослину, що містить одну або більше нуклеїнових кислот мутованої ППО. Більш того, включає рослину, що містить одну або більше нуклеїнових кислот ППО дикого типу.

У іншому варіанті втілення, винахід стосується насіння, одержаного з трансгенної рослини, що містить рослинну клітину даного винаходу, де насіння є гомозиготним щодо підвищеної резистентності до ППО-інгібуючого гербіциду, порівняно із насінням рослини дикого типу.

У іншому варіанті втілення, винахід стосується способу одержання трансгенної рослинної клітини із підвищеною резистентністю до ППО-інгібуючого гербіциду, порівняно із рослинною клітиною дикого типу, який включає трансформування рослинної клітини експресійною касетою, що містить нуклеїнову кислоту мутованої ППО.

У іншому варіанті втілення, винахід стосується способу одержання трансгенної рослини, який включає (а) трансформування рослинної клітини експресійною касетою, що містить нуклеїнову кислоту мутованої ППО, та (b) генерування рослини із підвищеною резистентністю до ППО-інгібуючого гербіциду з рослинної клітини.

Відповідно, нуклеїнові кислоти мутованої ППО винаходу забезпечуються у експресійних касетах для експресії у бажаній рослині. Касета містить регуляторні послідовності, операбельно зв'язані із послідовністю нуклеїнової кислоти мутованої ППО винаходу. Термін "регуляторний елемент" як використано у даному документі, стосується полінуклеотиду здатного регулювати транскрипцію операбельно зв'язаного полінуклеотиду. Він включає, проте не обмежується наступними: промотори, енхансери, інтрони, 5' UTR та 3' UTR. "Операбельно зв'язані" означає функціональний зв'язок між промотором та другою послідовністю, де промоторна послідовність ініціює та опосередковує транскрипцію послідовності ДНК, що відповідає другій послідовності. В цілому, операбельно зв'язані означає, що послідовності нуклеїнових кислот, що зв'язують, є суміжними та у разі потреби приєднують до кодувальних ділянок, суміжних у одній рамці читування. Касета може додатково містити щонайменше один додатковий ген для спів-трансформації у організм. Альтернативно, додатковий(і) ген(и) можуть бути забезпечені у чисельних експресійних касетах.

Таку експресійну касету одержують із множинними сайтами рестрикції для вставки послідовності нуклеїнової кислоти мутованої ППО, транскрипція якої регулюється регуляторними ділянками. Експресійна касета може додатково містити селективні маркерні гени.

Експресійна касета даного винаходу має у напрямку 5'-3' транскрипції ділянку ініціювання транскрипції та трансляції (тобто, промотор), нуклеїнову кодувальну послідовність мутованої

ППО винаходу, та ділянку термінації транскрипції та трансляції (тобто, ділянку термінації), функціональні у рослинах. Промотор може бути нативним або аналогічним, або чужорідним або гетеро логічним рослині хазяїну та/або послідовності нуклеїнової кислоти мутованої ППО винаходу. Окрім цього, промотор може бути природною послідовністю або альтернативно штучною послідовністю. Коли промотор є «чужорідним» або "гетерологічним" рослині хазяїну, вважається, що промотор відсутній у нативній рослині, в яку його вводять. Коли промотор є «чужорідним» або "гетерологічним" послідовності нуклеїнової кислоти мутованої ППО винаходу, вважається, що промотор не є нативним або природним промотором для операбельно зв'язаної послідовності нуклеїнової кислоти мутованої ППО винаходу. Як використано у даному документі, гібридний ген містить кодувальну послідовність операбельно зв'язану із ділянкою ініціювання транскрипції, яка є гетерологічною до кодувальної послідовності.

Хоча бажано експресувати нуклеїнові кислоти мутованої ППО винаходу, використовуючи гетерологічні промотори, нативний промотор також може бути використаний. Такі конструкти змінюють рівень експресії протеїну мутованої ППО у рослині або рослинній клітині. Таким чином, змінюється фенотип рослини або рослинної клітини.

Ділянка термінації може бути нативною ділянці ініціювання транскрипції, може бути нативною операбельно зв'язаною нуклеїновою послідовністю мутованої ППО, може бути нативною рослині хазяїну, або може походити з іншого джерела (тобто, чужорідною або гетерологічною до промотору, послідовності нуклеїнової кислоти мутованої ППО, рослині хазяїна або будь-якої їх комбінації). Зручні ділянки термінації доступні з *Ti*-плазмід *A. tumefaciens*, такі як ділянки термінації октопінсинтази та нопалінсинтази. Дивитись також Guerineau et al. (1991) *Mol. Gen. Genet.* 262: 141-144; Proudfoot (1991) *Cell* 64:671-674; Sanfacon et al. (1991) *Genes Dev.* 5: 141-149; Mogen et al. (1990) *Plant Cell* 2: 1261-1272; Munroe et al. (1990) *Gene* 91: 151-158; Ballas et al. (1989) *Nucleic Acids Res.* 17:7891-7903; and Joshi et al. (1987) *Nucleic Acid Res.* 15:9627-9639. У разі потреби, гени можуть бути оптимізовані на підвищену експресію у трансформованій рослині. Тобто, гени можуть бути синтезовані, використовуючи бажані рослинні кодони для покращеної експресії. Дивитись, наприклад, Campbell and Gowri (1990) *Plant Physiol.* 92: 1-11, де розглядають використання бажаного для хазяїна кодону. Способи синтезу бажаних рослинних генів є доступними у галузі. Дивитись, наприклад, патенти США № 5,380,831 та 5,436,391, та Murray et al. (1989) *Nucleic Acids Res.* 17:477-498, включені за допомогою посилань.

Додаткові модифікації послідовності покращують експресію гену у клітинному хазяїні. Вони включають видалення послідовностей, що кодують помилкові сигнали поліаденілування, сигнали сплайс сайтів екзон-інтрон, транспозон-подібні повтори, та інші добре характеризовані послідовності, що можуть бути шкідливими для експресії гену. Вміст G-C у послідовності може бути встановлено на середньому рівні для певного клітинного хазяїна, що розраховують із посиленням на відомі експресовані гени у клітині хазяїні. У разі потреби, послідовність модифікують для уникнення передбачених шпилькових вторинних мРНК структур. Нуклеотидні послідовності для покращення експресії гену також можуть бути використані у рослинних векторах експресії. Вони включають інтрони кукурудзи *Adhl*, ген без інтронів (Callis et al. *Genes and Development* 1: 1183-1200, 1987), та лідерні послідовності (*W*-послідовність) з вірусу тютюнової мозаїки (TMV), вірусу хлорозної гнилі кукурудзи та вірусу мозаїки люцерни (Gallie et al. *Nucleic Acid Res.* 15:8693-8711, 1987 and Skuzeski et al. *Plant Mol. Biol.* 15:65-79, 1990). Перший інтрон з локусу *shrunken-1* кукурудзи показав підвищення експресії генів у гібридних генних конструктах. Патенти США № 5,424,412 та 5,593,874 описують застосування специфічних інтронів у генних експресійних конструктах, та Gallie et al. (*Plant Physiol.* 106:929-939, 1994) також показали, що інтрони придатні для регулювання експресії гену на тканино-специфічній основі. Для подальшого покращення або оптимізації експресії гену мутованої ППО, рослинні вектори експресії винаходу також можуть містити ДНК послідовності, що містять ділянки приєднання матриці (MAR). Рослинні клітини, трансформовані такими модифікованими системами експресії, потім можуть проявляти надекспресію або конститутивну експресію нуклеотидної послідовності винаходу.

Експресійні касети даного винаходу також можуть містити 5' лідерні послідовності у конструкті експресійної касети. Такі лідерні послідовності можуть покращувати трансляцію. Лідери трансляції відомі у галузі та включають: лідери пікорнавірусу, наприклад, лідер EMCV (5' некодуюча ділянка енцефаломіокардиту) (Elroy-Stein et al. (1989) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86:6126-6130); лідери потівірусу, наприклад, лідер TEV (вірус гравіювання тютюника) (Gallie et al. (1995) *Gene* 165(2):233-238), лідер MDMV (вірус карликової мозаїки кукурудзи) (*Virology* 154:9-20), та протеїн, що зв'язує важкий ланцюг людського імуноглобуліну (BiP) (Macejak et al. (1991) *Nature* 353:90-94); нетрансльований лідер з поверхневого протеїну РНК вірусу мозаїки люцерни (AMV RNA 4) (Jobling et al. (1987) *Nature* 325:622-625); лідер вірусу мозаїки тютюника

(TMV) (Gallie et al. (1989) in *Molecular Biology of RNA*, ed. Cech (Liss, New York), pp. 237-256); та лідер вірусу хлорозної плямистості кукурудзи (MCMV) (Lommel et al. (1991) *Virology* 81:382-385). Дивитись також, Della-Cioppa et al. (1987) *Plant Physiol.* 84:965-968. Також можуть бути застосовані інші способи, що покращують трансляцію, наприклад, інтрони, тощо.

При одержанні експресійної касети, різні ДНК фрагменти можуть бути використані таким чином, щоб забезпечити послідовності ДНК у потрібному розташуванні та у потрібній рамці зчитування. З цією метою можуть бути застосовані адаптери або лінкери для приєднання ДНК фрагментів, або можуть бути здійснені інші дії для забезпечення придатними сайтами рестрикції, видалення надлишкової ДНК, видалення сайтів рестрикції тощо. З цією метою, використовують *in vitro* мутагенез, відновлення праймеру, рестрикція, відпалення, повторне заміщення, наприклад, транзиція та трансверсія.

У практиці винаходу можуть бути використані численні промотори. Промотори вибирають залежно від бажаного результату. Нуклеїнові кислоти можуть бути об'єднані із конститутивними, тканино-переважними або іншими промоторами для експресії у рослині. Такі конститутивні промотори включають, наприклад, коровий промотор Rsyn7 промотору, та інші конститутивні промотори, описані у WO 99/43838 та патенті США № 6,072,050; коровий CaMV 35S промотор (Odell et al. (1985) *Nature* 313:810-812); актин рису (McElroy et al. (1990) *Plant Cell* 2: 163-171); убіквітин (Christensen et al. (1989) *Plant Mol. Biol.* 12:619-632 and Christensen et al. (1992) *Plant Mol. Biol.* 18:675-689); pEMU (Last et al. (1991) *Theor. Appl. Genet.* 81:581- 588); MAS (Velten et al. (1984) *EMBO J.* 3:2723-2730); ALS промотор (патент США № 5,659,026), тощо. Інші конститутивні промотори включають, наприклад, описані у патентах США № 5,608,149; 5,608,144; 5,604,121; 5,569,597; 5,466,785; 5,399,680; 5,268,463; 5,608,142 та 6,177,611.

Тканино-переважні промотори використовують для спрямовування покращеної експресії мутованої ППО у певну тканину рослини. Такі тканино-переважні промотори включають, проте не обмежуються наступними: листя-переважні промотори, коріння- переважні промотори, насіння- переважні промотори та стебло- переважні промотори. Тканино-переважні промотори включають Yamamoto et al. (1997) *Plant J.* 12(2):255-265; Kawamata et al. (1997) *Plant Cell Physiol.* 38(7):792-803; Hansen et al. (1997) *Mol. Gen Genet.* 254(3):337-343; Russell et al. (1997) *Transgenic Res.* 6(2): 157-168; Rinehart et al. (1996) *Plant Physiol.* 112(3): 1331-1341; Van Camp et al. (1996) *Plant Physiol.* 112(2):525-535; Canevascini et al. (1996) *Plant Physiol.* 112(2):513-524; Yamamoto et al. (1994) *Plant Cell Physiol.* 35(5):773-778; Lam (1994) *Results Probl. Cell Differ.* 20: 181- 196; Orozco et al. (1993) *Plant Mol Biol.* 23(6): 1129-1138; Matsuoka et al. (1993) *Proc Natl. Acad. Sci. USA* 90(20):9586-9590; та Guevara-Garcia et al. (1993) *Plant J.* 4(3):495-505. Такі промотори можуть бути модифіковані, у разі потреби, для слабкої експресії. У одному варіанті втілення, бажані нуклеїнові кислоти спрямовуються у хлоропласт для експресії.

Таким чином, коли бажана нуклеїнова кислота не вводиться безпосередньо у хлоропласт, експресійна касета буде додатково містити хлоропласт-спрямовуючу послідовність, що містить нуклеотидну послідовність, яка кодує транзитний пептид хлоропласту, для спрямовування бажаного генного продукту у хлоропласти. Такі транзитні пептиди відомі у галузі. Відносно хлоропласт-спрямовуючих послідовностей, "операбельно зв'язані" означає, що послідовність нуклеїнової кислоти, яка кодує транзитний пептид (тобто, хлоропласт-спрямовуючу послідовність) зв'язана із нуклеїновою кислотою мутованої ППО винаходу, так що дві послідовності є суміжними та знаходяться у одній рамці зчитування. Дивитись, наприклад, Von Heijne et al. (1991) *Plant Mol. Biol. Rep.* 9: 104-126; Clark et al. (1989) *J. Biol. Chem.* 264:17544-17550; Della-Cioppa et al. (1987) *Plant Physiol.* 84:965-968; Romer et al. (1993) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 196:1414-1421; та Shah et al. (1986) *Science* 233:478-481. Хоча протеїни мутованої ППО винаходу включають нативний транзитний пептид хлоропласту, будь-який транзитний пептид хлоропласту відомий у галузі може бути конденсований із амінокислотною послідовністю зрілого протеїну мутованої ППО винаходу шляхом операбельного зв'язування хлоропласт-спрямовуючої послідовності із 5'-кінцем нуклеотидної послідовності, яка кодує зрілий протеїн мутованої ППО винаходу. Хлоропласт спрямовуючі послідовності відомі у галузі та включають малу субодиницю рібулозо-1,5-бісфосфат карбоксилази хлоропласту (Rubisco) (de Castro Silva Filho et al. (1996) *Plant Mol. Biol.* 30:769-780; Schnell et al. (1991) *J. Biol. Chem.* 266(5):3335-3342); 5 -(енолпірувіл)шикімат-3-фосфатсиентазу (EPSPS) (Archer et al. (1990) *J. Bioenerg. Biomemb.* 22(6):789-810); триптофансинтазу (Zhao et al. (1995) *J. Biol. Chem.* 270(11):6081-6087); пластоціанін (Lawrence et al. (1997) *J. Biol. Chem.* 272(33):20357-20363); хоризматсинтаза (Schmidt et al. (1993) *J. Biol. Chem.* 268(36):27447-27457); та світло поглинаючий хлорофіл а/б зв'язуючий протеїн (LHBP) (Lamppa et al. (1988) *J. Biol. Chem.* 263: 14996-14999). Дивитись також Von Heijne et al. (1991) *Plant Mol. Biol. Rep.* 9: 104- 126; Clark et al. (1989) *J. Biol. Chem.* 264:17544-17550; Della-Cioppa et al. (1987) *Plant Physiol.* 84:965-968; Romer

et al. (1993) Biochem. Biophys. Res. Commun. 196: 1414-1421; and Shah et al. (1986) Science 233:478-481.

У переважному варіанті втілення, спрямовуюча послідовність містить нуклеотидну послідовність, що кодує транзитний пептид, який містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 49, 50, 51, 52 або 53 (фередоксин транзитний пептид Fdxt_p). Бажано, нуклеїнова кислота, яка кодує транзитний пептид, є операбельно зв'язаною так, що транзитний пептид є конденсованим із валіном у положенні 46 послідовності SEQ ID NO: 2 або 4.

У іншому переважному варіанті втілення, нуклеїнова кислота, яка кодує транзитний пептид, є операбельно зв'язаною так, що транзитний пептид є конденсованим із аспарагіною кислотою у положенні 71 послідовності SEQ ID NO: 48.

У особливо переважному варіанті втілення, послідовність нуклеїнової кислоти, яка кодує транзитний пептид, містить SEQ ID NO: 54 (для експресії у кодон-оптимізованій нуклеїновій кислоті кукурудзи, що кодує фередоксин транзитний пептид *Silene pratensis*) або SEQ ID NO: 55 (для експресії у кодон-оптимізованій нуклеїновій кислоті сої, що кодує фередоксин транзитний пептид *Silene pratensis*).

Способи трансформації хлоропластів відомі у галузі. Дивитись, наприклад, Svab et al. (1990) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:8526-8530; Svab and Maliga (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:913-917; Svab and Maliga (1993) EMBO J. 12:601-606. Спосіб базується на доставці ДНК частинок за допомогою генної рушні, що містить селективний маркер, та спрямовування ДНК у геном пластид за допомогою гомологічної рекомбінації. Окрім цього, трансформація пластид супроводжується трансактивацією мовчазного трансгену пластиди за допомогою тканино-переважної експресії РНК-полімерази, що кодується у ядрі та спрямовується у пластиду. Така система була описана у McBride et al. (1994) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91:7301-7305. Нуклеїнові кислоти, що спрямовують у хлоропласт, можуть бути оптимізовані для експресії у хлоропласті для пояснення різниці у використанні кодону між рослинним ядром та цією органелою. Таким чином, бажані нуклеїнові кислоти можуть бути синтезовані, використовуючи хлоропласт-переважні кодони. Дивитись, наприклад, патент США № 5,380,831, включений за допомогою посилання.

У переважному варіанті втілення, нуклеїнова кислота мутованої ППО містить полінуклеотидну послідовність з групи, яка складається з: а) полінуклеотиду із SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45 або 47, або її варіантом або похідною; б) полінуклеотиду, що кодує поліпептид із SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46 або 48, або її варіантом або похідною; в) полінуклеотиду, що містить щонайменше 60 послідовних нуклеотидів з будь-якої з а) або б); та г) полінуклеотиду комплементарного полінуклеотиду з будь-якої з а) - в).

Переважно, експресійна касета за даним винаходом також містить регуляторну ділянку ініціації транскрипції та регуляторну ділянку ініціації трансляції, що функціонують у рослині

Хоча полінуклеотиди винаходу використовують як селективні маркерні гени для трансформації рослин, експресійні касети винаходу можуть включати інший селективний маркерний ген для відбору трансформованих клітин. Селективні маркерні гени, включаючи гени даного винаходу, використовують для відбору трансформованих клітин або тканин. Маркерні гени включають, проте не обмежуються генами, що кодують резистентність до антибіотиків, такими як гени, що кодують неоміцин фосфотрансферазу II (NEO) та гіроміцин фосфотрансферазу (HPT), а також генами, що забезпечують резистентність до гербіцидів, таких як глюфосинат амонію, бромоксиніл, імідазоліони та 2,4-дихлорфеноксиацетат (2,4-D). Дивитись Yarranton (1992) Curr. Opin. Biotech. 3 :506-511 ; Christophers on et al (1992) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:6314-6318; Yao et al. (1992) Cell 71:63-72; Reznikoff (1992) Mol Microbiol 6:2419-2422; Barkley et al (1980) in The Operon, pp. 177-220; Hu et al (1987) Cell 48:555-566; Brown et al (1987) Cell 49:603-612; Figge et al (1988) Cell 52:713-722; Deuschle et al (1989) Proc. Natl Acad. Sci. USA 86:5400-5404; Fuerst et al (1989) Proc. Natl Acad. Sci. USA 86:2549-2553; Deuschle et al (1990) Science 248:480-483; Gossen (1993) Ph.D. Thesis, University of Heidelberg; Reines et al (1993) Proc. Natl Acad. Sci. USA 90: 1917-1921; Labow et al (1990) Mol Cell Biol 10:3343-3356; Zambretti et al (1992) Proc. Natl Acad. Sci. USA 89:3952-3956; Bairn et al (1991) Proc. Natl Acad. Sci. USA 88:5072-5076; Wyborski et al (1991) Nucleic Acids Res. 19:4647-4653; Hillenand-Wissman (1989) Topics Mol Struc. Biol 10: 143- 162; Degenkolb et al (1991) Antimicrob. Agents Chemother. 35: 1591-1595; Kleinschmidt et al (1988) Biochemistry 27: 1094-1104; Bonin (1993) Ph.D. Thesis, University of Heidelberg; Gossen et al (1992) Proc. Natl Acad. Sci. USA 89:5547- 5551; Oliva et al (1992) Antimicrob. Agents Chemother. 36:913-919; Hlavka et al (1985) Handbook of Experimental Pharmacology, Vol. 78 (Springer-Verlag, Berlin); Gill et al (1988) Nature 334:721-724. Ці документи включені за допомогою посилань. Вищенаведений перелік

селективних маркерних генів не є обмежувальним. У даному винаходу може бути використаний будь-який селективний маркерний ген.

Винахід також стосується виділеного рекомбінантного вектору експресії, що містить експресійну касету, яка містить нуклеїнову кислоту мутованої ППО як описано вище, де експресія вектору у клітині хазяїні приводить до підвищеної толерантності до ППО-інгібуючого гербіциду, порівняно із клітиною хазяїном з рослини дикого типу. Як використано у даному документі, термін “вектор” стосується молекули нуклеїнової кислоти, здатної транспортувати іншу нуклеїнову кислоту, до якої вона була прив’язана. Одним типом векторів є “плазмід”, яка стосується кільцевої дво-спіральної ДНК петлі, у яку можуть бути ліговані додаткові сегменти ДНК. Іншим типом векторів є вірусний вектор, де більш того, всі сегменти ДНК можуть бути ліговані у вірусний геном. Певні вектори здатні до автономної реплікації у клітині хазяїні, у яку вони введені (наприклад, бактеріальні вектори, що мають бактеріальне походження векторів реплікації та епісомальних векторів ссавців). Інші вектори (наприклад, неепісомальні вектори ссавців) інтегрують у геном клітини хазяїна під час введення у клітину хазяїна, та таким чином вони реплікуються разом із геномом хазяїна. Більш того, певні вектори здатні спрямовувати експресію генів, з якими вони є операбельно зв’язаними. Такі вектори називають “вектори експресії”. В цілому, вектори експресії, що використовують у техніках рекомбінантної ДНК, зазвичай мають форму плазмід. У даному описі, “плазмід” та “вектор” використовують взаємозамінно як плазмід, що є найбільш поширеною формою використання вектору. Однак, винахід використовує і інші форми векторів експресії, такі як вірусні вектори (наприклад, ретровіруси із дефективною реплікацією, аденовіруси та адено-асоційовані віруси), що виконують еквівалентні функції.

Рекомбінантні вектори експресії винаходу містять нуклеїнову кислоту винаходу у формі, придатної для експресії нуклеїнової кислоти у клітині хазяїні, що означає, що рекомбінантні вектори експресії включають одну або більше регуляторних послідовностей, відібраних на основі клітин хазяїнів, що використовують для експресії, які є операбельно зв’язані із послідовністю нуклеїнової кислоти, що експресують. Регуляторні послідовності включають послідовності, що спрямовують конститутивну експресію нуклеотидної послідовності у багатьох видах клітин хазяїв, та послідовності, що спрямовують експресію нуклеотидної послідовності тільки у певних клітинах хазяїв або за певних умов. Фахівцю у галузі зрозуміло, що дизайн вектору експресії залежить від таких факторів як вибір клітини хазяїна, що трансформують, рівня експресії бажаного поліпептиду, тощо. Вектори експресії винаходу можуть бути введені у клітини хазяїни таким чином продукуючи поліпептиди або пептиди, включаючи гібридні поліпептиди або пептиди, що кодуються нуклеїновими кислотами як описано у даному документі (наприклад, поліпептиди мутованої ППО, гібридні поліпептиди тощо).

У переважному варіанті втілення даного винаходу, поліпептиди мутованої ППО експресуються у рослинах та рослинних клітинах, таких як одноклітинні рослинні клітини (такі як водорості) (дивитись Falciatore et al., 1999, *Marine Biotechnology* 1(3):239-251 та посилання) та рослинні клітини вищих рослин (наприклад, сперматофіти, такі як культурні рослини). Полінуклеотид мутованої ППО може бути “введений” у рослинну клітину будь-яким чином, включаючи трансфекцію, трансформацію або трансдукцію, електропорацію, бомбардування частинками, агроінфекування, біолистіку тощо.

Придатні способи трансформування або трансфекції клітин хазяїнів, включаючи рослинні клітини, можна знайти у Sambrook et al. (*Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. 2nd, ed., Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 1989) та інших лабораторних посібниках, таких як *Methods in Molecular Biology*, 1995, Vol. 44, *Agrobacterium protocols*, ed: Gartland and Davey, Humana Press, Totowa, New Jersey. З огляду на те, що підвищена толерантність до ППО-інгібуючих гербіцидів є головною властивістю, яку бажано повинні надбати різні види рослин, включаючи кукурудзу, пшеницю, ріж, овес, тритикале, рис, ячмінь, соя, арахіс, бавовник, рапс та канولا, маніока, перець, соняшник та чорнобривці, пасльонові, такі як картопля, тютюнник, баклажан та томати, вили *Vicia*, горіх, люцерна, куші (кава, какао, чай), види *Salix*, дерева (олійна пальма, кокосовий горіх), багаторічні трави та фуражні культури, ці культурні рослини також є переважними рослинами мішенями для генної інженерії, як варіант втілення даного винаходу. У переважному варіанті втілення, рослина є культурною рослиною. Фуражні культури включають, проте не обмежуються наступними: пирій, канаркова трава, стокolos, пирійник, тонконіг луговий, грестиця збірна, люцерна, *Salfoin*, лядвенець рогатий, гібридна конюшина, червона конюшина та солодка конюшина.

У одному варіанті втілення даного винаходу, трансфекцію полінуклеотиду мутованої ППО у рослину здійснюють трансфером генів, опосередкованим *Agrobacterium*. Одним з відомих

способів трансформації є занурювання квітучої рослини у розчин з агробактеріями, де агробактерії містять нуклеїнову кислоту мутованої ППО, після чого розведення трансформованих гамет. Трансформацію рослин, опосередковану агробактеріями, можна здійснити, використовуючи, наприклад, штами *Agrobacterium tumefaciens* GV3101(pMP90) (Koncz and Schell, 1986, Mol. Gen. Genet. 204:383-396) або LBA4404 (Clontech). Трансформацію здійснюють за допомогою стандартної трансформації та технік регенерації (Deblaeere et al., 1994, Nucl. Acids. Res. 13:4777-4788; Gelvin, Stanton B. and Schilperoort, Robert A, Plant Molecular Biology Manual, 2nd Ed. - Dordrecht : Kluwer Academic Publ., 1995. - in Sect., Ringbuc Zentrale Signatur: BT11-P ISBN 0-7923-2731-4; Glick, Bernard R. and Thompson, John E., Methods in Plant Molecular Biology and Biotechnology, Boca Raton : CRC Press, 1993 360 S., ISBN 0-8493-5164-2). Наприклад, рапс можна трансформувати трансформацією сім'ядолі або гіпокотилу (Moloney et al., 1989, Plant Cell Report 8:238-242; De Block et al., 1989, Plant Physiol. 91:694-701). Застосування антибіотиків для агробактерій та селекції рослин залежить від бінарного вектора та штаму агробактерій, використаних для трансформації. Селекцію рапсу зазвичай здійснюють, використовуючи канаміцин як селективний рослинний маркер. Трансфер генів, опосередкований *Agrobacterium*, у льон здійснюють, використовуючи, наприклад, техніку описану Mlynarova et al., 1994, Plant Cell Report 13:282-285. Окрім цього, трансформацію сої здійснюють, використовуючи, наприклад, техніку описану у європейському патенті № 0424 047, патенті США № 5,322,783, європейському патенті № 0397 687, патенті США № 5,376,543, або патенті США № 5,169,770. Трансформацію кукурудзи здійснюють, використовуючи бомбардування частинками, поліетиленгліколь-опосередкованим захватом ДНК, або технологією силікон-карбідного волокна (дивитись, наприклад, Freeling and Walbot "The maize handbook" Springer Verlag: New York (1993) ISBN 3-540-97826-7). Конкретний приклад трансформації кукурудзи можна знайти у патенті США №5,990,387, та конкретний приклад трансформації пшениці можна знайти у заявці PCT WO 93/07256.

У даному винаході, введений полінуклеотид мутованої ППО стабільно підтримується у рослинній клітині, якщо він включений у нехромосомний автономний реплікон або інтегрований у хромосоми рослини. Альтернативно, введений полінуклеотид мутованої ППО може знаходитись у екстра-хромосомному не-реплікативному вектору та бути тимчасово експресованим або активним. У одному варіанті втілення, може бути створений гомологічний рекомбінантний мікроорганізм, де полінуклеотид мутованої ППО інтегровано у хромосому, одержують вектор, що містить щонайменше частину гену ППО, куди ввели делецію, додавання або заміщення, таким чином змінивши, наприклад, функціонально зруйнувавши ген ендегенної ППО та створивши ген мутованої ППО. Для створення точкової мутації за допомогою гомологічної рекомбінації, можуть бути використані ДНК-РНК гібриди у техніці, відомій як хімерапластика (Cole-Strauss et al., 1999, Nucleic Acids Research 27(5):1323-1330 and Kmiec, 1999, Gene therapy American Scientist 87(3):240-247). Інші способи гомологічної рекомбінації для видів *Triticum* добре відомі у галузі та використовуються у даному винаході.

У векторі гомологічної рекомбінації, ген мутованої ППО може граничити на своїх 5' та 3' кінцях із додатковою молекулою нуклеїнової кислоти гену ППО з тим щоб гомологічна рекомбінація здійснювалась між геном екзогенної мутованої ППО, спрямованої вектором, та геном ендегенної ППО, у мікроорганізмі або рослині. Додаткові прилеглі молекули нуклеїнової кислоти ППО мають достатню довжину для вдалої гомологічної рекомбінації із ендегенним геном. Зазвичай, декілька сотень пар до тисяч нуклеотидів прилеглої ДНК (як на 5' так і на 3' кінці) включені у вектор (дивитись, наприклад, Thomas, K. R., and Capecchi, M. R., 1987, Cell 51:503 for a description of homologous recombination vectors or Strepp et al., 1998, PNAS, 95(8):4368-4373 for cDNA based recombination in *Physcomitrella patens*). Однак, з огляду на те, що ген мутованої ППО в нормі відрізняється від гену ППО незначною кількістю амінокислот, фланкуюча послідовність не завжди є необхідною. Вектор гомологічної рекомбінації вводять у мікроорганізм або рослинну клітину (наприклад, за допомогою поліетиленгліколь-опосередкованої ДНК), та клітини, в яких введений ген мутованої ППО пройшов гомологічну рекомбінацію із геном ендегенної ППО, відбирають, використовуючи відомі у галузі техніки.

У іншому варіанті втілення, можуть бути одержані рекомбінантні мікроорганізми, що містять селективні системи для регульованої експресії введеного гену. Наприклад, включення гену мутованої ППО у вектор, під контролем *lac* оперону, дозволяє експресію гену мутованої ППО тільки у присутності IPTG. Такі регуляторні системи добре відомі у галузі.

Інший аспект винаходу стосується клітин хазяїв, у які введено рекомбінантний вектор експресії винаходу. Терміни "клітина хазяїн" та "рекомбінантна клітина хазяїн" використовують взаємозамінно. Зрозуміло, що такі терміни стосуються не тільки конкретної клітини, а й потомства або потенційного потомства такої клітини. Внаслідок того, що у наступних поколіннях

можуть виникнути певні модифікації завдяки мутації або впливу зовнішнього середовища, таке потомство може і не бути ідентичним батьківській клітині, проте є включеним у даний термін, як використано у даному документі. Клітиною хазяїном може бути будь-яка прокаріотична або еукаріотична клітина. Наприклад, полінуклеотид мутованої ППО може бути експресованим у бактеріальних клітинах, таких як *S. glutamicum*, клітини комах, клітини грибів або клітини ссавців (наприклад, клітини яєчників китайського хом'ячка (CHO) або клітини COS), водоростях, війчастих, рослинних клітинах, грибах або інших мікроорганізмах як *S. glutamicum*. Інші придатні клітини хазяїни відомі у галузі.

Клітина хазяїн винаходу, наприклад, прокаріотична або еукаріотична клітина хазяїн у культурі, може бути використана для одержання (тобто, експресії) полінуклеотиду мутованої ППО. Відповідно, винахід також стосується способів одержання поліпептидів мутованої ППО, використовуючи клітини хазяїни винаходу. У одному варіанті втілення, спосіб включає культивування клітини хазяїна винаходу (у яку ввели рекомбінантний вектор експресії, який кодує поліпептид мутованої ППО, або у геном якої ввели ген, що кодує поліпептид мутованої ППО або ППО дикого типу) у придатному середовищі до одержання поліпептиду мутованої ППО. У іншому варіанті втілення, спосіб також включає виділення поліпептидів мутованої ППО з середовища або клітини хазяїна. Інший аспект винаходу стосується виділених поліпептидів мутованої ППО, та їх біологічно активних частин. "Виділений" або "очищений" поліпептид або його біологічно активна частина не містить деякого клітинного матеріалу при одержанні за техніками рекомбінантної ДНК, або хімічних попередників або інших хімікатів при хімічному синтезі. Вираз "по суті не містить клітинного матеріалу" включає препарати поліпептиду мутованої ППО, де поліпептид відділений від деяких клітинних компонентів клітин, в яких він природно або рекомбінантно продукується. У одному варіанті втілення, вираз "по суті не містить клітинного матеріалу" включає препарати поліпептиду мутованої ППО, що містять менше ніж приблизно 30% (за сухою масою) матеріалу не-мутованої ППО (який також називають "забруднюючий поліпептид"), більш бажано менше ніж приблизно 20% матеріалу не-мутованої ППО, ще більш бажано менше ніж приблизно 10% матеріалу не-мутованої ППО, та найбільш бажано менше ніж приблизно 5% матеріалу не-мутованої ППО.

Коли поліпептид мутованої ППО або його біологічно активна частина одержані рекомбінантно, також бажано по суті не містить культурального середовища, тобто, культуральне середовище складає менше ніж приблизно 20%, більш бажано менше ніж приблизно 10%, та найбільш бажано менше ніж приблизно 5% від об'єму препарату поліпептиду. Вираз "по суті вільний від хімічних попередників або інших хімікатів" включає препарати поліпептиду мутованої ППО, у яких поліпептид відділено від хімічних попередників або інших хімікатів, які приймають участь у синтезі поліпептиду. У одному варіанті втілення, вираз "по суті вільний від хімічних попередників або інших хімікатів" включає препарати поліпептиду мутованої ППО, що містять менше ніж приблизно 30% (за сухою масою) хімічних попередників або хімікатів не-мутованої ППО, більш бажано менше ніж приблизно 20% хімічних попередників або хімікатів не-мутованої ППО, ще більш бажано менше ніж приблизно 10% хімічних попередників або хімікатів не-мутованої ППО, та найбільш бажано менше ніж приблизно 5% хімічних попередників або хімікатів не-мутованої ППО. У бажаних варіантах втілення, виділені поліпептиди або їх біологічно активні частини не містять забруднюючих поліпептидів з того ж організму, з якого походить поліпептид мутованої ППО. Зазвичай, такі поліпептиди одержують за допомогою рекомбінантної експресії, наприклад, поліпептиду мутованої ППО, у рослинах, що не є, або у мікроорганізмах, таких як *S. glutamicum*, війчасті, водорості або гриби.

У інших аспектах, забезпечують спосіб обробки рослини даного винаходу.

У деяких варіантах втілення, спосіб включає контактування рослини із агрономічно прийнятною композицією.

У іншому аспекті, даний винахід стосується способу одержання насіння потомства. Спосіб включає висаджування насіння здатного розвинути у рослину даного винаходу. У одному варіанті втілення, спосіб також включає вирощування рослини потомка з насіння; та збір насіння з рослини потомка. У інших варіантах втілення, спосіб також включає нанесення ППО-інгібуючого гербіциду на рослину потомка.

У іншому варіанті втілення, винахід стосується врожайних частин трансгенної рослини даного винаходу. Бажано, врожайні частини містять нуклеїнову кислоту ППО або протеїн ППО даного винаходу. Врожайні частини представлені насінням, корінням, листям та/або квітками, що містять нуклеїнову кислоту ППО або протеїн ППО, або їх частинами. Бажані частини рослин сої представлені соєвими бобами, що містять нуклеїнову кислоту ППО або протеїн ППО.

У іншому варіанті втілення, винахід стосується продуктів, що походять з рослини даного

винаходу, її частин або врожайних частин. Переважним рослинним продуктом є корм, макуха, олія або насіння, вкрите обробним матеріалом. Бажано, корм та/або олія містять нуклеїнові кислоти мутованої ППО або протеїни ППО даного винаходу.

У іншому варіанті втілення, винахід стосується способу одержання продукту, де спосіб включає

- а) вирощування рослин винаходу або рослин, що одержують за способом винаходу, та
- б) одержання вказаного продукту з рослин винаходу та/або частин, наприклад, насіння цих рослин.

У наступному варіанті втілення, спосіб включає стадії:

- а) вирощування рослин винаходу,
- б) відділення врожайних частин, як визначено вище, з рослин та
- с) одержання вказаного продукту з врожайних частин винаходу.

Продукт може бути одержаний у місці, де вирощувалась рослина, рослини та/або їх частини можуть бути видалені з місця, де вирощувались рослини, для одержання продукту. Зазвичай, вирощують рослину, бажані врожайні частини відділяють від рослини, якщо можливо повторюваними циклами, та продукт одержують з врожайних частин рослини. Стадія вирощування рослини може бути здійснена тільки один раз під час здійснення способу, у той час як стадія одержання продукту може повторюватись, наприклад, шляхом повторного відділення врожайних частин від рослин, та у разі потреби подальша обробка цих частин до продукту. Також можливо повторювати стадію вирощування рослин винаходу, де рослини або врожайні частини зберігають до одержання продукту, та продукт одержують один раз після накопичення рослин або частин рослин. Також, стадії вирощування рослин та одержання продукту можуть здійснюватись із перекриттям у часі, навіть до більшої міри одночасно або послідовно. Зазвичай рослини вирощують певний час перед початком одержання продукту.

У одному варіанті втілення, продукти, одержані за вказаними способами винаходу, є рослинними продуктами, такими як, проте не обмежуючись наступними: продукти харчування, кормові продукти, харчова добавка, кормова добавка, волокно, косметика та/або фармацевтика. Продукти харчування означають композиції для харчування та/або додаткового харчування. Тваринні кормові продукти та тваринні кормові добавки відносяться до продуктів харчування.

У іншому варіанті втілення, способи винаходу використовують для одержання сільськогосподарських продуктів, таких як, проте не обмежуючись наступними: рослинні екстракти, протеїни, амінокислоти, вуглеводні, жири, олії, полімери, вітаміни, тощо.

Можливо щоб рослинний продукт більшою мірою складався з одного або більше сільськогосподарських продуктів.

Як описано вище, даний винахід стосується композицій та способів підвищення толерантності до ППО-інгібуючих гербіцидів культурної рослини або насіння, порівняно із рослиною або насінням дикого типу. У переважному варіанті втілення, толерантність до ППО-інгібуючих гербіцидів культурної рослини або насіння підвищують так щоб рослина або насіння могло витримати нанесення ППО-інгібуючого гербіциду у концентрації бажано приблизно 1-1000 г аі га⁻¹, більш бажано 1-200 г аі га⁻¹, ще більш бажано 5-150 г аі га⁻¹, та найбільш бажано 10-100 г аі га⁻¹. Як використано у даному документі, "витримати" нанесення ППО-інгібуючого гербіциду означає, що рослина не загинула або тільки помірно пошкоджена таким нанесенням. Фахівцю у галузі зрозуміло, що рівні нанесення можуть різнитись, залежно від умов навколишнього середовища, таких як температура та вологість, та залежно від вибраного гербіциду (активного інгредієнту, аі).

Більш того, даний винахід стосується способів, що включають застосування щонайменше одного ППО-інгібуючого гербіциду, необов'язково у комбінації із однією або більше гербіцидними сполуками В, та, необов'язково, сафенером С, як детально описано вище.

У цих способах, ППО-інгібуючий гербіцид може бути нанесений будь-яким відомим у галузі способом, включаючи, проте не обмежуючись наступними: обробка насіння, обробка ґрунту та обробка листя. Перед нанесенням, ППО-інгібуючий гербіцид може бути включений у стандартні композиції, наприклад, розчини, емульсії, суспензії, пил, порошки, пасти та гранули. Форма застосування залежить від мети; у кожному випадку, вона повинна забезпечувати однорідне та ретельне розподілення сполуки винаходу.

Для забезпечення рослин із підвищеною толерантністю до ППО-інгібуючого гербіциду, широке розмаїття композицій може бути використане для захисту рослин від бур'янів, для покращення росту рослин та зменшення конкуренції за харчові речовини. ППО-інгібуючий гербіцид може бути використаний сам по собі для боротьби із бур'янами перед сходження, після сходження та при посадці, на ділянках, що оточують культурні рослини, описані у даному

документі, або може бути використана композиція ППО-інгібуючого гербіциду, що містить інші добавки. ППО-інгібуючий гербіцид також може бути використаний для обробки насіння. Добавки до композиції ППО-інгібуючого гербіциду включають інші гербіциди, детергенти, ад'юванти, ліофілізуючі добавки, прилипачі, стабілізатори тощо. Композиція ППО-інгібуючого гербіциду може мати форму сухого або вологого препарату, та включає, проте не обмежується наступними: текучі порошки, здатні до емульгування концентрати та рідкі концентрати. ППО-інгібуючий гербіцид та гербіцидні композиції наносять згідно стандартних способів, наприклад, шляхом розпилення, зрошування, опилення тощо.

Придатні композиції детально описані у РСТ/EP2009/063387 та РСТ/EP2009/063386, включені за допомогою посилань.

Потрібно розуміти, що вищенаведене стосується бажаних варіантів втілення даного винаходу, та що можливі різноманітні модифікації, не відходячи від об'єму винаходу. Винахід далі проілюстровано наступними прикладами, які не є обмежувальними. Навпаки, потрібно розуміти, що можливі інші варіанти втілення, модифікації та їх еквіваленти, які після ознайомлення з описом, стануть очевидними фахівцю у галузі, не відходячи від духу даного винаходу та/або об'єму формули винаходу.

ПРИКЛАДИ

Приклад 1: Сайт-спрямований мутагенез ППО *Amaranthus*

Всі кодуєчі послідовності нуклеїнових кислот та всі одинарні та подвійні мутанти на основі SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, синтезували та клонували за допомогою Geneart (Geneart AG, Регнесбург, Германія). Мутантів раціонального проектування синтезували за допомогою Geneart. Рандомічні бібліотеки генів ППО синтезували за допомогою Geneart. Плазмиди виділяли з *E. coli* TOP10 шляхом мініпрепарація плазміни та підтверджували ДНК секвенуванням.

Приклад 2: Експресія та очистка рекомбінантної ППО дикого типу та мутантної ППО

(взяте з: Franck E. Dayan, Pankaj R. Daga, Stephen O. Duke, Ryan M. Lee, Patrick J. Tranel, Robert J. Doerksen. Biochemical and structural consequences of a glycine deletion in the α -8 helix of protoporphyrinogen oxidase. *Biochimica et Biophysica Acta* 1804 (2010), 1548-56). Клони у pRSET векторі трансформували у BL21(DE3)-pLysS штам *E. coli*. Клітини вирощували у 250 мл бульйону LB із 100 мкгмл⁻¹ карбеніциліну, струшуючи протягом ночі при 37 °C. Культури розводили у 1 л бульйону LB із антибіотиком та вирощували при 37 °C струшуючи протягом 2 годин, індукували 1 mM IPTG та вирощували при 25 °C струшуючи протягом ще 5 годин. Клітини збирали центрифугуванням при 1600×g, промивали 0,09% NaCl, та зберігали при -80 °C. Клітини лізували, використовуючи френч-прес при 140 МПа у 50 mM фосфату натрію pH 7,5, 1 M NaCl, 5 mM імідазолу, 5% гліцерині, та 1 мкг мл⁻¹ леупептині. Після лизису, додавали 0,5 од. бензонази (Novagen, EMD Chemicals, Inc., Грібстаун, NJ) та PMSF (фінальна концентрація 1 mM). Залишки клітин видаляли центрифугуванням при 3000×g. His-мічені ППО протеїни очищали на активованій нікелем колонці Hitrap Chelating HP (GE Healthcare Bio-Sciences Corp., Piscataway, NJ), збалансованій 20 mM фосфатом натрію pH 8,0, 50 mM NaCl, 5 mM імідазолом, 5 mM MgCl₂, 0,1mM EDTA, та 17% гліцерином. ППО елюювали із 250 mM імідазолом. Активний протеїн знесолювали на колонці PD-10 (GE Healthcare Bio-Sciences Corp., Piscataway, NJ) збалансованій 20 mM буфером фосфату натрію pH 7,5, 5 mM MgCl₂, 1 mM EDTA та 17% гліцерином. Кожен літр культури забезпечував приблизно 10 мг чистої ППО, яку зберігали при -20 °C до використання у аналізі.

Приклад 3: Ферментний аналіз ППО (не-рекомбінантний)

ППО протеїн (ЕС 1,3.3.4) екстрагували з сім'ядолей або пагонів (150 г свіжої маси) вирощених у темряві саджанців кукурудзи, пасльону чорного, іпомеї та лімnochарісу, як описано раніше (Grossmann et al. 2010). Перед збором, саджанці витримували до появи зелені протягом 2 годин на світлі з метою отримання найвищої специфічної активності ферменту у тілакоїдних фракціях при низьких концентраціях хлорофілу. При високих концентраціях хлорофілу має місце значне послаблення флуоресценції, що обмежує кількість зелених тілакоїдів, які можуть бути використані у тесті. Рослинний матеріал гомогенізували у холоді блендером Braun, використовуючи свіжа маса - об'єм у співвідношенні 1:4. Буфер для гомогенізації складався з тріс(гідроксиметил)амінометану (Tris)-HCl (50 mM; pH 7,3), цукрози (0,5 M), хлориду магнію (1 mM), етилендіамінтетраоцтової кислоти (EDTA) (1 mM) та альбуміну сироватки теля (2 г л⁻¹). Після фільтрування крізь чотири шари Miracloth, неочищені препарати пластид одержували після центрифугування при 10 000 × g протягом 5 хв. та ре суспендування у буфері для гомогенізації перед центрифугуванням при 150 × g протягом 2 хв. для видалення рештків клітин. Супернатант центрифугували при 4000 × g протягом 15 хв. та осаджену фракцію ресуспендували у 1 мл буферу, що містив Tris-HCl (50 mM; pH 7,3), EDTA (2 mM), леупептин

(2 мкМ), пепстатин (2 мкМ) та гліцерин (200 мл л⁻¹), та зберігали при -80 °С до використання. Протеїн визначали у ферментному екстракті із альбуміном сироватки теля як стандартом. Активність ППО оцінювали флуориметрично шляхом реєстрації швидкості протоутворення з хімічно відновленого протопорфіриногену IX при умовах початкової швидкості. Суміш для аналізу складалась з Tris-HCl (100 мМ; pH 7,3), EDTA (1 мМ), дитіотреїтолу (5 мМ), Tween 80 (0,085%), протопорфіриногену IX (2 мкМ) та 40 мкг екстрагованого протеїну у загальному об'ємі 200 мкл. Реакцію ініціювали додаванням субстрату протопорфіриногену IX при 22 °С. Сафлуфенацил, 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2H-бензо[b][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-тріазинан-2,4-діон (CAS 1258836-72-4), флуміоксазин, бутафенацил, ацифлуорфен, лактофен, біфенокс, сульфентразон, та інгібітор фотосинтезу діурон як негативний контроль, одержували у розчині диметилсульфоксиду (DMSO) (концентрація DMSO у аналізі 0,1 мМ) та додавали у суміш для аналізу у концентрації 0,005 пМ - 5 мкМ перед інкубуванням. Флуоресценцію моні торили безпосередньо з суміші для аналізу, використовуючи POLARstar Optima / Galaxy (BMG) із збудженням при 405 нм та емісією при 630 нм. Неферментативна активність у присутності інактивованого теплом екстракту була незначною. Інгібування ферментативної активності, викликане гербіцидом, виражали як процент інгібування по відношенню до необробленого контролю. Молярні концентрації сполуки, потрібні для 50% інгібування ферменту (значення IC₅₀) розраховували, підставляючи дані рівняння доза-відповідь, використовуючи нелінійний аналіз регресії.

Приклад 4: Ферментний аналіз ППО (рекомбінантний)

Proto/прото поставляли від Sigma-Aldrich (Milwaukee,WI). Протоген одержували згідно Якобса та Якобса (N.J. Jacobs, J.M. Jacobs, Assay for enzymatic protoporphyrinogene oxidation, a late step in heme synthesis, Enzyme 28 (1982) 206–219). Аналіз здійснювали у 100 мМ фосфату натрію pH 7,4 із 0,1 мМ EDTA, 0,1% Tween 20, 5 мкМ FAD та 500 мМ імідазолу. Криві доза-відповідь із інгібіторами ППО сафлуфенацилом, 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2H-бензо[b][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-тріазинан-2,4-діоном (CAS 1258836-72-4), флуміоксазином, бутафенацилом, ацифлуорфеном, лактофеном, біфеноксом, сульфентразоном та інгібітором фотосинтезу діуроном як негативний контроль, та MC-15608 одержували у присутності 150 мкМ Protoген. Відповідь на дозу вимірювали у діапазоні концентрації інгібітору 1,00E-05 М - 1,00E-12 М. Ширину смуги збудження та емісії встановлювали на рівні 1,5 та 30 нм, відповідно. Всі аналізи здійснювали двічі або тричі, та вимірювали, використовуючи POLARstar Optima / Galaxy (BMG) із збудженням при 405 нм та емісією при 630 нм. Молярні концентрації сполуки потрібні для інгібування ферменту 50% (значення IC₅₀) розраховували, підставляючи значення рівняння доза-відповідь, використовуючи нелінійну регресію. Результати показані на Таблиці 4:

Таблиця 4а

Значення IC₅₀ для різних мутованих ППО (мутована ППО)

Амінокислотне заміщення	SEQ. ID NO.	Відносна активність ферменту (FU/хв.)	Сафлуфенацил	1,5-диметил -6-тіоксо -3-(2,2,7-трифтор -3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро -2H-бензо[b][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-тріазинан-2,4-діон
				IC ₅₀ (M)
ППО чутлива до гербіциду PPO2 WC	2	1000	1,86E-09	5,17E-10
ППО чутлива до гербіциду PPO2 AC	4	800	1,78E-10	5,96E-11
dG210	6 & 8	80	1,60E-06	2,12E-09
R128L	2	700	2,22E-07	7,73E-10
R128L	2	700	2,22E-07	7,73E-10
R128A	2	730	1,29E-07	1,40E-10
R128C	4	515	5,57E-07	1,16E-10
R128D	4	ND	ND	ND
R128E	4	ND	ND	ND
R128F	4	280	5,25E-07	2,21E-10
R128G	4	440	9,91E-07	4,71E-11
R128H	4	640	1,02E-08	6,15E-11

Таблиця 4а (продовження)

Амінокислотне заміщення	SEQ. ID NO.	Відносна активність ферменту (FU/хв.)	Сафлуфена цил	1,5-диметил -6-тіоксо -3-(2,2,7-трифтор -3-оксо-4-(проп-2-иніл)-3,4-дигідро -2Н-бензо[<i>b</i>][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-траїзинан-2,4-діон
				IC ₅₀ (M)
ППО чутлива до гербіциду PPO2 WC	2	1000	1,86E-09	5,17E-10
R128I	4	250	3,65E-07	9,80E-11
R128K	4	180	9,65E-11	ND
R128L	4	280	3,88E-07	1,01E-10
R128M	4	200	6,97E-07	3,56E-11
R128N	4	420	5,79E-07	4,33E-11
R128P	4	ND	ND	ND
R128Q	4	480	1,94E-07	1,09E-11
R128S	4	490	2,46E-07	1,12E-11
R128T	4	510	2,11E-07	3,79E-11
R128V	4	600	2,49E-07	6,70E-11
R128W	4	ND	ND	ND
R128Y	4	230	2,19E-06	5,77E-11
F420A	4	ND	ND	ND
F420V	2	200	1,59E-06	1,61E-09
F420V	2	330		1,61E-09
F420M	2	350	6,77E-07	2,75E-10
F420M	2	700		2,18E-10
F420L	2	200	7,20E-06	9,93E-10
F420I	2	200	9,19E-07	4,95E-10
R128A, F420V	2	510	>0,00001	2,50E-08
R128A+F420M	2	400	>0,00001	6,24E-09
R128A+F420L	2	300	>0,00001	1,62E-08
R128A+F420I	2	330	>0,00001	2,46E-08
R128A_F420A	4	ND	ND	ND
R128L_F420A	4	ND	ND	ND
R128L_F420L	4	300	>0,00001	1,71E-06
R128L_F420I	4	450	>0,00001	1,23E-06
R128L_F420V	4	300	>0,00001	1,51E-06
R128L_F420M	4	400	>0,00001	2,46E-07
R128I_F420A	4	ND	ND	ND
R128I_F420L	4	200	>0,00001	4,66E-07
R128I_F420I	4	100	>0,00001	4,33E-07
R128I_F420V	4	470	>0,00001	4,24E-07
R128I_F420M	4	500	>0,00001	5,82E-08
R128V_F420A	4	ND	ND	ND
R128V_F420L	4	370	>0,00001	4,41E-07
R128V_F420I	4	300	>0,00001	2,23E-07
R128V_F420V	4	300	>0,00001	4,46E-07
R128V_F420M	4	460	>0,00001	4,27E-08
R128M_F420A	4	ND	ND	ND
R128M_F420L	4	300	>0,00001	6,95E-07
R128M_F420I	4	350	>0,00001	4,45E-07
R128M_F420V	4	270	>0,00001	7,04E-07
R128M_F420M	4	480	>0,00001	7,05E-08

Таблиця 4b

Значення IC₅₀ для різних мутованих ППО (мутована ППО)

Конструкт	SEQ. ID NO.	Швидкість (FU/хв.)	Сафлуфенацил	1,5-диметил -6-тіоксо -3-(2,2,7-трифтор -3-оксо-4-(проп-2-иніл)-3,4-дигідро -2Н-бензо[б][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-траїзинан-2,4-діон
				IC ₅₀ (M)
ППО чутлива до гербіциду PPO2 WC	2	1000	1,86E-09	5,17E-10
ППО чутлива до гербіциду PPO2 AC	4	800	1,78E-10	5,96E-11
dG210	6 & 8	80	1,60E-06	2,12E-09
R128L	2	700	2,22E-07	7,73E-10
R128K	4	180	9,65E-11	Не визначено
R128Q	4	481	1,94E-07	1,09E-11
R128S	4	491	2,46E-07	1,13E-11
R128M	4	200	6,97E-07	3,56E-11
R128T	4	721	2,11E-07	3,79E-11
R128N	4	421	5,79E-07	4,33E-11
R128G	4	436	9,91E-07	4,71E-11
R128Y	4	230	2,19E-06	5,77E-11
R128H	4	636	1,02E-08	6,15E-11
R128V	4	923	2,49E-07	7,00E-11
R128I	4	250	3,65E-07	9,80E-11
R128C	4	933	5,57E-07	1,16E-10
R128A	4	731	1,29E-07	1,40E-10
R128F	4	278	5,25E-07	2,21E-10
R128L	4	700	2,22E-07	7,73E-10
R128A, L397D	2	98	≥1,00E-5	5,90E-09
R128A, F420M	2	378	≥1,00E-5	6,24E-09
R128Q, F420M	4	473	≥1,00E-5	1,54E-08
R128A, F420L	2	281	≥1,00E-5	1,62E-08
R128S, F420M	4	310	≥1,00E-5	1,77E-08
R128C, F420M	4	329	≥1,00E-5	2,30E-08
R128A, F420I	2	330	≥1,00E-5	2,46E-08
R128A, F420V	2	512	≥1,00E-5	2,50E-08
R128H, F420M	4	252	≥1,00E-5	2,92E-08
R128G, F420M	4	100	≥1,00E-5	3,02E-08
R128V, F420M	4	666	≥1,00E-5	4,27E-08
R128S, F420I	4	150	≥1,00E-5	4,64E-08
R128Q, F420I	4	202	≥1,00E-5	5,43E-08
R128T, F420M	4	303	≥1,00E-5	5,54E-08
R128I, F420M	4	497	≥1,00E-5	5,82E-08
R128S, F420L	4	110	≥1,00E-5	6,24E-08
R128Q, F420L	4	150	≥1,00E-5	6,90E-08
R128M, F420M	4	479	≥1,00E-5	7,05E-08
R128F, F420M	4	120	≥1,00E-5	7,84E-08
R128M, F420M	4	306	≥1,00E-5	8,26E-08
R128N, F420M	4	208	≥1,00E-5	1,01E-07
R128C, F420I	4	204	≥1,00E-5	1,20E-07
R128M, F420I	4	250	≥1,00E-5	1,44E-07
R128H, F420I	4	195	≥1,00E-5	1,47E-07
R128T, F420V	4	120	≥1,00E-5	1,50E-07

Таблиця 4b (продовження)

Конструкт	SEQ. ID NO.	Швидкість (FU/хв.)	Сафлуфенацил	1,5-диметил -6-тіоксо -3-(2,2,7-трифтор -3-оксо-4-(проп-2-иніл)-3,4-дигідро -2H-бензо[b][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-траїзинан-2,4-діон
				IC ₅₀ (M)
R128Y, F420M	4	200	≥1,00E-5	1,61E-07
R128H, F420L	4	185	≥1,00E-5	1,69E-07
R128N, F420I	4	100	≥1,00E-5	1,75E-07
R128H, F420V	4	74	≥1,00E-5	1,82E-07
R128C, F420L	4	217	≥1,00E-5	1,89E-07
R128Q, F420V	4	113	≥1,00E-5	2,02E-07
R128N, F420L	4	100	≥1,00E-5	2,10E-07
R128C, F420V	4	223	≥1,00E-5	2,16E-07
R128V, F420I	4	300	≥1,00E-5	2,23E-07
R128T, F420I	4	238	≥1,00E-5	2,29E-07
R128L, F420M	4	518	≥1,00E-5	2,46E-07
R128M, F420L	4	211	≥1,00E-5	2,49E-07
R128T, F420L	4	157	≥1,00E-5	3,97E-07
R128M, F420V	4	127	≥1,00E-5	4,00E-07
R128I, F420V	4	464	≥1,00E-5	4,24E-07
R128I, F420I	4	128	≥1,00E-5	4,33E-07
R128V, F420L	4	365	≥1,00E-5	4,41E-07
R128M, F420I	4	343	≥1,00E-5	4,45E-07
R128V, F420V	4	300	≥1,00E-5	4,47E-07
R128I, F420L	4	281	≥1,00E-5	4,66E-07
R128Y, F420I	4	90	≥1,00E-5	6,11E-07
R128A, ΔG210	4	170	≥1,00E-5	6,57E-07
R128M, F420L	4	300	≥1,00E-5	6,95E-07
R128M, F420V	4	261	≥1,00E-5	7,04E-07
R128F, F420L	4	101	≥1,00E-5	8,68E-07
R128L, F420I	4	453	≥1,00E-5	1,23E-06
R128L, F420V	4	289	≥1,00E-5	1,51E-06
R128L, F420L	4	300	≥1,00E-5	1,71E-06
R128D	4	Низька активність ферменту або відсутня		
R128E	4	Низька активність ферменту або відсутня		
R128P	4	Низька активність ферменту або відсутня		
R128W	4	Низька активність ферменту або відсутня		

Таблиця 4b (продовження)

Конструкт	SEQ. ID NO.	Швидкість (FU/хв.)	Сафлуфенацил	1,5-диметил -6-тіоксо -3-(2,2,7-трифтор -3-оксо-4-(проп-2-иніл)-3,4-дигідро -2H-бензо[b][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-траїзинан-2,4-діон
				IC ₅₀ (M)
R128A, F420A	2	Низька активність ферменту або відсутня		
R128L, F420A	4	Низька активність ферменту або відсутня		
R128I, F420A	4	Низька активність ферменту або відсутня		
R128V, F420A	4	Низька активність ферменту або відсутня		
R128M, F420A	4	Низька активність ферменту або відсутня		
R128M, F420A	4	Низька активність ферменту або відсутня		
R128N, F420A	4	Низька активність ферменту або відсутня		
R128Y, F420A	4	Низька активність ферменту або відсутня		
R128Y, F420L	4	Низька активність ферменту або відсутня		
R128Y, F420V	4	Низька активність ферменту або відсутня		

Таблиця 4b (продовження)

Конструкт	SEQ. ID NO.	Швидкість (FU/хв.)	Сафлуфенацил	1,5-диметил -6-тіоксо -3-(2,2,7-трифтор -3-оксо-4-(проп-2-иніл)-3,4-дигідро -2Н-бензо[<i>b</i>][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-траїзинан-2,4-діон
				IC ₅₀ (M)
R128G, F420A	4	Низька активність ферменту або відсутня		
R128G, F420L	4	Низька активність ферменту або відсутня		
R128G, F420I	4	Низька активність ферменту або відсутня		
R128G, F420V	4	Низька активність ферменту або відсутня		
R128H, F420A	4	Низька активність ферменту або відсутня		
R128N, F420V	4	Низька активність ферменту або відсутня		
R128C, F420A	4	Низька активність ферменту або відсутня		
R128F, F420A	4	Низька активність ферменту або відсутня		
R128F, F420I	4	Низька активність ферменту або відсутня		
R128F, F420V	4	Низька активність ферменту або відсутня		

Таблиця 4b (продовження)

Конструкт	SEQ. ID NO.	Швидкість (FU/хв.)	Сафлуфенацил	1,5-диметил -6-тіоксо -3-(2,2,7-трифтор -3-оксо-4-(проп-2-иніл)-3,4-дигідро -2Н-бензо[б][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-траїзинан-2,4-діон
				IC ₅₀ (M)
R128S, F420A	4	Низька активність ферменту або відсутня		
R128S, F420V	4	Низька активність ферменту або відсутня		
R128T, F420A	4	Низька активність ферменту або відсутня		
R128Q, F420A	4	Низька активність ферменту або відсутня		

Таблиця 4с

Загальноживана назва	Назва ІЮРАС	SEQ ID	Мутація	Рівень (FU/хв.)	IC ₅₀ (M)	(%) інгібування при 1x10 ⁻⁵ M
ФОМЕСАФЕН		2 або 4	WT	660	1,32E-09	
ФОМЕСАФЕН		4	R128A, F420M	362	6,60E-06	
ФОМЕСАФЕН		4	R128A, F420L	316	9,81E-06	
ФОМЕСАФЕН		4	R128A, F420V	478	1,61E-06	
ФОМЕСАФЕН		4	R128I, F420L	202	≥ 1,00E-05	38
ФОМЕСАФЕН		4	R128I, F420V	292	2,79E-06	
ФОМЕСАФЕН		4	R128V, F420M	413	≥ 1,00E-05	47
ФОМЕСАФЕН		4	R128M, F420M	289	≥ 1,00E-05	48
ФОМЕСАФЕН		4	R128Y, F420I	99	2,16E-05	
ФОМЕСАФЕН		4	R128Y, F420M	174	≥ 1,00E-05	28
ФОМЕСАФЕН		4	R128N, F420M	153	1,07E-05	
ФОМЕСАФЕН		4	R128C, F420L	192	≥ 1,00E-05	42
ФОМЕСАФЕН		4	R128C, F420V	160	2,36E-06	
ФОМЕСАФЕН		4	R128C, F420M	277	1,10E-05	
ФОМЕСАФЕН		4	R128H, F420M	184	2,61E-06	
ЛАКТОФЕН	(2-етокси-1-метил-2-оксо-етил) 5-[2-хлор-4-(трифторметил)фенокси]-2-нітро-бензоат	2 або 4	WT	660	2,93E-10	
ЛАКТОФЕН	(2-етокси-1-метил-2-оксо-етил) 5-[2-	4	R128A, F420M	362	4,57E-06	

	хлор-4-(трифторметил)фенокси-2-нітро-бензоат					
ЛАКТОФЕН	(2-етокси-1-метил-2-оксо-етил) 5-[2-хлор-4-(трифторметил)фенокси]-2-нітро-бензоат	4	R128A, F420L	316	6,68E-08	
ЛАКТОФЕН	(2-етокси-1-метил-2-оксо-етил) 5-[2-хлор-4-(трифторметил)фенокси]-2-нітро-бензоат	4	R128A, F420V	478	5,45E-08	
ЛАКТОФЕН	(2-етокси-1-метил-2-оксо-етил) 5-[2-хлор-4-(трифторметил)фенокси]-2-нітро-бензоат	4	R128I, F420L	202	1,30E-07	
ЛАКТОФЕН	(2-етокси-1-метил-2-оксо-етил) 5-[2-хлор-4-(трифторметил)фенокси]-2-нітро-бензоат	4	R128I, F420V	292	1,40E-08	
ЛАКТОФЕН	(2-етокси-1-метил-2-оксо-етил) 5-[2-хлор-4-(трифторметил)фенокси]-2-нітро-бензоат	4	R128V, F420M	413	9,41E-08	
ЛАКТОФЕН	(2-етокси-1-метил-2-оксо-етил) 5-[2-хлор-4-(трифторметил)фенокси]-2-нітро-бензоат	4	R128M, F420M	289	1,31E-07	
ЛАКТОФЕН	(2-етокси-1-метил-2-оксо-етил) 5-[2-хлор-4-(трифторметил)фенокси]-2-нітро-бензоат	4	R138Y, F420I	99	4,60E-08	
ЛАКТОФЕН	(2-етокси-1-метил-2-оксо-етил) 5-[2-хлор-4-(трифторметил)фенокси]-2-нітро-бензоат	4	R138Y, F420M	174	1,43E-07	
	нітро-бензоат					
ЛАКТОФЕН	(2-етокси-1-метил-2-оксо-етил) 5-[2-хлор-4-(трифторметил)фенокси]-2-нітро-бензоат	4	R128N, F420M	153	1,67E-07	
ЛАКТОФЕН	(2-етокси-1-метил-2-оксо-етил) 5-[2-хлор-4-(трифторметил)фенокси]-2-нітро-бензоат	4	R128C, F420L	192	1,42E-07	
ЛАКТОФЕН	(2-етокси-1-метил-2-оксо-етил) 5-[2-хлор-4-(трифторметил)фенокси]-2-нітро-бензоат	4	R128C, F420V	150	1,50E-08	
ЛАКТОФЕН	(2-етокси-1-метил-2-оксо-етил) 5-[2-хлор-4-(трифторметил)фенокси]-2-нітро-бензоат	4	R128C, F420M	277	6,38E-08	
ЛАКТОФЕН	(2-етокси-1-метил-2-оксо-етил) 5-[2-хлор-4-(трифторметил)фенокси]-2-нітро-бензоат	4	R128H, F420M	184	6,13E-08	
БУТАФЕНАЦИЛ		2 або 4	WT	850	1,38E-10	
БУТАФЕНАЦИЛ		4	R128A, F420M	352	1,40E-08	
БУТАФЕНАЦИЛ		4	R128A, F420L	316	9,17E-08	
БУТАФЕНАЦИЛ		4	R128A, F420V	478	2,51E-08	
БУТАФЕНАЦИЛ		4	R128I, F420L	202	8,02E-08	
БУТАФЕНАЦИЛ		4	R128I, F420V	292	2,56E-08	
БУТАФЕНАЦИЛ		4	R128V, F420M	413	1,05E-08	
БУТАФЕНАЦИЛ		4	R128M, F420M	289	4,36E-08	

БУТАФЕНАЦИЛ		4	R128Y, F420I	99	5,47E-08	
БУТАФЕНАЦИЛ		4	R128Y, F420M	174	5,04E-08	
БУТАФЕНАЦИЛ		4	R128N, F420M	153	2,84E-08	
БУТАФЕНАЦИЛ		4	R128C, F420L	192	1,10E-07	
БУТАФЕНАЦИЛ		4	R128C, F420V	160	8,89E-08	
БУТАФЕНАЦИЛ		4	R128C, F420M	277	2,31E-08	
БУТАФЕНАЦИЛ		4	R128H, F420M	184	1,28E-08	
КАРФЕНТРАЗОН-ЕТИЛ		2 або 4	WT	650	1,03E-09	
КАРФЕНТРАЗОН-ЕТИЛ		4	R128A, F420M	362	6,72E-08	
КАРФЕНТРАЗОН-ЕТИЛ		4	R128A, F420L	316	4,29E-07	
КАРФЕНТРАЗОН-ЕТИЛ		4	R128A, F420V	478	7,97E-07	
КАРФЕНТРАЗОН-ЕТИЛ		4	R128I, F420L	202	1,61E-07	
КАРФЕНТРАЗОН-ЕТИЛ		4	R128I, F420V	292	2,07E-07	
КАРФЕНТРАЗОН-ЕТИЛ		4	R128V, F420M	413	2,29E-08	
КАРФЕНТРАЗОН-ЕТИЛ		4	R128M, F420M	289	7,88E-08	
КАРФЕНТРАЗОН-ЕТИЛ		4	R128Y, F420I	99	2,82E-07	
КАРФЕНТРАЗОН-ЕТИЛ		4	R128Y, F420M	174	8,52E-08	
КАРФЕНТРАЗОН-ЕТИЛ		4	R128N, F420M	153	1,88E-07	
КАРФЕНТРАЗОН-ЕТИЛ		4	R128C, F420L	192	3,08E-07	
КАРФЕНТРАЗОН-ЕТИЛ		4	R128C, F420V	160	3,98E-07	
КАРФЕНТРАЗОН-ЕТИЛ		4	R128C, F420M	277	2,99E-08	
КАРФЕНТРАЗОН-ЕТИЛ		4	R128H, F420M	184	1,21E-07	
АЦИФЛУОРФЕН	5-(2-хлор-4-трифторметил-фенокси)-2-нітро-бензойна кислота	2 або 4	WT	650	3,36E-06	
АЦИФЛУОРФЕН	5-(2-хлор-4-трифторметил-фенокси)-2-нітро-бензойна кислота	4	R128A, F420M	362	$\geq 1,00E-05$	27
АЦИФЛУОРФЕН	5-(2-хлор-4-трифторметил-фенокси)-2-нітро-бензойна кислота	4	R128A, F420L	316	$\geq 1,00E-05$	20
АЦИФЛУОРФЕН	5-(2-хлор-4-трифторметил-фенокси)-2-нітро-бензойна кислота	4	R128A, F420V	478	6,67E-06	
АЦИФЛУОРФЕН	5-(2-хлор-4-трифторметил-фенокси)-2-нітро-бензойна кислота	4	R128I, F420L	202	$\geq 1,00E-05$	16
АЦИФЛУОРФЕН	5-(2-хлор-4-трифторметил-фенокси)-2-нітро-бензойна кислота	4	R128I, F420V	292	1,21E-05	
АЦИФЛУОРФЕН	5-(2-хлор-4-трифторметил-фенокси)-2-нітро-бензойна кислота	4	R128V, F420M	413	$\geq 1,00E-05$	17
АЦИФЛУОРФЕН	5-(2-хлор-4-трифторметил-фенокси)-2-нітро-бензойна кислота	4	R128M, F420M	289	$\geq 1,00E-05$	21

АЦИФЛУОРФЕН	5-(2-хлор-4-трифторметил-фенокси)-2-нітро-бензойна кислота	4	R12BY, F420I	89	$\geq 1,00E-05$	21
АЦИФЛУОРФЕН	5-(2-хлор-4-трифторметил-фенокси)-2-нітро-бензойна кислота	4	R12BY, F420M	174	$\geq 1,00E-05$	15
АЦИФЛУОРФЕН	5-(2-хлор-4-трифторметил-фенокси)-2-нітро-бензойна кислота	4	R12BN, F420M	153	$\geq 1,00E-05$	39
АЦИФЛУОРФЕН	5-(2-хлор-4-трифторметил-фенокси)-2-нітро-бензойна кислота	4	R12BC, F420L	192	$\geq 1,00E-05$	17
АЦИФЛУОРФЕН	5-(2-хлор-4-трифторметил-фенокси)-2-нітро-бензойна кислота	4	R12BC, F420V	160	6,72E-06	
АЦИФЛУОРФЕН	5-(2-хлор-4-трифторметил-фенокси)-2-нітро-бензойна кислота	4	R12BC, F420M	277	$\geq 1,00E-05$	33
АЦИФЛУОРФЕН	5-(2-хлор-4-трифторметил-фенокси)-2-нітро-бензойна кислота	4	R12BN, F420M	184	$\geq 1,00E-05$	48
ФЛУМІОКСАЗИН	2-(7-фтор-3-оксо-4-проп-2-иніл-1,4-бензоксазин-6-іл)-4,5,6,7-тетрагідроізіндол-1,3-діон	2 або 4	WT	850	9,58E-11	
ФЛУМІОКСАЗИН	2-(7-фтор-3-оксо-4-проп-2-иніл-1,4-бензоксазин-6-іл)-4,5,6,7-тетрагідроізіндол-1,3-діон	4	R12BA, F420M	362	8,43E-06	
ФЛУМІОКСАЗИН	2-(7-фтор-3-оксо-4-проп-2-иніл-1,4-бензоксазин-6-іл)-4,5,6,7-тетрагідроізіндол-1,3-діон	4	R12BA, F420L	318	$\geq 1,00E-05$	-8
ФЛУМІОКСАЗИН	2-(7-фтор-3-оксо-4-проп-2-иніл-1,4-бензоксазин-6-іл)-4,5,6,7-тетрагідроізіндол-1,3-діон	4	R12BA, F420V	478	6,34E-06	
	тетрагідроізіндол-1,3-діон					
ФЛУМІОКСАЗИН	2-(7-фтор-3-оксо-4-проп-2-иніл-1,4-бензоксазин-6-іл)-4,5,6,7-тетрагідроізіндол-1,3-діон	4	R12BI, F420L	262	$\geq 1,00E-05$	9
ФЛУМІОКСАЗИН	2-(7-фтор-3-оксо-4-проп-2-иніл-1,4-бензоксазин-6-іл)-4,5,6,7-тетрагідроізіндол-1,3-діон	4	R12BI, F420V	292	$\geq 1,00E-05$	41
ФЛУМІОКСАЗИН	2-(7-фтор-3-оксо-4-проп-2-иніл-1,4-бензоксазин-6-іл)-4,5,6,7-тетрагідроізіндол-1,3-діон	4	R12BV, F420M	413	$\geq 1,00E-05$	34
ФЛУМІОКСАЗИН	2-(7-фтор-3-оксо-4-проп-2-иніл-1,4-бензоксазин-6-іл)-4,5,6,7-тетрагідроізіндол-1,3-діон	4	R12BM, F420M	289	$\geq 1,00E-05$	21
ФЛУМІОКСАЗИН	2-(7-фтор-3-оксо-4-проп-2-иніл-1,4-бензоксазин-6-іл)-4,5,6,7-тетрагідроізіндол-1,3-діон	4	R12BY, F420I	99	$\geq 1,00E-05$	19
ФЛУМІОКСАЗИН	2-(7-фтор-3-оксо-4-проп-2-иніл-1,4-бензоксазин-6-іл)-4,5,6,7-тетрагідроізіндол-1,3-діон	4	R12BY, F420M	174	$\geq 1,00E-05$	-2
ФЛУМІОКСАЗИН	2-(7-фтор-3-оксо-4-проп-2-иніл-1,4-бензоксазин-6-іл)-4,5,6,7-тетрагідроізіндол-1,3-діон	4	R12BN, F420M	153	6,16E-06	
ФЛУМІОКСАЗИН	2-(7-фтор-3-оксо-4-проп-2-иніл-1,4-бензоксазин-6-іл)-4,5,6,7-тетрагідроізіндол-1,3-діон	4	R12BC, F420L	182	$\geq 1,00E-05$	-11

	тетрагідроізондан-1,3-діол					
ФЛУМІОКСАЗИН	2-(7-фтор-3-оксо-4-проп-2-инил-1,4-бензоксазин-6-ил)-4,5,6,7-тетрагідроізондан-1,3-діол	4	R128C, F420V	160	7,28E-06	
ФЛУМІОКСАЗИН	2-(7-фтор-3-оксо-4-проп-2-инил-1,4-бензоксазин-6-ил)-4,5,6,7-тетрагідроізондан-1,3-діол	4	R128C, F420M	277	≥ 1,00E-05	48
ФЛУМІОКСАЗИН	2-(7-фтор-3-оксо-4-проп-2-инил-1,4-бензоксазин-6-ил)-4,5,6,7-тетрагідроізондан-1,3-діол	4	R128H, F420M	184	≥ 1,00E-05	30
ЦИНІДОН-ЕТИЛ	етил (2)-2-хлор-3-[2-хлор-5-(1,3-діоксо-4,5,6,7-тетрагідроізондан-2-ил)феніл]проп-2-еноат	2 або 4	WT	650	6,66E-10	
ЦИНІДОН-ЕТИЛ	етил (2)-2-хлор-3-[2-хлор-5-(1,3-діоксо-4,5,6,7-тетрагідроізондан-2-ил)феніл]проп-2-еноат	4	R128A, F420M	362	1,60E-06	
ЦИНІДОН-ЕТИЛ	етил (2)-2-хлор-3-[2-хлор-5-(1,3-діоксо-4,5,6,7-тетрагідроізондан-2-ил)феніл]проп-2-еноат	4	R128A, F420L	316	≥ 1,00E-06	48
ЦИНІДОН-ЕТИЛ	етил (2)-2-хлор-3-[2-хлор-5-(1,3-діоксо-4,5,6,7-тетрагідроізондан-2-ил)феніл]проп-2-еноат	4	R128A, F420V	478	6,43E-06	
ЦИНІДОН-ЕТИЛ	етил (2)-2-хлор-3-[2-хлор-5-(1,3-діоксо-4,5,6,7-тетрагідроізондан-2-ил)феніл]проп-2-еноат	4	R128I, F420L	202	9,51E-06	
	ил)феніл]проп-2-еноат					
ЦИНІДОН-ЕТИЛ	етил (2)-2-хлор-3-[2-хлор-5-(1,3-діоксо-4,5,6,7-тетрагідроізондан-2-ил)феніл]проп-2-еноат	4	R128I, F420V	292	4,72E-06	
ЦИНІДОН-ЕТИЛ	етил (2)-2-хлор-3-[2-хлор-5-(1,3-діоксо-4,5,6,7-тетрагідроізондан-2-ил)феніл]проп-2-еноат	4	R128V, F420M	413	1,78E-06	
ЦИНІДОН-ЕТИЛ	етил (2)-2-хлор-3-[2-хлор-5-(1,3-діоксо-4,5,6,7-тетрагідроізондан-2-ил)феніл]проп-2-еноат	4	R128M, F420M	289	3,84E-06	
ЦИНІДОН-ЕТИЛ	етил (2)-2-хлор-3-[2-хлор-5-(1,3-діоксо-4,5,6,7-тетрагідроізондан-2-ил)феніл]проп-2-еноат	4	R128Y, F420I	99	≥ 1,00E-05	36
ЦИНІДОН-ЕТИЛ	етил (2)-2-хлор-3-[2-хлор-5-(1,3-діоксо-4,5,6,7-тетрагідроізондан-2-ил)феніл]проп-2-еноат	4	R128Y, F420M	174	1,08E-05	
ЦИНІДОН-ЕТИЛ	етил (2)-2-хлор-3-[2-хлор-5-(1,3-діоксо-4,5,6,7-тетрагідроізондан-2-ил)феніл]проп-2-еноат	4	R128N, F420M	153	≥ 1,00E-05	48
ЦИНІДОН-ЕТИЛ	етил (2)-2-хлор-3-[2-хлор-5-(1,3-діоксо-4,5,6,7-тетрагідроізондан-2-ил)феніл]проп-2-еноат	4	R128C, F420L	192	≥ 1,00E-06	42
ЦИНІДОН-ЕТИЛ	етил (2)-2-хлор-3-[2-хлор-5-(1,3-діоксо-4,5,6,7-тетрагідроізондан-2-ил)феніл]проп-2-еноат	4	R128C, F420V	160	9,43E-06	

	in)феніл)проп-2-еноат					
ЦИНІДОН-ЕТИЛ	етил (2)-2-хлор-3-[2-хлор-5-(1,3-діоксо-4,5,6,7-тетрагідроізобенз-2-ін)феніл)проп-2-еноат	4	R128C, F420M	277	2,45E-06	
ЦИНІДОН-ЕТИЛ	етил (2)-2-хлор-3-[2-хлор-5-(1,3-діоксо-4,5,6,7-тетрагідроізобенз-2-ін)феніл)проп-2-еноат	4	R128H, F420M	184	≥ 1,00E-06	41
ОКСИФЛУОРФЕН	2-хлор-1-(3-етокси-4-нітрофенокси)-4-(трифторметил)бензол	2 або 4	WT	650	1,04E-09	
ОКСИФЛУОРФЕН	2-хлор-1-(3-етокси-4-нітрофенокси)-4-(трифторметил)бензол	4	R128A, F420M	365	2,17E-07	
ОКСИФЛУОРФЕН	2-хлор-1-(3-етокси-4-нітрофенокси)-4-(трифторметил)бензол	4	R128A, F420L	343	5,56E-07	
ОКСИФЛУОРФЕН	2-хлор-1-(3-етокси-4-нітрофенокси)-4-(трифторметил)бензол	4	R128A, F420V	550	2,35E-08	
ОКСИФЛУОРФЕН	2-хлор-1-(3-етокси-4-нітрофенокси)-4-(трифторметил)бензол	4	R128I, F420L	196	4,21E-06	
ОКСИФЛУОРФЕН	2-хлор-1-(3-етокси-4-нітрофенокси)-4-(трифторметил)бензол	4	R128I, F420V	326	1,98E-07	
ОКСИФЛУОРФЕН	2-хлор-1-(3-етокси-4-нітрофенокси)-4-(трифторметил)бензол	4	R128V, F420M	482	1,05E-06	
ОКСИФЛУОРФЕН	2-хлор-1-(3-етокси-4-нітрофенокси)-4-(трифторметил)бензол	4	R128M, F420M	323	7,38E-07	
ОКСИФЛУОРФЕН	2-хлор-1-(3-етокси-4-нітрофенокси)-4-(трифторметил)бензол	4	R128Y, F420I	75	1,17E-06	
ОКСИФЛУОРФЕН	2-хлор-1-(3-етокси-4-нітрофенокси)-4-(трифторметил)бензол	4	R128Y, F420M	175	1,13E-06	
ОКСИФЛУОРФЕН	2-хлор-1-(3-етокси-4-нітрофенокси)-4-(трифторметил)бензол	4	R128N, F420M	174	3,91E-07	
ОКСИФЛУОРФЕН	2-хлор-1-(3-етокси-4-нітрофенокси)-4-(трифторметил)бензол	4	R128C, F420L	188	1,48E-06	
ОКСИФЛУОРФЕН	2-хлор-1-(3-етокси-4-нітрофенокси)-4-(трифторметил)бензол	4	R128C, F420V	225	6,52E-08	
ОКСИФЛУОРФЕН	2-хлор-1-(3-етокси-4-нітрофенокси)-4-(трифторметил)бензол	4	R128C, F420M	271	4,15E-07	
ОКСИФЛУОРФЕН	2-хлор-1-(3-етокси-4-нітрофенокси)-4-(трифторметил)бензол	4	R128H, F420M	196	3,55E-07	
ОКСАДІАРПІЛ		2 або 4	WT	650	3,54E-10	
ОКСАДІАРПІЛ		4	R128A, F420M	365	1,97E-06	
ОКСАДІАРПІЛ		4	R128A, F420L	343	1,37E-06	
ОКСАДІАРПІЛ		4	R128A, F420V	550	4,38E-08	
ОКСАДІАРПІЛ		4	R128I, F420L	196	8,64E-07	
ОКСАДІАРПІЛ		4	R128I, F420V	326	2,76E-08	
ОКСАДІАРПІЛ		4	R128V, F420M	482	3,40E-08	
ОКСАДІАРПІЛ		4	R128M, F420M	323	3,33E-08	
ОКСАДІАРПІЛ		4	R128Y, F420I	75	1,73E-07	
ОКСАДІАРПІЛ		4	R128Y, F420M	175	3,60E-08	

ОКСАДІАРГІЛ		4	R128N, F420M	174	1,28E-07	
ОКСАДІАРГІЛ		4	R128C, F420L	188	3,01E-06	
ОКСАДІАРГІЛ		4	R128C, F420V	225	1,46E-07	
ОКСАДІАРГІЛ		4	R128C, F420M	271	6,24E-08	
ОКСАДІАРГІЛ		4	R128H, F420M	196	1,32E-06	
S-3100	етил 2-[[3-[2-хлор-4-фтор-5-[3-метил-2,6-діоксо-4-(трифторметил)піримідин-1-іл]фенокси]-2-піридил]окси]ацетат	2 або 4	WT	650	1,36E-10	
S-3100	етил 2-[[3-[2-хлор-4-фтор-5-[3-метил-2,6-діоксо-4-(трифторметил)піримідин-1-іл]фенокси]-2-піридил]окси]ацетат	4	R128A, F420M	365	3,71E-06	
S-3100	етил 2-[[3-[2-хлор-4-фтор-5-[3-метил-2,6-діоксо-4-(трифторметил)піримідин-1-іл]фенокси]-2-піридил]окси]ацетат	4	R128A, F420L	343	2,77E-07	
S-3100	етил 2-[[3-[2-хлор-4-фтор-5-[3-метил-2,6-діоксо-4-(трифторметил)піримідин-1-іл]фенокси]-2-піридил]окси]ацетат	4	R128A, F420V	550	4,76E-06	
S-3100	етил 2-[[3-[2-хлор-4-фтор-5-[3-метил-2,6-діоксо-4-(трифторметил)піримідин-1-іл]фенокси]-2-піридил]окси]ацетат	4	R128I, F420L	196	2,01E-07	
S-3100	етил 2-[[3-[2-хлор-4-фтор-5-[3-метил-2,6-діоксо-4-(трифторметил)піримідин-1-іл]фенокси]-2-піридил]окси]ацетат	4	R128I, F420V	326	4,38E-06	
S-3100	етил 2-[[3-[2-хлор-4-фтор-5-[3-метил-2,6-діоксо-4-(трифторметил)піримідин-1-іл]фенокси]-2-піридил]окси]ацетат	4	R128V, F420M	482	3,56E-06	
	1-іл]фенокси]-2-піридил]окси]ацетат					
S-3100	етил 2-[[3-[2-хлор-4-фтор-5-[3-метил-2,6-діоксо-4-(трифторметил)піримідин-1-іл]фенокси]-2-піридил]окси]ацетат	4	R128M, F420M	323	4,63E-06	
S-3100	етил 2-[[3-[2-хлор-4-фтор-5-[3-метил-2,6-діоксо-4-(трифторметил)піримідин-1-іл]фенокси]-2-піридил]окси]ацетат	4	R128Y, F420I	75	4,64E-07	
S-3100	етил 2-[[3-[2-хлор-4-фтор-5-[3-метил-2,6-діоксо-4-(трифторметил)піримідин-1-іл]фенокси]-2-піридил]окси]ацетат	4	R128Y, F420M	175	6,92E-06	
S-3100	етил 2-[[3-[2-хлор-4-фтор-5-[3-метил-2,6-діоксо-4-(трифторметил)піримідин-1-іл]фенокси]-2-піридил]окси]ацетат	4	R128N, F420M	174	1,92E-07	
S-3100	етил 2-[[3-[2-хлор-4-фтор-5-[3-метил-2,6-діоксо-4-(трифторметил)піримідин-1-іл]фенокси]-2-піридил]окси]ацетат	4	R128C, F420L	188	6,61E-07	
S-3100	етил 2-[[3-[2-хлор-4-фтор-5-[3-метил-2,6-діоксо-4-(трифторметил)піримідин-1-іл]фенокси]-2-піридил]окси]ацетат	4	R128C, F420V	225	1,24E-07	
S-3100	етил 2-[[3-[2-хлор-4-фтор-5-[3-метил-2,6-діоксо-4-(трифторметил)піримідин-1-іл]фенокси]-2-піридил]окси]ацетат	4	R128C, F420M	271	6,96E-06	
S-3100	етил 2-[[3-[2-хлор-4-фтор-5-[3-метил-2,6-діоксо-4-(трифторметил)піримідин-1-іл]фенокси]-2-піридил]окси]ацетат	4	R128H, F420M	196	4,19E-06	

	1-ін[фенокси]-2-пропил[окси]ацетат					
BAS 850H	1,5-диметил -6-тіоксо -3-(2,2,7-трифтор -3-оксо-4-(проп-2-иніл)-3,4-дигідро -2н-бензо[б][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-траїзинан-2,4-діон	2 або 4	WT	850	5,17E-10	
BAS 850H	1,5-диметил -6-тіоксо -3-(2,2,7-трифтор -3-оксо-4-(проп-2-иніл)-3,4-дигідро -2н-бензо[б][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-траїзинан-2,4-діон	4	R128A, F420M	321	7,03E-09	
BAS 850H	1,5-диметил -6-тіоксо -3-(2,2,7-трифтор -3-оксо-4-(проп-2-иніл)-3,4-дигідро -2н-бензо[б][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-траїзинан-2,4-діон	4	R128A, F420M	362	7,66E-09	
BAS 850H	1,5-диметил -6-тіоксо -3-(2,2,7-трифтор -3-оксо-4-(проп-2-иніл)-3,4-дигідро -2н-бензо[б][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-траїзинан-2,4-діон	4	R128A, F420M	365	8,10E-09	
BAS 850H	1,5-диметил -6-тіоксо -3-(2,2,7-трифтор -3-оксо-4-(проп-2-иніл)-3,4-дигідро -2н-бензо[б][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-траїзинан-2,4-діон	4	R128A, F420L	316	2,98E-08	
BAS 850H	1,5-диметил -6-тіоксо -3-(2,2,7-трифтор -3-оксо-4-(проп-2-иніл)-3,4-дигідро -2н-бензо[б][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-траїзинан-2,4-діон	4	R128A, F420L	343	1,58E-08	
	траїзинан-2,4-діон					
BAS 850H	1,5-диметил -6-тіоксо -3-(2,2,7-трифтор -3-оксо-4-(проп-2-иніл)-3,4-дигідро -2н-бензо[б][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-траїзинан-2,4-діон	4	R128A, F420V	478	4,14E-08	
BAS 850H	1,5-диметил -6-тіоксо -3-(2,2,7-трифтор -3-оксо-4-(проп-2-иніл)-3,4-дигідро -2н-бензо[б][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-траїзинан-2,4-діон	4	R128A, F420V	550	2,13E-08	
BAS 850H	1,5-диметил -6-тіоксо -3-(2,2,7-трифтор -3-оксо-4-(проп-2-иніл)-3,4-дигідро -2н-бензо[б][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-траїзинан-2,4-діон	4	R128A, F420V	555	3,99E-08	
BAS 850H	1,5-диметил -6-тіоксо -3-(2,2,7-трифтор -3-оксо-4-(проп-2-иніл)-3,4-дигідро -2н-бензо[б][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-траїзинан-2,4-діон	4	R128I, F420L	202	4,06E-07	
BAS 850H	1,5-диметил -6-тіоксо -3-(2,2,7-трифтор -3-оксо-4-(проп-2-иніл)-3,4-дигідро -2н-бензо[б][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-траїзинан-2,4-діон	4	R128I, F420L	196	2,45E-07	
BAS 850H	1,5-диметил -6-тіоксо -3-(2,2,7-трифтор -3-оксо-4-(проп-2-иніл)-3,4-дигідро -2н-бензо[б][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-траїзинан-2,4-діон	4	R128I, F420I	95	1,38E-07	

	траізінан-2,4-діон					
BAS 850H	1,5-диметил -6-пюксо -3-(2,2,7-трифтор -3-оксо-4-(проп-2-иніл)-3,4-дигідро -2h- бензо[b][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5- траізінан-2,4-діон	4	R128i, F420V	292	2,14E-07	
BAS 850H	1,5-диметил -6-пюксо -3-(2,2,7-трифтор -3-оксо-4-(проп-2-иніл)-3,4-дигідро -2h- бензо[b][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5- траізінан-2,4-діон	4	R138i, F420V	326	3,15E-07	
BAS 850H	1,5-диметил -6-пюксо -3-(2,2,7-трифтор -3-оксо-4-(проп-2-иніл)-3,4-дигідро -2h- бензо[b][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5- траізінан-2,4-діон	4	R128i, F420M	328	6,10E-08	
BAS 850H	1,5-диметил -6-пюксо -3-(2,2,7-трифтор -3-оксо-4-(проп-2-иніл)-3,4-дигідро -2h- бензо[b][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5- траізінан-2,4-діон	4	R128V, F420M	413	6,50E-08	
BAS 850H	1,5-диметил -6-пюксо -3-(2,2,7-трифтор -3-оксо-4-(проп-2-иніл)-3,4-дигідро -2h- бензо[b][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5- траізінан-2,4-діон	4	R128V, F420M	482	4,86E-08	
BAS 850H	1,5-диметил -6-пюксо -3-(2,2,7-трифтор -3-оксо-4-(проп-2-иніл)-3,4-дигідро -2h- бензо[b][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5- траізінан-2,4-діон	4	R128M, F420M	235	7,89E-08	
	траізінан-2,4-діон					
BAS 850H	1,5-диметил -6-пюксо -3-(2,2,7-трифтор -3-оксо-4-(проп-2-иніл)-3,4-дигідро -2h- бензо[b][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5- траізінан-2,4-діон	4	R128M, F420M	289	7,07E-08	
BAS 850H	1,5-диметил -6-пюксо -3-(2,2,7-трифтор -3-оксо-4-(проп-2-иніл)-3,4-дигідро -2h- бензо[b][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5- траізінан-2,4-діон	4	R128M, F420M	323	4,84E-08	
BAS 850H	1,5-диметил -6-пюксо -3-(2,2,7-трифтор -3-оксо-4-(проп-2-иніл)-3,4-дигідро -2h- бензо[b][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5- траізінан-2,4-діон	4	R128Y, F420i	99	4,82E-07	
BAS 850H	1,5-диметил -6-пюксо -3-(2,2,7-трифтор -3-оксо-4-(проп-2-иніл)-3,4-дигідро -2h- бензо[b][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5- траізінан-2,4-діон	4	R128Y, F420i	75	3,03E-06	
BAS 850H	1,5-диметил -6-пюксо -3-(2,2,7-трифтор -3-оксо-4-(проп-2-иніл)-3,4-дигідро -2h- бензо[b][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5- траізінан-2,4-діон	4	R128Y, F420M	174	2,85E-07	
BAS 850H	1,5-диметил -6-пюксо -3-(2,2,7-трифтор -3-оксо-4-(проп-2-иніл)-3,4-дигідро -2h- бензо[b][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5- траізінан-2,4-діон	4	R128Y, F420M	175	1,02E-07	

	траізинан-2,4-діон					
BAS 850H	1,5-диметил -6-тіоксо -3-(2,2,7-трифтор -3-оксо-4-(проп-2-иніл)-3,4-дигідро -2h-бензо[b][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-траізинан-2,4-діон	4	R138G, F420M	153	1,28E-08	
BAS 850H	1,5-диметил -6-тіоксо -3-(2,2,7-трифтор -3-оксо-4-(проп-2-иніл)-3,4-дигідро -2h-бензо[b][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-траізинан-2,4-діон	4	R138Q, F420M	432	1,07E-08	
BAS 850H	1,5-диметил -6-тіоксо -3-(2,2,7-трифтор -3-оксо-4-(проп-2-иніл)-3,4-дигідро -2h-бензо[b][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-траізинан-2,4-діон	4	R128H, F420L	193	7,98E-08	
BAS 850H	1,5-диметил -6-тіоксо -3-(2,2,7-трифтор -3-оксо-4-(проп-2-иніл)-3,4-дигідро -2h-бензо[b][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-траізинан-2,4-діон	4	R128H, F420I	191	8,22E-08	
BAS 850H	1,5-диметил -6-тіоксо -3-(2,2,7-трифтор -3-оксо-4-(проп-2-иніл)-3,4-дигідро -2h-бензо[b][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-траізинан-2,4-діон	4	R128N, F420M	153	7,12E-08	
BAS 850H	1,5-диметил -6-тіоксо -3-(2,2,7-трифтор -3-оксо-4-(проп-2-иніл)-3,4-дигідро -2h-бензо[b][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-траізинан-2,4-діон	4	R128N, F420M	174	4,97E-08	
	траізинан-2,4-діон					
BAS 850H	1,5-диметил -6-тіоксо -3-(2,2,7-трифтор -3-оксо-4-(проп-2-иніл)-3,4-дигідро -2h-бензо[b][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-траізинан-2,4-діон	4	R128C, F420L	192	1,00E-07	
BAS 850H	1,5-диметил -6-тіоксо -3-(2,2,7-трифтор -3-оксо-4-(проп-2-иніл)-3,4-дигідро -2h-бензо[b][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-траізинан-2,4-діон	4	R128C, F420L	188	1,83E-07	
BAS 850H	1,5-диметил -6-тіоксо -3-(2,2,7-трифтор -3-оксо-4-(проп-2-иніл)-3,4-дигідро -2h-бензо[b][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-траізинан-2,4-діон	4	R128C, F420V	180	1,66E-07	
BAS 850H	1,5-диметил -6-тіоксо -3-(2,2,7-трифтор -3-оксо-4-(проп-2-иніл)-3,4-дигідро -2h-бензо[b][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-траізинан-2,4-діон	4	R128C, F420V	225	2,68E-07	
BAS 850H	1,5-диметил -6-тіоксо -3-(2,2,7-трифтор -3-оксо-4-(проп-2-иніл)-3,4-дигідро -2h-бензо[b][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-траізинан-2,4-діон	4	R128C, F420M	277	2,53E-08	
BAS 850H	1,5-диметил -6-тіоксо -3-(2,2,7-трифтор -3-оксо-4-(проп-2-иніл)-3,4-дигідро -2h-бензо[b][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-траізинан-2,4-діон	4	R128C, F420M	271	2,33E-08	

	траїзинан-2,4-діон					
BAS 850H	1,5-диметил -6-тіоксо -3-(2,2,7-трифтор -3-оксо-4-(проп-2-иніл)-3,4-дигідро -2h- бензо[b][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5- траїзинан-2,4-діон	4	R128F, F426L	129	1,01E-06	
BAS 850H	1,5-диметил -6-тіоксо -3-(2,2,7-трифтор -3-оксо-4-(проп-2-иніл)-3,4-дигідро -2h- бензо[b][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5- траїзинан-2,4-діон	4	R128F, F420M	136	1,21E-07	
BAS 850H	1,5-диметил -6-тіоксо -3-(2,2,7-трифтор -3-оксо-4-(проп-2-иніл)-3,4-дигідро -2h- бензо[b][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5- траїзинан-2,4-діон	4	R128S, F420M	328	2,40E-08	
BAS 850H	1,5-диметил -6-тіоксо -3-(2,2,7-трифтор -3-оксо-4-(проп-2-иніл)-3,4-дигідро -2h- бензо[b][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5- траїзинан-2,4-діон	4	R128T, F420M	275	4,33E-08	
BAS 850H	1,5-диметил -6-тіоксо -3-(2,2,7-трифтор -3-оксо-4-(проп-2-иніл)-3,4-дигідро -2h- бензо[b][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5- траїзинан-2,4-діон	4	R128H, F420V	95	7,63E-08	
BAS 850H	1,5-диметил -6-тіоксо -3-(2,2,7-трифтор -3-оксо-4-(проп-2-иніл)-3,4-дигідро -2h- бензо[b][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5- траїзинан-2,4-діон	4	R128M, F420M	184	2,64E-08	
	траїзинан-2,4-діон					
BAS 850H	1,5-диметил -6-тіоксо -3-(2,2,7-трифтор -3-оксо-4-(проп-2-иніл)-3,4-дигідро -2h- бензо[b][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5- траїзинан-2,4-діон	4	R128H, F420M	196	2,13E-08	
850 analogon	2-(2,2,7-трифтор -3-оксо-4-проп-2-иніл- 1,4-бензоксазин-6-іл)-4,5,6,7- тетрагідроізоіндол-1,3-діон	2 або 4	WT	650	1,46E-10	
850 analogon	2-(2,2,7-трифтор -3-оксо-4-проп-2-иніл- 1,4-бензоксазин-6-іл)-4,5,6,7- тетрагідроізоіндол-1,3-діон	4	R128A, F420M	365	6,41E-07	
850 analogon	2-(2,2,7-трифтор -3-оксо-4-проп-2-иніл- 1,4-бензоксазин-6-іл)-4,5,6,7- тетрагідроізоіндол-1,3-діон	4	R128A, F420L	343	1,14E-06	
850 analogon	2-(2,2,7-трифтор -3-оксо-4-проп-2-иніл- 1,4-бензоксазин-6-іл)-4,5,6,7- тетрагідроізоіндол-1,3-діон	4	R128A, F420V	650	2,74E-07	
850 analogon	2-(2,2,7-трифтор -3-оксо-4-проп-2-иніл- 1,4-бензоксазин-6-іл)-4,5,6,7- тетрагідроізоіндол-1,3-діон	4	R128I, F420L	198	$\geq 1,00E-05$	5
850 analogon	2-(2,2,7-трифтор -3-оксо-4-проп-2-иніл- 1,4-бензоксазин-6-іл)-4,5,6,7- тетрагідроізоіндол-1,3-діон	4	R128I, F420V	326	4,32E-06	

850 analogon	2-(2,2,7-трифтор -3-оксо-4-проп-2-иніл-1,4-бензоксазин-6-іл)-4,5,6,7-тетрагідрізоіндол-1,3-діон	4	R128V, F420M	482	3,11E-06	
850 analogon	2-(2,2,7-трифтор -3-оксо-4-проп-2-иніл-1,4-бензоксазин-6-іл)-4,5,6,7-тетрагідрізоіндол-1,3-діон	4	R128M, F420M	323	≥ 1,00E-05	48
850 analogon	2-(2,2,7-трифтор -3-оксо-4-проп-2-иніл-1,4-бензоксазин-6-іл)-4,5,6,7-тетрагідрізоіндол-1,3-діон	4	R128Y, F420I	75	≥ 1,00E-05	32
850 analogon	2-(2,2,7-трифтор -3-оксо-4-проп-2-иніл-1,4-бензоксазин-6-іл)-4,5,6,7-тетрагідрізоіндол-1,3-діон	4	R128Y, F420M	175	≥ 1,00E-05	41
850 analogon	2-(2,2,7-трифтор -3-оксо-4-проп-2-иніл-1,4-бензоксазин-6-іл)-4,5,6,7-тетрагідрізоіндол-1,3-діон	4	R128N, F420M	174	≥ 1,00E-05	43
850 analogon	2-(2,2,7-трифтор -3-оксо-4-проп-2-иніл-1,4-бензоксазин-6-іл)-4,5,6,7-тетрагідрізоіндол-1,3-діон	4	R128C, F420L	186	≥ 1,00E-05	11
850 analogon	2-(2,2,7-трифтор -3-оксо-4-проп-2-иніл-1,4-бензоксазин-6-іл)-4,5,6,7-тетрагідрізоіндол-1,3-діон	4	R128C, F420V	225	3,70E-08	
850 analogon	2-(2,2,7-трифтор -3-оксо-4-проп-2-иніл-1,4-бензоксазин-6-іл)-4,5,6,7-тетрагідрізоіндол-1,3-діон	4	R128C, F420M	271	3,57E-08	
850 analogon	2-(2,2,7-трифтор -3-оксо-4-проп-2-иніл-1,4-бензоксазин-6-іл)-4,5,6,7-тетрагідрізоіндол-1,3-діон	4	R128H, F420M	196	3,07E-06	
850 analogon	1-метил-6-(трифторметил)-3-(2,2,7-трифтор -3-оксо-4-проп-2-иніл-1,4-бензоксазин-6-іл)піримідин-2,4-діон	2 або 4	WT	650	3,15E-10	
850 analogon	1-метил-6-(трифторметил)-3-(2,2,7-трифтор -3-оксо-4-проп-2-иніл-1,4-бензоксазин-6-іл)піримідин-2,4-діон	4	R128A, F420M	365	2,56E-09	
850 analogon	1-метил-6-(трифторметил)-3-(2,2,7-трифтор -3-оксо-4-проп-2-иніл-1,4-бензоксазин-6-іл)піримідин-2,4-діон	4	R128A, F420L	343	1,62E-08	
850 analogon	1-метил-6-(трифторметил)-3-(2,2,7-трифтор -3-оксо-4-проп-2-иніл-1,4-бензоксазин-6-іл)піримідин-2,4-діон	4	R128A, F420V	550	6,33E-09	
850 analogon	1-метил-6-(трифторметил)-3-(2,2,7-трифтор -3-оксо-4-проп-2-иніл-1,4-бензоксазин-6-іл)піримідин-2,4-діон	4	R128I, F420L	196	2,69E-07	
850 analogon	1-метил-6-(трифторметил)-3-(2,2,7-трифтор -3-оксо-4-проп-2-иніл-1,4-бензоксазин-6-іл)піримідин-2,4-діон	4	R128I, F420V	326	9,01E-08	
850 analogon	1-метил-6-(трифторметил)-3-(2,2,7-трифтор -3-оксо-4-проп-2-иніл-1,4-бензоксазин-6-іл)піримідин-2,4-діон	4	R128V, F420M	482	4,65E-08	

850 analogon	1-метил-5-(трифторметил)-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-проп-2-инил-1,4-бензоксазин-6-ил)пиримидин-2,4-діон	4	R128M, F420M	323	4.94E-08	
850 analogon	1-метил-5-(трифторметил)-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-проп-2-инил-1,4-бензоксазин-6-ил)пиримидин-2,4-діон	4	R128Y, F420I	75	4.48E-07	
850 analogon	1-метил-5-(трифторметил)-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-проп-2-инил-1,4-бензоксазин-6-ил)пиримидин-2,4-діон	4	R128Y, F420M	175	1.13E-07	
850 analogon	1-метил-5-(трифторметил)-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-проп-2-инил-1,4-бензоксазин-6-ил)пиримидин-2,4-діон	4	R128N, F420M	174	5.94E-08	
850 analogon	1-метил-5-(трифторметил)-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-проп-2-инил-1,4-бензоксазин-6-ил)пиримидин-2,4-діон	4	R128C, F420L	188	6.72E-08	
850 analogon	1-метил-5-(трифторметил)-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-проп-2-инил-1,4-бензоксазин-6-ил)пиримидин-2,4-діон	4	R128C, F420V	225	2.69E-08	
850 analogon	1-метил-5-(трифторметил)-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-проп-2-инил-1,4-бензоксазин-6-ил)пиримидин-2,4-діон	4	R128C, F420M	271	1.11E-08	
850 analogon	1-метил-5-(трифторметил)-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-проп-2-инил-1,4-бензоксазин-6-ил)пиримидин-2,4-діон	4	R128H, F420M	190	1.05E-08	
	метил 2-[2-[2-хлор-4-фтор-5-[3-метил-2,6-діоксо-4-(трифторметил)пиримидин-1-ил]фенокси]фенокси]-2-метокси-ацетат	2 або 4	WT	650	4.11E-10	
	метил 2-[2-[2-хлор-4-фтор-5-[3-метил-2,6-діоксо-4-(трифторметил)пиримидин-1-ил]фенокси]фенокси]-2-метокси-ацетат	4	R128A, F420M	321	8.19E-09	
	метил 2-[2-[2-хлор-4-фтор-5-[3-метил-2,6-діоксо-4-(трифторметил)пиримидин-1-ил]фенокси]фенокси]-2-метокси-ацетат	4	R128A, F420L	343	4.70E-08	
	метил 2-[2-[2-хлор-4-фтор-5-[3-метил-2,6-діоксо-4-(трифторметил)пиримидин-1-ил]фенокси]фенокси]-2-метокси-ацетат	4	R128A, F420V	555	2.32E-08	
	метил 2-[2-[2-хлор-4-фтор-5-[3-метил-2,6-діоксо-4-(трифторметил)пиримидин-1-ил]фенокси]фенокси]-2-метокси-ацетат	4	R128I, F420L	186	7.13E-08	
	метил 2-[2-[2-хлор-4-фтор-5-[3-метил-2,6-діоксо-4-(трифторметил)пиримидин-1-ил]фенокси]фенокси]-2-метокси-ацетат	4	R128I, F420I	95	2.27E-08	

метил 2-[2-[2-хлор-4-фтор-5-[3-метил-2,6-діоксо-4-(трифторметил)піримідин-1-іл]фенокси]фенокси]-2-метокси-ацетат	4	R128I, F420V	326	1,71E-08	
метил 2-[2-[2-хлор-4-фтор-5-[3-метил-2,6-діоксо-4-(трифторметил)піримідин-1-іл]фенокси]фенокси]-2-метокси-ацетат	4	R128I, F420M	328	1,15E-08	
метил 2-[2-[2-хлор-4-фтор-5-[3-метил-2,6-діоксо-4-(трифторметил)піримідин-1-іл]фенокси]фенокси]-2-метокси-ацетат	4	R128V, F420M	482	1,49E-08	
метил 2-[2-[2-хлор-4-фтор-5-[3-метил-2,6-діоксо-4-(трифторметил)піримідин-1-іл]фенокси]фенокси]-2-метокси-ацетат	4	R128M, F420M	235	1,62E-08	
метил 2-[2-[2-хлор-4-фтор-5-[3-метил-2,6-діоксо-4-(трифторметил)піримідин-1-іл]фенокси]фенокси]-2-метокси-ацетат	4	R128Y, F420I	75	2,86E-08	
метил 2-[2-[2-хлор-4-фтор-5-[3-метил-2,6-діоксо-4-(трифторметил)піримідин-1-іл]фенокси]фенокси]-2-метокси-ацетат	4	R128Q, F420M	153	4,76E-08	
метил 2-[2-[2-хлор-4-фтор-5-[3-метил-2,6-діоксо-4-(трифторметил)піримідин-1-іл]фенокси]фенокси]-2-метокси-ацетат	4	R128Q, F420M	432	7,14E-08	
метил 2-[2-[2-хлор-4-фтор-5-[3-метил-2,6-діоксо-4-(трифторметил)піримідин-1-іл]фенокси]фенокси]-2-метокси-ацетат	4	R128H, F420L	193	4,47E-08	
метил 2-[2-[2-хлор-4-фтор-5-[3-метил-2,6-діоксо-4-(трифторметил)піримідин-1-іл]фенокси]фенокси]-2-метокси-ацетат	4	R128H, F420I	191	7,54E-08	
метил 2-[2-[2-хлор-4-фтор-5-[3-метил-2,6-діоксо-4-(трифторметил)піримідин-1-іл]фенокси]фенокси]-2-метокси-ацетат	4	R128N, F420M	174	1,20E-07	
метил 2-[2-[2-хлор-4-фтор-5-[3-метил-2,6-діоксо-4-(трифторметил)піримідин-1-іл]фенокси]фенокси]-2-метокси-ацетат	4	R128C, F420V	225	1,16E-08	
метил 2-[2-[2-хлор-4-фтор-5-[3-метил-2,6-діоксо-4-(трифторметил)піримідин-1-іл]фенокси]фенокси]-2-метокси-ацетат	4	R128C, F420M	271	1,16E-08	

метил 2-[2-[2-хлор-4-фтор-5-[3-метил-2,6-діоксо-4-(трифторметил)піримідин-1-іл]фенокси]фенокси]-2-метокси-ацетат	4	R128F, F420L	129	4.84E-08	
метил 2-[2-[2-хлор-4-фтор-5-[3-метил-2,6-діоксо-4-(трифторметил)піримідин-1-іл]фенокси]фенокси]-2-метокси-ацетат	4	R128F, F420M	136	2.61E-09	
метил 2-[2-[2-хлор-4-фтор-5-[3-метил-2,6-діоксо-4-(трифторметил)піримідин-1-іл]фенокси]фенокси]-2-метокси-ацетат	4	R128S, F420M	328	3.62E-08	
метил 2-[2-[2-хлор-4-фтор-5-[3-метил-2,6-діоксо-4-(трифторметил)піримідин-1-іл]фенокси]фенокси]-2-метокси-ацетат	4	R128T, F420M	275	2.79E-08	
метил 2-[2-[2-хлор-4-фтор-5-[3-метил-2,6-діоксо-4-(трифторметил)піримідин-1-іл]фенокси]фенокси]-2-метокси-ацетат	4	R128H, F420V	95	6.93E-09	
метил 2-[2-[2-хлор-4-фтор-5-[3-метил-2,6-діоксо-4-(трифторметил)піримідин-1-іл]фенокси]фенокси]-2-метокси-ацетат	4	R128H, F420M	196	1.76E-08	
2-етоксиметил 2-[2-[2-хлор-4-фтор-5-[3-метил-2,6-діоксо-4-(трифторметил)піримідин-1-іл]фенокси]фенокси]-2-метокси-ацетат	2 або 4	WT	650	3.80E-10	
2-етоксиметил 2-[2-[2-хлор-4-фтор-5-[3-метил-2,6-діоксо-4-(трифторметил)піримідин-1-іл]фенокси]фенокси]-2-метокси-ацетат	4	R128A, F420M	321	1.51E-08	
2-етоксиметил 2-[2-[2-хлор-4-фтор-5-[3-метил-2,6-діоксо-4-(трифторметил)піримідин-1-іл]фенокси]фенокси]-2-метокси-ацетат	4	R128A, F420V	555	2.92E-08	
2-етоксиметил 2-[2-[2-хлор-4-фтор-5-[3-метил-2,6-діоксо-4-(трифторметил)піримідин-1-іл]фенокси]фенокси]-2-метокси-ацетат	4	R128I, F420M	328	1.38E-08	
2-етоксиметил 2-[2-[2-хлор-4-фтор-5-[3-метил-2,6-діоксо-4-(трифторметил)піримідин-1-іл]фенокси]фенокси]-2-метокси-ацетат	4	R128M, F420M	235	2.24E-08	
2-етоксиметил 2-[2-[2-хлор-4-фтор-5-[3-метил-2,6-діоксо-4-(трифторметил)піримідин-1-іл]фенокси]фенокси]-2-метокси-ацетат	4	R128S, F420M	328	4.68E-08	

2-етоксиметил-2-[2-(2-хлор-4-фтор-5-[3-метил-2,6-діоксо (трифторметил)піримідин- іл]фенокси)фенокси]-2-метокси-ацетат	-4- 1- 4	R128T, F420M	275	2,93E-06	
циклогексил-2-[2-(2-хлор-4-фтор-5-[3-метил-2,6-діоксо (трифторметил)піримідин- іл]фенокси)фенокси]-2-метокси-ацетат	-4- 1- 2 вбн 4	WT	650	5,23E-10	
циклогексил-2-[2-(2-хлор-4-фтор-5-[3-метил-2,6-діоксо (трифторметил)піримідин- іл]фенокси)фенокси]-2-метокси-ацетат	-4- 1- 4	R128A, F420M	321	2,27E-08	
циклогексил-2-[2-(2-хлор-4-фтор-5-[3-метил-2,6-діоксо (трифторметил)піримідин- іл]фенокси)фенокси]-2-метокси-ацетат	-4- 1- 4	R128A, F420L	343	9,37E-08	
циклогексил-2-[2-(2-хлор-4-фтор-5-[3-метил-2,6-діоксо (трифторметил)піримідин- іл]фенокси)фенокси]-2-метокси-ацетат	-4- 1- 4	R128A, F420V	555	4,16E-06	
циклогексил-2-[2-(2-хлор-4-фтор-5-[3-метил-2,6-діоксо (трифторметил)піримідин- іл]фенокси)фенокси]-2-метокси-ацетат	-4- 1- 4	R128I, F420L	195	1,67E-07	
циклогексил-2-[2-(2-хлор-4-фтор-5-[3-метил-2,6-діоксо (трифторметил)піримідин- іл]фенокси)фенокси]-2-метокси-ацетат	-4- 1- 4	R128I, F420I	95	1,82E-06	
циклогексил-2-[2-(2-хлор-4-фтор-5-[3-метил-2,6-діоксо (трифторметил)піримідин- іл]фенокси)фенокси]-2-метокси-ацетат	-4- 1- 4	R128I, F420V	329	3,78E-08	
циклогексил-2-[2-(2-хлор-4-фтор-5-[3-метил-2,6-діоксо (трифторметил)піримідин- іл]фенокси)фенокси]-2-метокси-ацетат	-4- 1- 4	R128I, F420M	328	1,06E-08	
циклогексил-2-[2-(2-хлор-4-фтор-5-[3-метил-2,6-діоксо (трифторметил)піримідин- іл]фенокси)фенокси]-2-метокси-ацетат	-4- 1- 4	R128V, F420M	482	1,48E-08	
циклогексил-2-[2-(2-хлор-4-фтор-5-[3-метил-2,6-діоксо (трифторметил)піримідин- іл]фенокси)фенокси]-2-метокси-ацетат	-4- 1- 4	R128M, F420M	235	3,22E-08	
циклогексил-2-[2-(2-хлор-4-фтор-5-[3-метил-2,6-діоксо (трифторметил)піримідин- іл]фенокси)фенокси]-2-метокси-ацетат	-4- 1- 3	R128Y, F420I	75	6,82E-07	

циклогексил 2-[2-[2-хлор-4-фтор-5-[3-метил-2,6-діоксо (трифторметил)піримідин- in]фенокси]фенокси]-2-метокси-ацетат	-4- 1-	4	R128G, F420M	153	5,14E-08	
циклогексил 2-[2-[2-хлор-4-фтор-5-[3-метил-2,6-діоксо (трифторметил)піримідин- in]фенокси]фенокси]-2-метокси-ацетат	-4- 1-	4	R128Q, F420M	432	1,72E-07	
циклогексил 2-[2-[2-хлор-4-фтор-5-[3-метил-2,6-діоксо (трифторметил)піримідин- in]фенокси]фенокси]-2-метокси-ацетат	-4- 1-	4	R128H, F420L	193	6,93E-07	
циклогексил 2-[2-[2-хлор-4-фтор-5-[3-метил-2,6-діоксо (трифторметил)піримідин- in]фенокси]фенокси]-2-метокси-ацетат	-4- 1-	4	R128H, F420I	191	1,31E-06	
циклогексил 2-[2-[2-хлор-4-фтор-5-[3-метил-2,6-діоксо (трифторметил)піримідин- in]фенокси]фенокси]-2-метокси-ацетат	-4- 1-	4	R128N, F420M	174	1,48E-07	
циклогексил 2-[2-[2-хлор-4-фтор-5-[3-метил-2,6-діоксо (трифторметил)піримідин- in]фенокси]фенокси]-2-метокси-ацетат	-4- 1-	4	R128C, F420V	225	1,01E-07	
циклогексил 2-[2-[2-хлор-4-фтор-5-[3-метил-2,6-діоксо (трифторметил)піримідин- in]фенокси]фенокси]-2-метокси-ацетат	-4- 1-	4	R128C, F420M	271	2,98E-08	
циклогексил 2-[2-[2-хлор-4-фтор-5-[3-метил-2,6-діоксо (трифторметил)піримідин- in]фенокси]фенокси]-2-метокси-ацетат	-4- 1-	4	R128F, F420L	128	1,18E-06	
циклогексил 2-[2-[2-хлор-4-фтор-5-[3-метил-2,6-діоксо (трифторметил)піримідин- in]фенокси]фенокси]-2-метокси-ацетат	-4- 1-	4	R128F, F420M	136	6,26E-08	
циклогексил 2-[2-[2-хлор-4-фтор-5-[3-метил-2,6-діоксо (трифторметил)піримідин- in]фенокси]фенокси]-2-метокси-ацетат	-4- 1-	4	R128S, F420M	328	5,24E-08	
циклогексил 2-[2-[2-хлор-4-фтор-5-[3-метил-2,6-діоксо (трифторметил)піримідин- in]фенокси]фенокси]-2-метокси-ацетат	-4- 1-	4	R128T, F420M	275	1,17E-07	
циклогексил 2-[2-[2-хлор-4-фтор-5-[3-метил-2,6-діоксо (трифторметил)піримідин- in]фенокси]фенокси]-2-метокси-ацетат	-4- 1-	4	R128H, F420V	95	9,06E-08	

циклопентил 2-[2-(2-хлор-4-фтор-5-[3-метил-2,6-діоксо (трифторметил)піримідин- іл]фенокси)фенокси]-2-метокси-ацетат	-4- 1- 1	4	R128H, F420M	195	2,97E-07	
4-піридилметил 2-[2-(2-хлор-4-фтор-5-[3-метил-2,6-діоксо (трифторметил)піримідин- іл]фенокси)фенокси]-2-метокси-ацетат	-4- 1- 1	2 або 4	WT	650	4,27E-10	
4-піридилметил 2-[2-(2-хлор-4-фтор-5-[3-метил-2,6-діоксо (трифторметил)піримідин- іл]фенокси)фенокси]-2-метокси-ацетат	-4- 1- 1	4	R128A, F420M	321	1,22E-08	
4-піридилметил 2-[2-(2-хлор-4-фтор-5-[3-метил-2,6-діоксо (трифторметил)піримідин- іл]фенокси)фенокси]-2-метокси-ацетат	-4- 1- 1	4	R128A, F420V	555	2,61E-08	
4-піридилметил 2-[2-(2-хлор-4-фтор-5-[3-метил-2,6-діоксо (трифторметил)піримідин- іл]фенокси)фенокси]-2-метокси-ацетат	-4- 1- 1	4	R128i, F420M	328	1,56E-08	
4-піридилметил 2-[2-(2-хлор-4-фтор-5-[3-метил-2,6-діоксо (трифторметил)піримідин- іл]фенокси)фенокси]-2-метокси-ацетат	-4- 1- 1	4	R128M, F420M	235	3,34E-06	
4-піридилметил 2-[2-(2-хлор-4-фтор-5-[3-метил-2,6-діоксо (трифторметил)піримідин- іл]фенокси)фенокси]-2-метокси-ацетат	-4- 1- 1	4	R128S, F420M	328	5,65E-08	
4-піридилметил 2-[2-(2-хлор-4-фтор-5-[3-метил-2,6-діоксо (трифторметил)піримідин- іл]фенокси)фенокси]-2-метокси-ацетат	-4- 1- 1	4	R128T, F420M	275	5,88E-08	
(1-метилциклопропіл)метил 2-[2-(2-хлор-4-фтор-5-[3-метил-2,6-діоксо (трифторметил)піримідин- іл]фенокси)фенокси]-2-метокси-ацетат	-4- 1- 1	2 або 4	WT	650	4,16E-10	
(1-метилциклопропіл)метил 2-[2-(2-хлор-4-фтор-5-[3-метил-2,6-діоксо (трифторметил)піримідин- іл]фенокси)фенокси]-2-метокси-ацетат	-4- 1- 1	4	R128A, F420M	321	1,19E-08	
(1-метилциклопропіл)метил 2-[2-(2-хлор-4-фтор-5-[3-метил-2,6-діоксо (трифторметил)піримідин- іл]фенокси)фенокси]-2-метокси-ацетат	-4- 1- 1	4	R128A, F420V	555	4,26E-08	
(1-метилциклопропіл)метил 2-[2-(2-хлор-4-фтор-5-[3-метил-2,6-діоксо (трифторметил)піримідин- іл]фенокси)фенокси]-2-метокси-ацетат	-4- 1- 1	4	R128i, F420M	328	1,37E-08	

(1-метилциклопропіл)метил хлор-4-фтор-5-[3-метил-2,6-діоксо (трифторметил)піримідин- іл]фенокси]фенокси-2-метокси-ацетат	2-[2- -4- 1- 4	R128M, F420M	235	2,47E-08	
(1-метилциклопропіл)метил хлор-4-фтор-5-[3-метил-2,6-діоксо (трифторметил)піримідин- іл]фенокси]фенокси-2-метокси-ацетат	2-[2- -4- 1- 4	R128S, F420M	328	8,94E-08	
(1-метилциклопропіл)метил хлор-4-фтор-5-[3-метил-2,6-діоксо (трифторметил)піримідин- іл]фенокси]фенокси-2-метокси-ацетат	2-[2- -4- 1- 4	R128T, F420M	275	6,77E-08	
2,2-дифторетил 2-[2-[2-хлор-4-фтор-5- [3-метил-2,6-діоксо (трифторметил)піримідин- іл]фенокси]фенокси-2-метокси-ацетат	-4- 1- 2 або 4	WT	550	4,43E-10	
2,2-дифторетил 2-[2-[2-хлор-4-фтор-5- [3-метил-2,6-діоксо (трифторметил)піримідин- іл]фенокси]фенокси-2-метокси-ацетат	-4- 1- 4	R128A, F420M	321	4,93E-08	
2,2-дифторетил 2-[2-[2-хлор-4-фтор-5- [3-метил-2,6-діоксо (трифторметил)піримідин- іл]фенокси]фенокси-2-метокси-ацетат	-4- 1- 4	R128A, F430V	555	6,42E-08	
2,2-дифторетил 2-[2-[2-хлор-4-фтор-5- [3-метил-2,6-діоксо (трифторметил)піримідин- іл]фенокси]фенокси-2-метокси-ацетат	-4- 1- 4	R128I, F420M	328	4,61E-08	
2,2-дифторетил 2-[2-[2-хлор-4-фтор-5- [3-метил-2,6-діоксо (трифторметил)піримідин- іл]фенокси]фенокси-2-метокси-ацетат	-4- 1- 4	R128M, F420M	235	1,06E-07	
2,2-дифторетил 2-[2-[2-хлор-4-фтор-5- [3-метил-2,6-діоксо (трифторметил)піримідин- іл]фенокси]фенокси-2-метокси-ацетат	-4- 1- 4	R128S, F420M	328	9,94E-08	
2,2-дифторетил 2-[2-[2-хлор-4-фтор-5- [3-метил-2,6-діоксо (трифторметил)піримідин- іл]фенокси]фенокси-2-метокси-ацетат	-4- 1- 4	R128T, F420M	275	1,50E-07	

IC₅₀ (M): концентрація інгібітора, потрібна для іншібування 50% активності ферменту;
 5 ≥1,00E-5: вказує на дуже високі значення IC₅₀ поза межами вимірювань, що відповідає дуже
 високій толерантності in vitro.

Приклад 5: Конструювання ППО-похідних толерантних до гербіциду рослин, що мають
 послідовності ППО дикого типу та мутантні послідовності ППО.

10 ППО-похідні толерантні до гербіциду рослини сої (*Glycine max*), кукурудзи (*Zea mays*) та
 каноли (*Brassica napus* або *Brassica Rapa* var. або *Brassica campestris* L.) одержували за
 способом, описаним Olhoft et al. (патент США 2009/0049567). Для трансформації сої або
Arabidopsis thaliana, мутантні послідовності ППО або послідовності ППО дикого типу на основі
 15 однієї з наступних послідовностей SEQ ID NO: 1 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29,
 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, клонували за стандартними техніками клонування, як описано у
 Sambrook et al. (Molecular cloning (2001) Cold Spring Harbor Laboratory Press) у бінарний вектор,
 що містив касету із маркерним геном резистентності (AHAS) та мутовану послідовність ППО
 (позначену як GOI) між промотором убіквітину (PcUbi) та термінаторною послідовністю
 20 нопалінсинтази (NOS). Для трансформації кукурудзи, мутантні послідовності ППО або
 послідовності ППО дикого типу клонували за стандартними техніками клонування, як описано у
 Sambrook et al. (Molecular cloning (2001) Cold Spring Harbor Laboratory Press) у бінарний вектор,
 що містив касету із маркерним геном резистентності (AHAS) та мутовану послідовність ППО

- (позначену як GOI) між промотором убіквітину (ZmUbi) та термінаторною послідовністю нопалінсинтази (NOS). Бінарні плазмідні конструкції вводили у *Agrobacterium tumefaciens* для трансформації рослини. Плазмідні конструкції вводили у аксілярні клітини меристеми сої біля первинного вузлу експлантатів саджанців за допомогою *Agrobacterium*-опосередкованої трансформації.
- Після інокуляції та спів-культивування із *Agrobacteria*, експлантати переносили до середовища, що ініціює ріст пагонів, без відбору протягом одного тижня. Експлантати потім переносили до середовища, що ініціює ріст пагонів, із вмістом імазапіру 1-3 мкМ (Arsenal) протягом 3 тижнів для відбору трансформованих клітин. Експлантати із здоровими калусами/брунька стебла біля первинного вузла, потім переносили до середовища, що ініціює подовження пагонів, яке містило 1-3 мкМ імазапіру, до подовження пагону або загибелі експлантату. Трансгенні паростки укорінювали, піддавали аналізу TaqMan на наявність трансгену, переносили у ґрунт та вирощували до зрілості у теплиці. Трансформацію рослин кукурудзи здійснювали за способом, описаним McElver та Singh (WO 2008/124495). Векторні конструкції для трансформації рослин, що містили мутовані послідовності ППО вводили у незрілі ембріони кукурудзи за допомогою *Agrobacterium*-опосередкованої трансформації.
- Трансформовані клітини відбирали у селективному середовищі, доповненому 0,5-1,5 мкМ імазетапіру, протягом 3-4 тижнів. Трансгенні паростки регенерували на регенераційному середовищі та після цього укорінювались. Трансгенні паростки піддавали аналізу TaqMan на наявність трансгену перед пересадкою у горшкову суміш та ували до зрілості у теплиці.
- Arabidopsis thaliana* трансформували мутантними послідовностями ППО або послідовностями ППО дикого типу за способом квіткового занурення, як описано у McElver та Singh (WO 2008/124495). Трансгенні рослини *Arabidopsis* рослини піддавали аналізу TaqMan на аналіз кількості локусів інтеграції. Трансформацію *Oryza sativa* (рис) здійснювали за допомогою трансформації протопласту, як описано Peng et al. (US 6653529) T0 або T1 трансгенні рослини сої, кукурудзи та рису, що містили мутовані послідовності ППО, тестували на покращену толерантність до ППО-похідного гербіциду у дослідженнях у теплиці та дослідженнях на міні-ділянках із наступними ППО-інгібуючими гербіцидами: сафлуфенацил, 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-иніл)-3,4-дигідро-2H-бензо[b][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-тріазинан-2,4-діон (CAS 1258836-72-4), флуміоксазин, бутафенацил, ацифлуорфен, лактофен, біфенокс, сульфентразон, та інгібітором фотосинтезу діуроном як негативний контроль.

Таблиця 5а

Аналіз проростання

Дослідження толерантності із: 1,5-диметил -6-тіоксо -3-(2,2,7-трифтор -3-оксо-4-(проп-2-иніл)-3,4-дигідро -2H-бензо[b][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-тріазинан-2,4-діоном			
Тест	SEQ ID NO	Мутація	Фактор толерантності (нетрансгенна <i>Arabidopsis</i> = 1)
1	4	R128A, F420V	300
2	4	R128A, F420V	300
3	4	R128A, F420V	3
4	4	R128A, F420V	300
5	4	R128A, F420V	300
6	4	R128A, F420V	200
7	4	R128A, F420V	3
8	4	R128A, F420V	300
9	4	R128A, F420V	300
10	4	R128A, F420V	300
11	4	R128A, F420V	40
12	4	R128A, F420V	3
13	4	R128A, F420V	300
14	4	R128A, F420V	3
15	4	R128A, F420V	200
16	4	R128A, F420V	200
17	4	R128A, F420V	300
18	4	R128A, F420V	3

Таблиця 5а (продовження)

Тест	SEQ ID NO	Мутація	Фактор толерантності (нетрансгенна Arabidopsis = 1)
19	4	R128A, F420V	75
20	4	R128A, F420V	200
21	4	R128A, F420V	300
22	4	R128A, F420V	3
23	4	R128A, F420V	8
24	4	R128A, F420V	75
25	4	R128A, F420V	200
26	4	R128A, F420V	300
1	4	F420V	75
2	4	F420V	75
3	4	F420V	35
4	4	F420V	75
5	4	F420V	300
6	4	F420V	300
7	4	F420V	300
8	4	F420V	300
9	4	F420V	300
10	4	F420V	300
11	4	F420V	3
12	4	F420V	8
13	4	F420V	300
14	4	F420V	20
15	4	F420V	300
16	4	F420V	300
17	4	F420V	300
18	4	F420V	35
19	4	F420V	3
20	4	F420V	300
21	4	F420V	300
22	4	F420V	300
23	4	F420V	300
24	4	F420V	300

Таблиця 5b

Відносні рівні толерантності трансгенних рослин Arabidopsis, порівняно із нетрансгенною рослиною Arabidopsis (нетрансгенний = 1.0), оброблених різними інгібіторами ППО. Інгібування росту оцінювали через 7-10 діб після посіву, порівняно із рослинами дикого типу.

Мут. ППО	Сафлу- фен- ацил	1,5-диметил-6- тіоксо-3-(2,2,7- трифтор-3-оксо-4- (проп-2-иніл)-3,4- дигідро-2Н- бензо[b][1,4]оксазин- 6-іл)-1,3,5-траізинан- 2,4-діон	Флумі- оксазин	Фомеса-фен	лактофен	Сульфен- тазон
AMATU_ PPO2_wt	10	13	17	19	8	
AMATU_ PPO2_dG210	100	33	107	29	19	203
AMATU_PPO2_ R128L	160	23	126	27	22	186

Таблиця 5b (продовження)

Мут. ППО	Сафлу- фен- ацил	1,5-диметил-6- тіоксо-3-(2,2,7- трифтор-3-оксо-4- (проп-2-иніл)-3,4- дигідро-2Н- бензо[б][1,4]оксазин- 6-іл)-1,3,5-траізинан- 2,4-діон	Флумі- оксазин	Фомеса-фен	лактофен	Сульфен- тазон
AMATU_PPO2_ dG210_R128L	1200	153	271	29	29	244
AMATU_PPO2_ F420I	80	367	286	18	17	193
AMATU_PPO2_ F420M	168	102	271	29	29	161
AMATU_PPO2_ F420L	192	253	286	23	19	111
AMATU_PPO2_ R128A_F420I	1200	333	286	29	27	621
AMATU_PPO2_ R128A_F420L	1200	333	286	29	29	717
AMATU_PPO2_ R128A_F420M	1160	204	286	29	29	

Таблиця 5 c

Фітотоксичні дані трансгенних рослин Arabidopsis, порівняно із нетрансгенною рослиною Arabidopsis (нетрансгенна = 100% пошкодження), оброблених 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-иніл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[б][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-траізинан-2,4-діоном.

				Шкала пошкоджень 0 - 100% (0 = пошкодження відсутнє, 100 = повне знищення)		
				300	150	75
Лінія	Оцінка DAT (DAT = дні після обробки)	SEQ_ID	Заміщення	1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7- трифтор-3-оксо-4-(проп-2-иніл)-3,4- дигідро-2Н-бензо[б][1,4]оксазин-6- іл)-1,3,5-траізинан-2,4-діон г/га + 1%MSO		
1	7	2 & 4	R128A_F420V	40	95	95
1	7	2 & 4	R128A_F420V	100	25	0
1	7	2 & 4	R128A_F420V	25	35	35
1	19	2 & 4	R128A_F420V	28	90	90
1	19	2 & 4	R128A_F420V	100	60	25
1	19	2 & 4	R128A_F420V	25	30	30
2	7	2 & 4	F420V	98	95	95
2	7	2 & 4	F420V	25	90	15
2	7	2 & 4	F420V	25	15	15
2	19	2 & 4	F420V	95	90	98
2	19	2 & 4	F420V	55	85	40
2	19	2 & 4	F420V	45	45	30

Таблиця 5d

Відносні рівні толерантності трансгенних рослин *Arabidopsis*, порівняно із нетрансгенною рослиною *Arabidopsis* за шкалою 0 – 100, де 100 означає 100% пошкодження, оброблених окремим інгібітором ППО та їх сумішами (наприклад, Сафлуфенацил + 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-иніл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[б][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-траїзинан-2,4-діон). Пошкодження росту рослини оцінювали через 7-10 днів після нанесення, порівняно із рослинами дикого типу

			нетрансгенні Arabidopsis	нетрансгенні Arabidopsis	нетрансгенні Arabidopsis	Ø нетрансгенні Arabidopsis	Ø R128A, F420V 1	Ø R128A, F420V 2	Ø R128A, F420V 3	Ø F420V 1	Ø F420V 2	Ø F420V 3	Ø R128A, F420V 1-3	Ø F420V 1-3
			POST	POST	POST	POST	POST	POST	POST	POST	POST	POST		
ППО гербіцид (+ 1% MSO)	га/га Т	ДА	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	Ø R128A, F420V 1-3	Ø F420V 1-3
Сафлуфенацил + 1,5-диметил 6-тіоксо (2,2,7-трифтор 3-оксо-4-(проп- 2-иніл)-3,4- дигідро бензо[б][1,4]окса- зин-6-іл)-1,3,5- траїзинан-2,4- діон	50 -25 -3-25 -50 100 50 -2Н-50 100 200 100	+	98	98	98	98	23	23	21	33	33	27	22	31
			98	98	98	98	16	19	16	27	22	16	17	22
			98	98	98	98	15	26	23	55	47	43	21	48
			98	98	98	98	10	20	28	35	33	31	19	33
			98	98	98	98	25	23	28	63	60	66	25	83
	100 200	+	98	98	98	98	30	29	26	58	45	56	26	53
Сафлуфенацил	75 150 300		98	98	98	98	16	22	18	39	36	51	18	42
			98	98	98	98	18	24	18	60	55	66	20	60
			98	98	98	98	22	22	19	77	72	78	21	76
1,5-диметил-6- тіоксо-3-(2,2,7- трифтор-3-оксо- 4-(проп-2-иніл)- 3,4-дигідро-2Н- бензо[б][1,4]окса- зин-6-іл)-1,3,5- траїзинан-2,4- діон	75 150 300		98	98	98	98	18	24	11	17	9	8	18	11
			98	98	98	98	23	20	30	28	11	12	24	17
			98	98	98	98	26	33	36	36	22	22	32	26

Таблиця 5 в показує фітотоксичні оцінки по шкалі 0 – 100, де 100 означає 100% пошкодження.

		ARBTH WT	AMATU_PPO2_R128A_F42 0V	AMATU_PPO2_R128A_F42 0V	AMATU_PPO2_R128A_F42 0V	AMATU_PPO2_L337D_F420 V	AMATU_PPO2_L337D_F420 V
	Обробка	1	A	B	D	O	P
Сполука	г а/га						
KIKCOR +	75 + 400						
	+ 3750	100	8	0	20	0	7
VALOR (ФЛУМІОКСАЗИН)	50 + 200						
	+ 3750						
+		100	0	0	12	0	7
DESTINY HC	25 + 100						
	+ 3750	100	0	17	12	0	3
KIKCOR +	75 + 120						
	+ 3750	100	5	3	13	15	22
SPOTLIGHT (Карфентразон) +	50 + 50 +						
	3750	100	0	3	3	5	7
	25 + 30 +						
DESTINY HC	3750	100	0	7	3	3	3
KIKCOR +	75 + 200						
	+ 3750	100	3	8	22	13	15
BAS 850 00 H +	50 + 100						
	+ 3750	100	0	7	13	10	10
	25 + 50 +						
DESTINY HC	3750	100	0	15	15	7	7
BAS 850 00 H +	200 + 400						
	+ 3750	100	10	12	20	17	17
VALOR (ФЛУМІОКСАЗИН)	100 + 200						
	+ 3750						
+		100	2	7	13	10	10
DESTINY HC	50 + 100	100	0	0	3	3	0

	+ 3750						
BAS 850 00 H +	200 + 120						
	+ 3750	100	8	20	23	17	20
SPOTLIGHT	100 + 60						
(Карфентразон) +	+ 3750	100	3	12	7	8	7
	50 + 30 +						
DESTINY HC	3750	100	0	7	7	0	3

Таблиця 5f показує фітотоксичні оцінки за шкалою 0 – 100, де 100 означає 100% пошкодження.

5

		ARBTH WT	AMATU_PPO2 F420V				AMATU_PPO2 R128A_F420V				AMATU_PPO2 L397D				AMATU_PPO2 L397D_F420V			
	дублювання	1	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
Сполука	г/га																	
Кіксор	200	100	85	90	95	80	10	10	40	10	95	95	85	90	30	0	10	10
	100	100	65	70	70	65	10	0	10	10	85	85	80	80	10	0	20	10
	50	100	50	30	50	50	0	0	10	10	65	65	50	70	10	20	10	40
BAS 850H	300	100	70	50	40	50	20	30	20	30	90	100	70	85	10	20	50	10
	150	100	60	40	40	65	10	10	40	50	75	70	70	70	20	10	30	0
	75	100	30	40	30	40	0	0	10	20	70	80	60	65	10	10	40	10
Карфентразон	200	100	40	10	50	20	30	40	10	10	65	60	50	65	20	20	20	10
	100	100	10	10	40	20	10	10	10	10	60	50	30	30	20	20	50	10
	50	100	10	10	40	10	10	10	30	0	30	60	20	30	30	10	50	20
Кіксор Карфентразон	75 + 120	100	40	70	75	65	10	10	10	10	90	80	55	65	40	30	10	10
	+ 37,5 + 60	100	30	65	70	50	10	30	0	0	70	80	55	50	10	10	10	10
	18,75 + 30	100	30	30	30	30	10	30	30	0	60	70	10	20	10	10	75	20

Таблиця 5g показує фітотоксичні оцінки за шкалою 0 – 100, де 100 означає 100% пошкодження.

10

Сполука	Дублювання г айга	дикий тип	AMATU_PPO2_F420M		AMATU_PPO2_R128A_F420M		AMATU_PPO2_R128A_F420V		AMATU_PPO2_L397D_F420V		AMATU_PPO2_L397D	
	Обробка		A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
Оксифлуорфен Хіксор MSO 1%	800 + 75 + 3750	100	70	73	15	5	75	55	7,5	75	78	73
	800 + 50 + 3750	100	65	63	18	10	60	53	23	83	78	68
	800 + 25 + 3750	100	65	58	13	13	63	43	5	83	68	53
	800 + 400 + 3750	100	60	60	13	20	63	60	20	83	63	43
Оксифлуорфен ФЛУМІОКСАЗИН MSO 1%	800 + 200 + 3750	100	65	65	25	23	73	43	35	80	60	38
	800 + 100 + 3750	100	63	63	40	35	70	40	5	85	50	38
	800 + 200 + 3750	100	75	70	60	58	70	60	20	90	95	83
	800 + 100 + 3750	100	73	65	63	50	75	55	13	93	100	78
Оксифлуорфен BAS 850H MSO 1%	800 + 50 + 3750	100	73	50	43	50	73	60	25	88	88	70
	300 + 200 + 3750	100	85	85	63	55	80	78	60	97	90	73
	300 + 100 + 3750	100	85	85	58	55	85	78	70	95	93	83
	300 + 50 + 3750	100	93	83	48	55	85	80	63	94	90	75
Оксифлуорфен	800 + 600 + 3750	100	85	95	60	50	90	83	58	93	88	40

Приклад 6: Умови культури тканин.

- Аналіз мутагенезу культури тканин *in vitro* здійснювали для виділення та характеристики рослинних тканин (наприклад, кукурудзи, рису), толерантних до протопорфіриногеноксидаза-інгібуючих гербіцидів (сафлуфенацил, 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2H-бензо[b][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-тріазинан-2,4-діон (CAS 1258836-72-4),

флуміоксазин, бутафенацил, ацифлуорфен, лактофен, біфенокс, сульфентразон, та інгібітор фотосинтезу діурон як негативний контроль). У аналізі використовували соматоклональну варіацію, знайдену у культурі тканин *in vitro*. Спонтанні мутації, що походять від соматоклональної варіації, можуть бути посилені хімічним мутагенезом та наступною селекцією, поступово збільшуючи концентрацію гербіциду.

Даний винахід забезпечує умови культури тканин сприятливі для росту пухкого, ембріогенного калусу кукурудзи або рису, здатного до регенерації. Калуси ініціювали з 4 різних культиварів кукурудзи або рису, включаючи вирази *Zea mays* та *Japonica* (Taipеі 309, Nipponbare, Koshihikari) та *Indica* (*Indica* 1), відповідно. Поверхню насіння стерилізували у 70% етанолі протягом приблизно 1 хв., після чого у 20% комерційному дезінфекуючому розчині Clorox протягом 20 хв. Насіння промивали стерильною водою та поміщали у середовище індукції калусу. Тестували різні середовища індукції калусу. Список інгредієнтів для тестованих середовищ наведено у Таблиці 6.

Таблиця 6

Інгредієнт	Постачальник	R001M	R025M	R026M	R327M	R008M	MS711R
B5 вітаміни	Sigma					1,0 X	
MS солі	Sigma			1,0 X	1,0 X	1,0 X	1,0 X
MS вітаміни	Sigma			1,0 X	1,0 X		
N6 солі	Phytotech	4,0 г/л	4,0г/л				
N6 вітаміни	Phytotech	1,0 X	1,0 X				
L-пролін	Sigma	2,9 г/л	0,5 г/л				1,2 г/л
Касаміно кислоти	BD	0,3 г/л	0,3 г/л	2 г/л			
Гідролізат казеїну	Sigma						1,0 г/л
L-Asp моногідрат	Phytotech						150 мг/л
Нікотинова кислота	Sigma						0,5 мг/л
Піридоксин HCl	Sigma						0,5 мг/л
Таїмін HCl	Sigma						1,0 мг/л
Міо-інозитол	Sigma						100 мг/л
MES	Sigma	500 мг/л	500 мг/л	500 мг/л	500 мг/л	500 мг/л	500 мг/л
Мальтоза	VWR	30 г/л	30 г/л	30 г/л	30 г/л		
Сорбітом	Duchefa			30 г/л			
Цукроза	VWR					10 г/л	30 г/л
NAA	Duchefa					50 мкг/л	
2,4-D	Sigma	2,0 мг/л					1,0 мг/л
MgCl ₂ ·6H ₂ O	VWR					750 мг/л	
→pH		5,8	5,8	5,8	5,8	5,8	5,7
Гелріт	Duchefa	4,0 г/л				2,5 г/л	
Агароза тип 1	Sigma		7,0 г/л	10 г/л	10 г/л		
→автоклав		15 хв.	15 хв.	15 хв.	15 хв.	15 хв.	20 хв.
Кінетин	Sigma		2,0 мг/л	2,0 мг/л			
NAA	Duchefa		1,0 мг/л	1,0 мг/л			
ABA	Sigma		5,0 мг/л				
Цефотаксим	Duchefa		0,1 г/л	0,1 г/л	0,1 г/л		
Ванкоміцин	Duchefa		0,1 г/л	0,1 г/л	0,1 г/л		
G418 Дисульфат	Sigma		20 мг/л	20 мг/л	20 мг/л		

Середовище індукції калусу R001M вибрали після чисельних тестувань. Культури витримували у темноті при 30 °C. Ембріогенний калус субкультивували у свіжому середовищі через 10-14 діб.

Приклад 7: Відбір толерантних до гербіциду калусів.

Після визначення умов для культури тканин, подальше встановлення умов селекції здійснювали за допомогою аналізу виживаності тканин за кривими загибелі із сафлуфенацилом, 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2H-бензо[b][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-тріазинан-2,4-діоном (CAS 1258836-72-4), флуміоксазином, бутафенацилом, ацифлуорфеном, лактофеном, біфеноксом, сульфентразоном, та інгібітором фотосинтезу діуроном як негативним контролем. Здійснювали ретельний облік накопичення гербіциду у тканині, а також його стійкість та стабільність у клітинах та культуральному середовищі. За

допомогою цих експериментів встановлювали суб-летальну дозу для початкового відбору мутованого матеріалу. Після встановлення початкової дози сафлуфенацилу, 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[*b*][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-тріазинан-2,4-діону (CAS 1258836-72-4), флуміоксазину, бутафенацилу, ацифлуорфену, лактофену, біфеноксу, сульфентразону, та інгібітору фотосинтезу діурону як негативного контролю у селективному середовищі, тканин відбирали поступово підвищуючи концентрацію інгібітору ППО із кожним переносом до відновлення клітин, що енергійно росли при токсичних дозах. Отриманні калуси потім субкультивували кожні 3-4 тижні на R001M із селективним агентом. Понад 26000 калусів піддавали селекції на 4-5 субкультур до досягнення селективного тиску межі вищої за токсичні рівні, що визначалось за кривими загигелі та спостереженнями культури, що росте. Альтернативно, рідкі культури ініціювали з калусів у середовищі MS711R із незначним збівтуванням та щотижневим субкультивуванням. Після адаптації рідких культур, селективний агент додавали безпосередньо у колбу із кожною субкультурою. Через 2-4 цикли рідкої селекції, культури переносили на фільтри на твердому середовищі R001M для подальшого росту.

Приклад 8: Регенерація рослин.

Толерантну тканину регенерували та характеризували молекулярно на мутації послідовності гену ППО та/або біохімічно на змінену активність ППО у присутності селективного агента. Окрім цього, гени, що безпосередньо та/або опосередковано приймають участь у біосинтезі тетрапіролу та/або метаболічних шляхах, також секвенували для характеристики мутації. Врешті, ферменти, що змінюють метаболічний шлях (наприклад, метаболізм, транслокацію, передачу), також секвенували для характеристики мутації. Після селекції гербіцидом, калуси регенерували, використовуючи режим середовищ R025M протягом 10 – 14 діб, R026M протягом приблизно 2 тижнів, R327M до утворення добре сформованих паростків, та R008S до гарного укорінення паростків для перенесення у теплиці. Регенерацію здійснювали на світлі. Під час регенерації селективний агент не додавали. Після утворення сильного коріння, M0 регенеранти переносили до теплиці у квадратних або круглих горщиках. Трансплантати витримували під прозорою пластиковою кришкою до їх адаптації до умов теплиці. У теплиці встановлювали цикл день/ніч 27 °C/21 °C (80 °F/70 °F) із освітлення на рівні 600 В за допомогою натрієвих ламп високого тиску для підтримки 14-годинної тривалості дня. Рослини поливали за потребою, залежно від погоди та щоденно здобрували.

Приклад 9: Аналіз послідовностей.

Тканини листя збирали з клонованих рослин, відокремлювали для пересадки та аналізували як індивідуумів. Геномну ДНК екстрагували, використовуючи набір для аналізу рослинної ДНК Wizard® 96 Magnetic DNA Plant System kit (Promega, патенти США № 6,027,945 та 6,368,800), як зазначено виробником. Виділену ДНК ампліфікували за допомогою ПЛР, використовуючи відповідний прямий та зворотній праймер.

Ампліфікацію за допомогою ПЛР здійснювали, використовуючи Taq ДНК-полімеразу Hotstar (Qiagen), використовуючи наступну термоциклічну програму тачдаун: 96°C протягом 15 хв., потім 35 циклів (96°C, 30 сек; 58°C – 0,2 °C на цикл, 30 сек.; 72°C, 3 хв. та 30 сек.), 10 хв. при 72°C. Продукти ПЛР перевіряли на концентрацію та розмір фрагменту за допомогою гель-електрофорезу на агарозі. Дефосифрильовані продукти ПЛР аналізували за допомогою прямої послідовності, використовуючи ПЛР праймери (DNA Landmarks або Entelechon). Файли трасировки хроматографи (.scf) аналізували на мутацію по відношенню до гену дикого типу, використовуючи вектор NTI Advance 10™ (Invitrogen). На основі інформації по послідовності, мутації ідентифікували у кількох індивідуумів. Аналіз послідовності здійснювали на характерних хроматографах та відповідному вирівнюванні AlignX із параметрами похибки та редагованих за вторинними піками.

Приклад 10: Демонстрація толерантності до гербіциду.

T0 або T1 трансгенна рослина сої, кукурудзи, сортів канолі та рису, що містять ППО1 та/або ППО2 послідовності тестували на покращену толерантність до гербіцидів у дослідження у теплиці та дослідження у міні-ділянках із наступними гербіцидами: сафлуфенацил, 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[*b*][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-тріазинан-2,4-діон (CAS 1258836-72-4), флуміоксазин, бутафенацил, ацифлуорфен, лактофен, біфенокс, сульфентразон, та інгібітор фотосинтезу діурон як негативний контроль. Для передсходової обробки гербіциди наносили безпосередньо після посіву за допомогою дрібних сопел. Контейнери обережно поливали для стимулювання проростання та потім накривали прозорими пластиковими кришками до укорінення рослин. Це покриття забезпечувало однорідне проростання тест рослин, якщо воно не було погіршено гербіцидами. Для після сходової обробки, тест рослин спочатку вирощували до висоти 3 - 15 см, залежно від форми росту, та

тільки після цього обробляли гербіцидами. З цією метою, тест рослини засівали безпосередньо, та вирощували у тих же контейнерах, або їх спочатку вирощували окремо та пересаджували у тест контейнери за кілька днів перед обробкою.

Для тестування T0 рослин, можуть бути використані зрізи. У випадку рослин сої, оптимальний пагін для зрізів становить приблизно 7,5 - 10 см у висоту, із щонайменше двома міжвузлями. Кожен зріз беруть із вихідного трансформанту (батьківської рослини) та занурюють у гормональний порошок для укорінення (індол-3-масляної кислоти, IBA). Потім зріз поміщають у оазис всередині біодому. Зрізи дикого типу також брали одночасно для контролю. Зрізи тримали у біодомі протягом 5-7 днів та потім пересаджували у горщики, а потім акліматизовували у ростовій камері протягом ще двох днів. Після цього, зрізи переносили у теплицю, акліматизовували протягом приблизно 4 днів, та потім піддавали тестам на розпилення. Залежно від виду, рослини витримували при 10-25 °C або 20-35 °C. Період дослідження тривав понад 3 тижні. Протягом цього часу, за рослинами доглядали та оцінювали їхню відповідь на індивідуальну обробку. Оцінку пошкоджень гербіцидом здійснювали через 2 та 3 тижні після обробки. Пошкодження рослин оцінювали за шкалою 0% - 100%, 0% означає відсутність пошкоджень, та 100% означає загибель.

Трансгенні рослини *Arabidopsis thaliana* оцінювали на покращену толерантність до сафлуфенацилу, 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2H-бензо[b][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-тріазинан-2,4-діону (CAS 1258836-72-4), флуміоксазину, бутафенацилу, ацифлуорфену, лактофену, біфеноксу, сульфентразону та інгібітору фотосинтезу діурону як негативний контроль, у 48-лункових планшетах. Тому, поверхню насіння T2 стерилізували шляхом струшування протягом 5 хв. у етанол + вода (70+30 за об'ємом), промивання один раз етанол + вода (70+30 за об'ємом) та двічі стерильною деіонізованою водою. Насіння повторно суспендували у 0,1% агарі, розчиненому у воді (м/о). Насіння 4-5 штук на лунку поміщали на тверде харчове середовище, що складалось з напіврозведеного харчового розчину Мурасіге-Скуга, pH 5,8 (Murashige and Skoog (1962) *Physiologia Roslinaarum* 15: 473-497). Сполуки розчиняли у диметилсульфоксиді (DMSO) та додавали до середовища перед отвердженням (кінцева концентрація DMSO становила 0,1%). Багатолункові планшети інкубували у ростовій камері при 22 °C, відносній вологості 75% та 110 мкмоль Phot * m⁻² * s⁻¹ із фотоперіодом 14 : 10 годин світло : темрява. Інгібування росту оцінювали через 7-10 днів після посіву, порівняно із рослинами дикого типу.

Окрім цього, транс генні рослини T1 *Arabidopsis* тестували на покращену толерантність до гербіцидів у дослідженнях у теплиці із наступними гербіцидами: сафлуфенацил, 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2H-бензо[b][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-тріазинан-2,4-діон (BAS 850H; CAS 1258836-72-4), флуміоксазин, бутафенацил, ацифлуорфен, лактофен, біфенокс, сульфентразон, та інгібітор фотосинтезу діурон як негативний контроль. Результати показані на Таблиці 5 та Фігурі 2.

Приклад 11: Вибір гербіциду з використанням культури тканин.

Вибирали середовище та криві загибелі розробляли як зазначено вище. Для відбору використовували різні техніки. Наносили гербіцид поступово або відразу летальний рівень гербіциду. В обох випадках, всі калуси переносили до нового раунду селекції. Селекцію здійснювали протягом 4-5 циклів культури із тривалістю кожного циклу 3-5 тижнів. Калуси поміщали на нейлонові мембрани для полегшення трансферу (пластини із розміром пор 200 мікрон, Biodesign, Saco, Maine). Мембрани обрізали до розміру 100x20 мм чашки Петрі та автоклаували перед використанням, у кожній чашці використовували 25-35 калусів (середня маса калусу 22 мг). Окрім цього, один набір калусів піддавали відбору на рідкому культуральному середовищі із одержання щотижневих субкультур, для подальшого відбору на напів-твердому середовищі. Мутантні лінії відбирали, використовуючи сафлуфенацил, 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2H-бензо[b][1,4] оксазин-6-іл)-1,3,5-тріазинан-2,4-діон (CAS 1258836-72-4), флуміоксазин, бутафенацил, ацифлуорфен, лактофен, біфенокс, сульфентразон, та інгібітор фотосинтезу діурон як негативний контроль. Ефективність одержаних мутантів була високою за процентом калусів здатних до утворення здатної до регенерації мутантної лінії або кількох мутантних ліній, що визначено за грамом використаної тканини.

Приклад 12: Трансформація цілої рослини кукурудзи та тестування на толерантність до інгібітору ППО.

Незрілі зародки трансформували за процедурою, описаному у Peng et al. (WO2006/136596). Рослини тестували на присутність т-ДНК за допомогою аналізу Taqman, де мішенню термінатор нопалінсинтази, що наявний у всіх конструктах. Здорові на вид рослини відправляли у теплицю для зміцнення та подальшого спрей тестування. Рослини індивідуально пересаджували у ґрунт

- 5 MetroMix 360 у 4" горщики. У теплиці (цикл день/ніч 27 °C /21 °C із тривалістю дня 14 годин, що забезпечувалось натрієвими лампами високого тиску 600 В), рослини вирощували протягом 14 діб. Потім рослини опилювали 25 - 200 г аї/га сафлуфенацил + 1,0% о./о. метильованої олії насіння (MSO) та/або 25 - 200 г аї/га 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2H-бензо[b][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-тріазинан-2,4-діон (CAS 1258836-72-4) + 1% MSO. Інші ППО-інгібуючі гербіциди також тестували подібним чином для підтвердження крос-резистентності: флуміоксазин, бутафенацил, ацифлуорфен, лактофен, біфенокс, сульфентразон, та інгібітор фотосинтезу діурон як негативний контроль. Оцінку пошкодєнь гербіцидами здійснювали через 7, 14 та 21 день після обробки. Оцінку пошкодєнь гербіцидами здійснювали через 2, 7, 14 та 21 день після опилєння для спостереження пошкодєнь на нових паростках та по всій рослині. Рослини, що вижили, пересаджували у горщики об'ємом 4,5 л із MetroMix 360 для одержання насіння. Результати показані у Таблиці 7 та Фігурах 3 та 4.

Таблиця 7а

Трансгенні рослини кукурудзи T0 опилювали у теплиці із вказаною кількістю сполуки + 1% (о./о.) MSO на стадії V2. Пошкодження гербіцидами оцінювали через 7 діб після обробки за шкалою від 0 до 9, де 0 означало відсутність пошкодєнь, по відношенню до незрошеного дикого типу, та 9 означає повну загибель

SEQ ID	Рослин	0	BAS800H (г аї/га)		BAS850H (г аї/га)		
			50	75	50	75	100
AmtuPPX2L_R128A_F 420V	1	0					
	2	0					
	3	0					
	4	0					
	5	0					
	6	0					
	7	0					
	8	0					
	9				4		
	10				4		
	11				4		
	12				4		
	13				3		
	14				4		
	15				4		
	16				3		
	17						4
	18						4

Таблиця 7а (продовження)

SEQ ID	Рослин	0	BAS800H (г ai/га)		BAS850H (г ai/га)		
			50	75	50	75	100
AmtuPPX2L_R128A_F 420I	1	1					
	2	1					
	3	1					
	4	0					
	5	0					
	6	2					
	7	0					
	8	1					
	9	1					
	10	1					
	11		8				
	12		1				
	13		4				
	14		1				
	15		0				
	16				6		
	17				0		
	18				2		
	19				2		
	20				1		
	21					5	
	22					1	
	23	0					
	24	0					
	25	0					
	26	0					
	27	0					
	28		0				
	29		0				
	30				0		
	31				1		
	32				0		
	33				0		
	34				3		
	35					1	
	36	0					
	37	0					
	38	0					
	39					4	
	40				0		
	41				2		
	42				1		
	43						4

Таблиця 7а (продовження)

SEQ ID	Рослин	0	BAS800H (г ai/ra)		BAS850H (г ai/ra)		
			50	75	50	75	100
AmtuPPX2L_R128A_F 420L	1	0					
	2				3		
	3						2
	4	0					
	5				2		
	6						2
	7	0					
	8				2		
	9	0					
	10				2		
	11	0					
	12				3		
	13	0					
	14				3		
	15	0					
	16				2		
	17	0					
	18						2
	19	0					
	20						2
	21	0					
	22	0					
	23	0					
	24	0					
	25	2					
AmtuPPX2L_R128A_F 420V	1	0					
	2				1		
	3						1
	4	0					
	5				4		
	6						5
	7	0					
	8				3		
	9						1
	10	0					
	11				6		
	12	0					
	13				3		
	14	0					
	15				1		
	16	0					
	17				3		
	18	0					
	19						1
	20	0					
	21						5
	22	0					
	23						1
	24	0					
	25	3					
	26	1					
	27	1					

Таблиця 7а (продовження)

SEQ ID	Рослин	0	BAS800H (г ai/га)		BAS850H (г ai/га)		
			50	75	50	75	100
Tp-Fdx:c- AmtuPPX2L_R128A_F 420V	1	0					
	2	0					
	3	0					
	4				0		
	5				1		
	6				0		
	7	0					
	8				0		
	9						0
	10	0					
	11				0		
	12	0					
	13				0		
	14						1
	15			2			
AmtuPPX2L_R128L_F 420M	1	0			1		
	2				1		
	3				0		
	4				5		
	5				1		
	6				5		
	7				3		
	8				2		
	9				8		
	10				2		
	11				2		
	12				0		
	13	0			0		
	14	0			2		
	15				0		
	16				0		
	17				3		
	18				3		
	19				6		
	20				1		
	21				4		
	22				3		
	23				2		
	24				2		
	25				0		
	26				0		
	27				0		
	28				2		
	29				2		
	30				1		
	31				0		
	32				2		
	33				2		
	34				1		
	35				4		
	36				1		
	37				2		

Таблиця 7а (продовження)

SEQ ID	Рослин	0	BAS800H (г ai/га)		BAS850H (г ai/га)		
			50	75	50	75	100
AmtuPPX2L_R128M_ F420I	1	0			7		
	2	0			0		
	3	0		0	1		0
	4				1		
	5				1		
	6				0		
	7				2		
	8	0			1	0	
	9	0			0	1	
	10	0			0		
	11	0			1		
	12	0			1		
	13	0			4		
	14	0			0		
	15	0			1		
	16	0			1		
	17				2		
	18				4		
	19				2		
	20				0		
	21				0		
	22				0		
	23				0		
	24				1		
	25				4		
	26				0		
	27				0		
	28				0		
	29				2		
	30				3		
	31	0			3		
	32	0			1	2	
	33				4		
	34	0			3		
	35	0			1		2
	36				4		
	37				1		

Таблиця 7а (продовження)

SEQ ID	Рослин	0	BAS800H (г ai/га)		BAS850H (г ai/га)		
			50	75	50	75	100
AmtuPPX2L_R128M_ F420L	1	1			1		
	2				0		
	3				4		
	4				0		
	5	0			1	2	
	6	0			0		
	7				0		
	8				1		
	9				6		
	10				0		
	11				0		
	12				0		
	13	0			1		
	14	0			3		
	15				2		
	16	0			1		
	17	0			3		
	18				0		

Таблиця 7а (продовження)

SEQ ID	Рослин	0	BAS800H (г ai/га)		BAS850H (г ai/га)		
			50	75	50	75	100
AmtuPPX2L_R128M_ F420V	1	0			0		
	2	0			3		
	3	0			0		
	4	0			0		
	5	0		1	0		0
	6	0			5		
	7				6		
	8				1		
	9				5		
	10				1		
	11				0		
	12				0		
	13				0		
	14	2			0		
	15	0			0		
	16	1			1		
	17	0			0		1
	18				1		
	19				0		
	20				1		
	21				0		
	22				1		
	23				0		
	24				0		
	25				0		
	26	2			0		
	27	0			0		
	28	1			1		
	29	0			0		1
	30				1		
	31				0		
	32				1		
	33				0		
	34				1		
	35				0		
	36				0		
	37				0		
	38				2		
	39				0		
	40				1		

Таблиця 7b

Трансгенні рослини кукурудзи T1 опилували 100 г аі BAS800H та 50 г аі BAS850H + 1% (о./о.) MSO на стадіях розвитку V2-V3 у полі. Пошкодження гербіцидами оцінювали через 3, 7, 14 та 21 добу після обробки (DAT) за шкалою від 0 до 100, де 0 означало відсутність пошкоджень, по відношенню до незрошеного дикого типу, та 100 означає повну загибель

Конструкт	SEQ ID	Рослина	3 DAT	7 DAT	14 DAT	21 DAT
RTP11136-1	AmtuPPX2L_R128A_F420 V	1	20	30	0	0
RTP11141-1	AmtuPPX2L_R128A_F420 I	2	70	80	70	80
RTP11141-1		3	20	10	10	10
RTP11141-1		4	10	0	30	20
RTP11141-1		5	10	0	20	10
RTP11141-1		6	10	0	10	0
RTP11141-1		7	10	0	30	20
RTP11141-1		8	80	80	70	70
RTP11141-1		9	10	0	10	0
RTP11141-1		10	10	10	40	30
RTP11141-1		11	10	10	30	20
RTP11142-2	AmtuPPX2L_R128A_F420 L	12	10	30	10	10
RTP11142-2		13	10	10	30	20
RTP11142-2		14	10	10	20	20
RTP11142-2		15	10	10	30	20
RTP11142-2		16	20	30	40	20
RTP11142-2		17	10	0	20	0
RTP11142-2		18	10	10	10	0
RTP11142-2		19	20	10	10	0
RTP11142-2		20	10	10	10	0
RTP11142-2		21	10	10	10	0
RTP11142-2		22	10	0	10	0
RTP11142-2		23	20	40	50	50
RTP11142-2		24	50	80		
RTP11142-2		25	10	10	0	0
RTP11142-2		26	0	10	10	0
RTP11142-2		27	10	20	20	0
RTP11142-2		28	10	20	20	10
RTP11142-2		29	10	20	30	10
RTP11142-2		30	10	40	40	20
RTP11142-2		31	0	30	40	20
RTP11143-2	AmtuPPX2L_R128A_F420 V	32	10	40	40	20
RTP11143-2		33	10	30	30	10
RTP11143-2		34	10	20	20	10
RTP11143-2		35	10	40	40	20
RTP11143-2		36	10	20	10	0
RTP11144-2	Tp-Fdx:c-AmtuPPX2L_R128A_F420 V	37	20	10	10	0
RTP11144-2		38	20	10	10	0
RTP11144-2		39	0	0	10	0
RTP11144-2		40	30	20	20	0
RTP11144-2		41	40	10	10	0
RTP11144-2		42	20	10	0	0
RTP11144-2		43	0	10	0	0

Таблиця 7b (продовження)

Конструкт	SEQ ID	Рослина	3 DAT	7 DAT	14 DAT	21 DAT
RTP11144-2		44	30	10	10	0
RTP11144-2		45	20	20	0	0

Приклад 13: Трансформація сої та тестування на толерантність до інгібітору ППО.

- Сою cv Jake трансформували як описано раніше Siminszky et al., Phytochem Rev. 5:445-458 (2006). Після регенерації, трансформантів пересаджували у ґрунт у маленьких горщиках, поміщали у ростові камери (16 годин день/ 8 годин ніч; 25 °C день/ 23 °C ніч; відносна вологість 65%; 130-150 microE m⁻² s⁻¹) та після цього тестували на наявність т-ДНК за допомогою аналізу Taqman. Через кілька тижнів, здорові трансгенно позитивні, однокопійні рослини пересаджували у більші горщики та вирощували у ростовій камері. Оптимальним пагоном для зрізу був пагін висотою приблизно 3-4 дюйми, із щонайменше двома міжвузлями. Кожен зріз брали з вихідного трансформанту (батьківська рослина) та занурювали у гормональний порошок для укорінення (індол-3-масляна кислота, IBA). Зріз поміщали у оазис всередині біокуполу. Батьківську рослину вирощували до зрілості у теплиці та збирали її насіння. Зрізи дикого типу також одночасно вирощували як негативний контроль. Зрізи тримали у біокуполі протягом 5-7 діб та потім пересаджували у 3 дюймові горщики, та після цього акліматизовували у ростовій камері протягом ще 2 діб. Потім, зрізи переносили у теплицю, акліматизовували протягом приблизно 4 діб, та потім опилювали 0 - 200 г аї/га сафлуфенацилу + 1% MSO та/або 25 - 200 г аї/га 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[*b*][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-тріазинан-2,4-діону (CAS 1258836-72-4) + 1% MSO. Інші ППО-інгібуючі гербіциди також тестували подібним чином для підтвердження крос-резистентності: флуміоксазин, бутафенацил, ацифлуорфен, лактофен, біфенокс, сульфентразон та інгібітор фотосинтезу діурон як негативний контроль. Оцінку пошкоджень гербіцидами здійснювали через 2, 7, 14 та 21 день після обробки. Результати показані на Таблиці 8 та Фігурах 5, 6 та 7.

- Таблиця 8 а: Оцінка пошкоджень за шкалою 0-9 через 1 тиждень після обробки сої дикого типу та сої, що експресує мутовану ППО, Кіксором або 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[*b*][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-тріазинан-2,4-діоном + 1% MSO

Дані зі зрізів TG											
Шкала пошкоджень 0-9, одержана через тиждень після обробки Кіксором або 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[<i>b</i>][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-тріазинан-2,4-діоном + 1% MSO											
GCI	Кількість рослин	Кіксор						1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[<i>b</i>][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-тріазинан-2,4-діон			
		0	12,5	25	50	100	200	12,5	25	50	75
сорт Jake дикого типу		0	9	9	9	9	9	7	8	9	9
NitabPPX2	13	0	3	6	9	*	*	6	6	*	*
NitabPPX2_R98A_F392V	9	1	*	*	0	2	2	*	0	0	*
AmtuPPX2L	10	0	2	4	7	*	*	3	5	*	*
AmtuPPX2L_dG210	13	0	*	1	2	1	*	*	1	3	*
AmtuPPX2L_dG210_R128L	12	0	*	0	1	1	*	*	2	3	*
AmtuPPX2L_F420L	7	0	1	0	0	*	*	2	1	*	*
AmtuPPX2L_F420M	6	0	*	0	3	3	*	*	1	2	*

AmtuPPX2L_R128A_F420L	6	0	*	0	1	1	*	*	0	*	*
AmtuPPX2L_R128A_F420M	7	*	*	*	*	2	2	*	3	3	4
AmtuPPX2L_R128A_F420I	8	0	*	*	*	*	1	*	2	2	3
AmtuPPX2L_R128A_F423V	14	*	*	*	*	2	2	*	2	2	3

Таблиця 8 b

Тепличні дані - сортування Т1 індивідуумів. Оцінка пошкоджень (шкала 0-9) через тиждень після обробки

GOI	Дик ий тип	AmtuPPX 2L R128A_F 420L	AmtuPPX 2L R128A_F 420L	AmtuPPX 2L R128A_F 420V	AmtuPPX 2L L397D_F 420V	AmtuPPX 2L R128A_F 420M	AmtuPPX 2L R128A_F 420M	AmtuPP X2L R128A_F 420I	AmtuPPX 2L R128A_F 420I
Обробка		SDS- 10642	SDS- 10787	SDS- 11034	SDS- 10652	SDS- 10990	SDS- 10985	SDS1079 1	SDS- 10648
Незрошені	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	1	1	1
	1	0	*	*	0	0	0	0	0
Сафлуфенац ил	9	0	6	0	3	9	1	1	5
150 г аі/га	9	0	5	0	5	3	0	0	5
	9	0	4	5	3	0	*	9	4
	9	0	0	1	4	1	3	9	4
	9	0	4	0	6	3	2	9	6
	9	1	4	0	4	3	0	9	5
	9	1	4	0	3	3	0	1	3
	9	0	9	2	5	4	1	2	4
1,5-диметил -6-тіоксо -3- (2,2,7- трифтор -3- оксо-4-(проп- 2-иніл)-3,4- дигідро -2Н- бензо[b][1,4] оксазин-6- іл)-1,3,5- траїзинан- 2,4-діон	9	6	4	4	9	9	9	3	4
100 г аі/га	9	5	5	4	4	7	9	2	9
	9	5	9	4	4	6	6	4	4
	9	5	9	3	4	6	9	9	5
	9	5	5	2	4	9	6	3	5
	8	9	5	3	9	7	9	5	5
	9	5	6	3	4	6	9	4	4
	9	4	6	2	4	9	6	4	5

Таблиця 8 б(продовження)

GOI	Дик ий тип	AmtuPPX 2L R128A_F 420L	AmtuPPX 2L R128A_F 420L	AmtuPPX 2L R128A_F 420V	AmtuPPX 2L L397D_F 420V	AmtuPPX 2L R128A_F 420M	AmtuPPX 2L R128A_F 420M	AmtuPP X2L R128A_F 420I	AmtuPPX 2L R128A_F 420I
ФОМЕСАФЕ Н	5	0	1	2	1	1	3	6	5
600 г ai/га	5	1	1	0	2	3	0	3	3
	4	0	0	0	0	0	0	3	3
	4	1	0	2	0	4	1	1	3
	4	0	2	0	1	5	3	4	3
	5	1	5	1	0	5	3	2	3
	4	1	2	1	2	0	1	1	3
	5	0	3	1	4	1	5	1	4
ФЛУМІОКСА ЗИН	9	3	9	5	9	6	9	3	9
150 г ai/га	9	3	5	4	6	5	6	3	9
	9	2	4	6	6	6	4	3	5
	9	1	5	5	5	5	5	1	9
	9	3	5	9	5	6	9	1	5
	9	9	9	3	4	6	6	3	9
	9	1	4	6	4	9	4	1	5
	9	2	5	5	6	6	9	3	9
Сулфентраз он	9	1	5	1	9	3	3	9	3
350 г ai/га	9	0	5	3	*	3	3	9	4
	7	3	4	3	6	4	8	9	3
	7	1	6	9	3	9	3	2	4
	8	2	9	0	5	4	*	1	5
	9	0	9	1	3	3	4	2	5
	9	0	5	1	5	9	3	9	3
	9	3	5	1	6	3	1	9	8
Сулфентраз он	9	3	3	3	2	3	1	3	3
700 г ai/га	9	1	4	3	3	4	9	3	2
	9	3	6	3	7	9	2	3	9
	9	2	4	2	7	4	3	4	3
	9	2	5	1	4	4	4	9	4
	9	2	6	3	4	4	3	2	4
	9	0	5	4	6	9	2	9	4
	9	2	6	2	4	9	9	9	4
Оксифлуорф ен	8	2	6	4	4	4	1	4	5
600 г ai/га	7	4	*	9	4	8	3	8	7
	8	3	5	5	5	4	4	4	6
	9	2	8	4	6	3	3	5	8
	7	8	5	4	6	4	4	5	6
	8	3	6	5	9	9	3	5	8
	9	2	6	5	4	4	4	4	9
	7	3	5	6	4	5	9	3	3

Таблиця 8 в(продовження)

GOI	Дик ий тип	AmtuPPX 2L R128A_F 420L	AmtuPPX 2L R128A_F 420L	AmtuPPX 2L R128A_F 420V	AmtuPPX 2L L397D_F 420V	AmtuPPX 2L R128A_F 420M	AmtuPPX 2L R128A_F 420M	AmtuPP X2L R128A_F 420I	AmtuPPX 2L R128A_F 420I
Оксифлуорф ен	9	3	6	5	5	9	5	9	5
1200 г ai/га	9	4	6	6	5	5	4	4	9
	9	3	5	6	4	4	4	5	9
	9	3	8	6	4	5	8	5	4
	8	2	5	5	3	5	8	5	5
	9	4	5	6	4	5	5	9	9
	9	3	9	6	4	4	4	5	9
	8	3	5	5	5	5	5	4	5

Таблиця 8 с

Польові дані - Т1 покоління. Оцінка пошкоджень (за шкалою 1-5) через 3 дні після обробки

GOI	Дикий тип	AmtuPPX2L R128A_F42 0M	AmtuPPX2 L R128A_F42 0I	AmtuPPX2 L R128A_F42 0I	AmtuPPX2 L R128A_F42 0I	AmtuPPX2L R128A_F42 0V	AmtuPPX2L L397D_F42 0V
Обробка		SDS-11052	SDS-10648	SDS-10791	SDS-11014	SDS-11035	SDS-11034
Незрошені	1	1	1	1	1	1	1
1,5-диметил -6-тіоксо -3-(2,2,7-трифтор -3-оксо-4-(проп-2-иніл)-3,4-дигідро -2Н-бензо[b][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-траїзинан-2,4-діон (= „бензоксазин“; BAS 850H) 100 г ai/га	5	3	3	2	2	2	3
бензоксазин 50 г ai/га	5	3	3	2	2	2	2
Сафлуфенацил 150 г ai/га	5	2	2	2	2	2	2
Сафлуфенацил 75 г ai/га	5	2	2	2	2	2	2

Шкала	Фенотип (фітотоксичність) рослин, що вижили
1	Не має помітного пошкодження (не має фітотоксичності)
2	Мінімальне пошкодження листя, рослина виживе
3	Помірне пошкодження листя, рослина виживе
4	Значне пошкодження листя, рослина виживе
5	Не має рослин, що вижили – всі рослини загинули

Таблиця 8d

Польові дані – оцінка пошкодження T1 покоління сої за шкалою 1-5.

Оцінку пошкоджень здійснювали через 3 дні після обробки								
Генотип	GOI	Рослина	бензоксази н +Сафлуфенацил (100 г ai/га + 100 г ai/га)	бензоксаз ин + Сафлуфенацил (50 г ai/га + 50 г ai/га)	бензокс азин (100 г ai/га)	бензоксази н (50 г ai/га)	Сафлуфенацил (150 г ai/га)	Сафлуфенацил (75 г ai/га)
			Шкала					
Дикий тип		Jake	5	5	5	5	5	5
LTM377-1	AmtuPPX2L_dG210	SDS-10656	4	4	4	4	3,5	3,5
LTM377-1	AmtuPPX2L_dG210	SDS-10562	*	*	3	3	4	4
LTM377-1	AmtuPPX2L_dG210	SDS-10566	*	*	3	3	4	4
LTM387-1	AmtuPPX2L_R128A_F420V	SDS-11034	*	*	2	2	2	3
LTM387-1	AmtuPPX2L_R128A_F420V	SDS-11035	*	*	2	2	2	2
LTM387-1	AmtuPPX2L_R128A_F420V	SDS-10998	2,5	2,5	2,5	2,5	2	2
LTM387-1	AmtuPPX2L_R128A_F420V	SDS-11105	3,5	3	3	3	2,5	2,5
LTM387-1	AmtuPPX2L_R128A_F420V	SDS-11110	3,5	3	3	3	2,5	2,5

Таблиця 8 е

Польові дані – оцінка пошкодження T1 покоління сої за шкалою 1-5

Оцінку пошкоджень здійснювали через 3 дні після обробки				
Генотип	GOI	Рослина	Сафлуфенацил (150 г ai/га)	Сафлуфенацил (75 г ai/га)
			Шкала	
Дикий тип		Jake	5	5
LTM382-2	AmtuPPX2L_F420L	SDS-10533	2,5	2,5
LTM382-2	AmtuPPX2L_F420L	SDS-10544	2,5	2,5
LTM382-2	AmtuPPX2L_F420L	SDS-10558	2	2,5
LTM383-1	AmtuPPX2L_F420M	SDS-10645	3	4
LTM383-1	AmtuPPX2L_F420M	SDS-10761	3	3
LTM383-1	AmtuPPX2L_F420M	SDS-10633	3	3
LTM383-1	AmtuPPX2L_F420M	SDS-10635	3,5	3,5
LTM383-1	AmtuPPX2L_F420M	SDS-10646	2,5	2,5
LTM384-1	AmtuPPX2L_R128A_F420L	SDS-10642	2	2
LTM384-1	AmtuPPX2L_R128A_F420L	SDS-10787	2,5	3
LTM385-1	AmtuPPX2L_R128A_F420M	SDS-11052	3	3
LTM385-1	AmtuPPX2L_R128A_F420M	SDS-10985	2	2
LTM385-1	AmtuPPX2L_R128A_F420M	SDS-10990	2,5	2,5
LTM385-1	AmtuPPX2L_R128A_F420M	SDS-11011	2	2
LTM386-1	AmtuPPX2L_R128A_F420I	SDS-10648	3	3
LTM386-1	AmtuPPX2L_R128A_F420I	SDS-10791	2	2
LTM386-1	AmtuPPX2L_R128A_F420I	SDS-11014	2	2

Таблиця 8 е (продовження)

Генотип	GOI	Рослина	Сафлуфенацил (150 г аі/га)	Сафлуфенацил (75 г аі/га)
			Шкала	
Дикий тип		Jake	5	5
LTM386-1	AmtuPPX2L_R128A_F420I	SDS-10658	3,5	3,5
LTM386-1	AmtuPPX2L_R128A_F420I	SDS-10776	2,5	2
LTM386-1	AmtuPPX2L_R128A_F420I	SDS-11036	2,5	2,5
LTM386-1	AmtuPPX2L_R128A_F420I	SDS-11111	2,5	2,5
LTM386-1	AmtuPPX2L_R128A_F420I	SDS-11118	2	2

Таблиця 8f

Тепличні дані рослин сої T0

SEQ ID	Кількість рослин	Обробка гербіцидом г аі/га & оцінка пошкоджень 1 WAT					
			Сафлуфенацил		1,5-диметил -6-тіоксо -3-(2,2,7-трифтор -3-оксо-4-(проп-2-иніл)-3,4-дигідро -2Н-бензо[б][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-траїзинан-2,4-діон		
		0	100	200	25	50	75
AmtuPPX2L_R128L_F420V	1	0	4	6	3	4	5
	2	0	1	2	0	1	3

Таблиця 8g Польові дані – покоління T1. Оцінку пошкоджень (за шкалою 1-5) здійснювали через 7 або 14 днів після обробки (DAT) 1. Обробку гербіцидом 1 здійснювали на стадії V3-V4, та обробку гербіцидом 2, здійснювали на 10 днів пізніше ~ стадія V6.

		Сафлуфенацил + BAS 850H	Сафлуфенацил + BAS 850H	BAS 850H	BAS 850H	Сафлуфенацил	Сафлуфенацил
Обробка гербіцидом 1		150 г аі/га + 100 г аі/га	300 г аі/га + 300 г аі/га	100 аі/га	300 г аі/га	150 г аі/га	300 г аі/га
Обробка гербіцидом 2		0	300 г аі/га + 300 г аі/га	0	300 г аі/га	0	300 г аі/га
Час аналізу пошкоджень		7 DAT	14 DAT	7DAT	14 DAT	7DAT	14 DAT
SEQ ID 2 або 4	Кількість рослин	Шкала пошкоджень					
	Дикий тип	5	5	5	5	5	5
AmtuPPX2L_R128A_F420L	1	2,5	3	2,5	3	1	1
AmtuPPX2L_R128A_F420L	2	3	3,5	3,5	3,5	3	2
AmtuPPX2L_R128A_F420M	3	2	3	3	3,5	1,5	1,5
AmtuPPX2L_R128A_F420M	4	2	3	3	3,5	1,5	1
AmtuPPX2L_R128A_F420I	5	2,5	3	3	3,5	1,5	1
AmtuPPX2L_R128A_F420I	6	3	3,5	3	3,5	3	3
AmtuPPX2L_R128A_F420I	7	2	3	3	3,5	1,5	1,5
AmtuPPX2L_R128A_F420I	8	1	2	2,5	2,5	1	2
AmtuPPX2L_R128A_F420I	9	1	1	2,5	1,5	1	1
AmtuPPX2L_R128A_F420V	10	3	3	3,5	3	3	3

Таблиця 8h

Тепличні дані – покоління T2; Дані є середніми даними оцінки пошкоджень (за шкалою 0-9) з 4 індивідуумів на гомозиготу T2. Оцінку пошкоджень здійснювали через тиждень після обробки у теплиці. BAS800H стосується Сафлуфенацил /Кікор; BAS 850H стосується 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-иніл)-3,4-дигідро-2H-бензо[b][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-траїзинан-2,4-діону (або "Бензоксазину"), BAS850-аналог стосується 1-метил-6-(трифторметил)-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-проп-2-иніл-1,4-бензоксазин-6-іл)піримідин-2,4-діону (детально описаного у WO2011/57935)

Гербицид	г ai/га	WT	AmtuPPX2L_R1 28A_F420L	AmtuPPX2L_R1 R128A_F420M	AmtuPPX2L_R1 28A_F420I	AmtuPPX2L_R1 28A_F420V
Незрошений контроль	0	0,5	1,3	1,0	1,0	1,3
Сафлуфенацил	100	9,0	4,3	4,0	2,0	2,7
BAS 850H	50					
1% (o/o) MSO						
Сафлуфенацил	200	9,0	4,5	5,0	1,8	2,8
BAS 850H	100					
1% (o/o) MSO						
Сафлуфенацил	100	9,0	4,8	5,0	0,5	2,0
ФЛУМІОКСАЗИН	140					
1% (o/o) MSO						
Сафлуфенацил	100	9,0	0,7	1,0	0,3	1,0
Сулфентразон	560					
1% (o/o) MSO						
Сафлуфенацил	100	9,0	5,0	6,0	5,0	4,7
BAS 850-аналог	50					
1% (o/o) MSO						

Таблиця 8i

Тепличні дані – покоління T2; Різні співвідношення сумішей Сафлуфенацилу та 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-иніл)-3,4-дигідро-2H-бензо[b][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-траїзинан-2,4-діону. Дані є середніми даними оцінки пошкоджень (за шкалою 0-9) з 4 індивідуумів на гомозиготу T2. Оцінку пошкоджень здійснювали через тиждень після обробки у теплиці. BAS800H стосується Сафлуфенацил/Кікор; BAS 850H стосується 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-иніл)-3,4-дигідро-2H-бензо[b][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-траїзинан-2,4-діону ("Бензоксазину"), всі мутанти основані на AmtuPPX2L (SEQ ID NO:2 або 4

Гербицид	г ai/га	Дикий тип	R128A_F420L (мутант а)	R128A_F420L (мутант b)	R128A_F420V (мутант а)	R128A_F420V (мутант b)	R128A_F420V (мутант c)
Сафлуфенацил + BAS 850H	незрошені	0,3	0,3	1,3	2,0	0,8	1,0
	6,25 + 3,125	8,3	4,0	6,0	0,5	0,3	0,0
	12,5 + 6,25	9,0	0,7	6,0	1,0	0,3	1,0
	25 + 12,5	9,0	1,5	7,5	1,7	1,0	3,5
	50 + 25	9,0	2,8	7,5	1,0	2,5	2,0
	100 + 50	9,0	5,0	6,0	2,3	2,3	4,0
	200 + 100	9,0	5,0	6,7	3,5	3,5	4,5
	400 + 200	9,0	4,7	8,5	3,3	2,8	4,3
	800 + 400	9,0	5,3	8,5	3,0	3,8	4,3

Шкала	Фенотип (фітотоксичність) виживших рослин
1	не має пошкодження (не має фітотоксичності)
2	мінімальне пошкодження листя, рослина виживе

3	Помірне пошкодження листя, рослина виживе
4	Значне пошкодження листя, рослина виживе
5	Не має виживших рослин – всі загинули

Далі наведено пояснення вимірюваних вище оцінок для пошкоджень:

Оцінка Опис пошкодження

0 не має пошкодження

- 5 1 мінімальне пошкодження, присутні тільки незначні ділянки пошкодження листя або хлороз.
2 мінімальне пошкодження з більш вираженим хлорозом. Загальні показники росту непошкоджені.
3 більш сильне пошкодження тканин другого листка, проте первинний листок та ростові показники непошкоджені.
- 10 4 загальна морфологія рослини трохи відрізняється, незначний хлороз на некроз вторинного листка та показників росту. Стебла непошкоджені. Висока імовірність відновлення росту через 1 тиждень.
5 загальна морфологія рослини різко відрізняється, незначний хлороз на некроз на невеликій кількості листя та ростових точках, проте первинна точка росту є непошкодженою.
- 15 Тканина стебла ще зелена. Висока імовірність відновлення росту через 1 тиждень.
6 сильне пошкодження помітне на нових листочках. Рослина має високу імовірність вижити тільки через відновлення росту у різних ростових точках. Більша частина листя є хлорозною/некротичною, проте тканина стебла ще зелена. Може відновити ріст, проте із видимими зовнішніми пошкодженнями.
- 20 7 більшість активних точок росту є некротичними. Може вижити одна точка росту, яка буде частково хлорозною або зеленою та частково некротичною. Два листка є хлорозними з часткою зеленого; решта рослини, включаючи стебло, є некротичною.
8 рослина скоріш за все помре, та всі точки росту некротичні. Один листок може залишати хлорозним з часткою зеленого. Решта рослини є некротичною.
- 25 9 рослина загинула.
* не досліджували

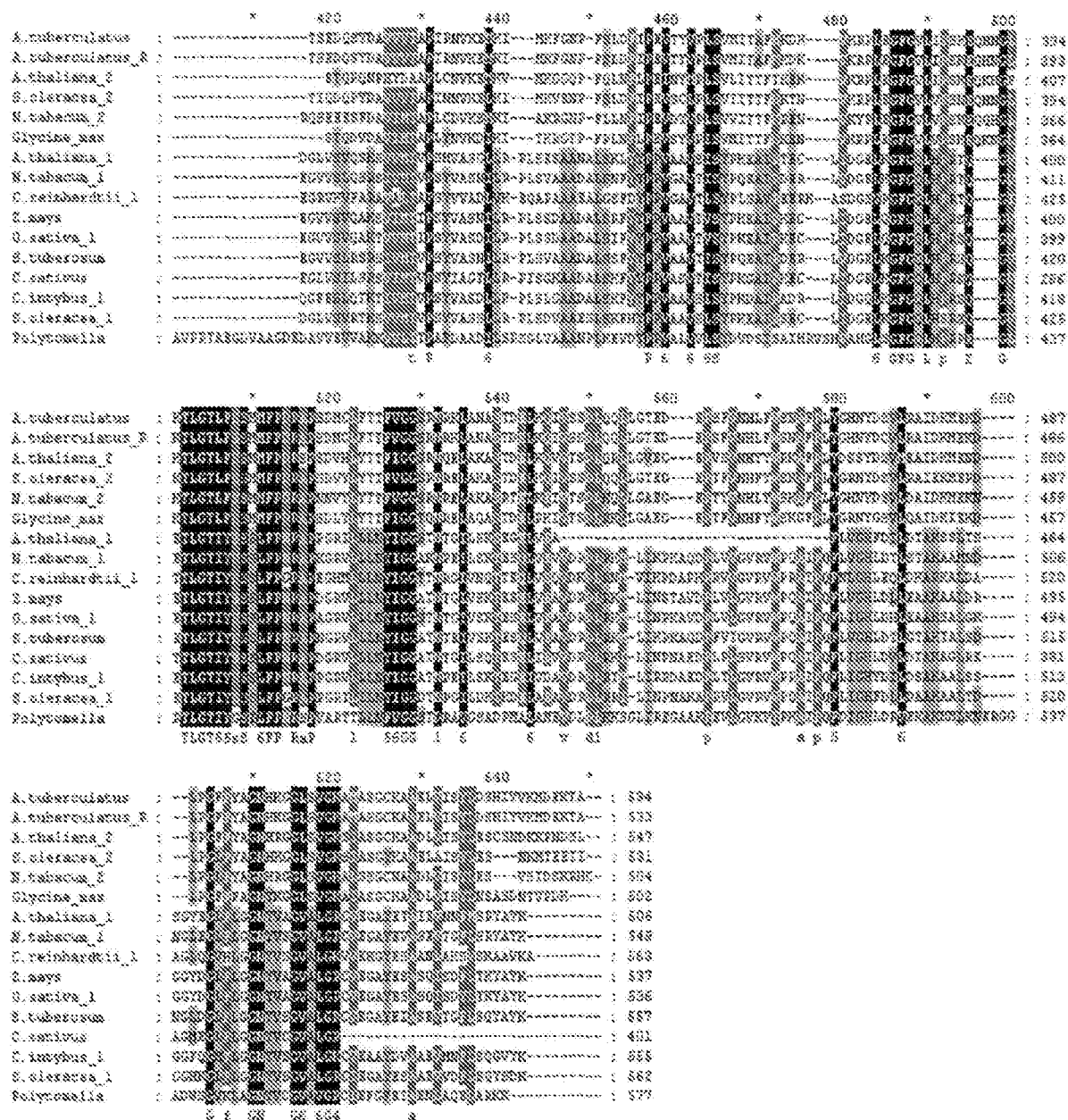
ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

- 30 1. Виділена та/або рекомбінантна, та/або штучна нуклеїнова кислота, яка кодує поліпептид мутованої протопорфіриногеноксидази (ППО), де нуклеїнова кислота містить варіант нуклеотидної послідовності SEQ ID NO: 1, та де мутована ППО містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 2, в якій амінокислота в положенні 128 являє собою Ala; та де амінокислота в положенні 420 являє собою Val.
- 35 2. Поліпептид мутованої ППО, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 2, де амінокислота в положенні 128 являє собою Ala, та де амінокислота в положенні 420 являє собою Val, де вказаний поліпептид мутованої ППО забезпечує підвищену резистентність або толерантність до ППО-інгібуючого гербіциду рослині, порівняно із рослиною дикого типу.
- 40 3. Трансгенна рослинна клітина, яка трансформована та експресує нуклеїнову кислоту, яка кодує поліпептид мутованої ППО за п. 2, де експресія нуклеїнової кислоти у рослинній клітині приводить до підвищення резистентності або толерантності до ППО-інгібуючого гербіциду, порівняно із рослинною клітиною дикого типу.
- 45 4. Трансгенна рослина, що містить рослинну клітину за п. 3, де експресія нуклеїнової кислоти, що кодує поліпептид мутованої ППО, у рослині приводить до підвищення резистентності або толерантності до ППО-інгібуючого гербіциду, порівняно із рослиною дикого типу.
- 50 5. Мутантна рослинна клітина, яка експресує нуклеїнову кислоту, що кодує поліпептид мутованої ППО за п. 2.
6. Рослина, що експресує мутагенізований або рекомбінантний поліпептид мутованої ППО за п. 2, та де вказана мутована ППО забезпечує рослину, при експресії в ній, підвищеною толерантністю до гербіциду, порівняно із рослиною дикого типу.
7. Спосіб вирощування рослини за п. 4 або 6 шляхом боротьби із бур'янами поблизу вказаної рослини, де вказаний спосіб включає наступні стадії:
а) вирощування вказаної рослини; та
б) нанесення гербіцидної композиції, що містить ППО-інгібуючий гербіцид, на рослину та бур'яни, де гербіцид в нормі інгібує протопорфіриногеноксидазу, із концентрацією гербіциду, що пригнічує ріст відповідної рослини дикого типу.

8. Насіння рослини, яка містить рослинну клітину за п. 3 або 5, або рослини за п. 4 або 6, де насіння є гомозиготним щодо підвищеної резистентності до ППО-інгібуючого гербіциду, порівняно із насінням рослини дикого типу.
- 5 9. Спосіб одержання трансгенної рослинної клітини із підвищеною резистентністю до ППО-інгібуючого гербіциду, порівняно із рослинною клітиною рослини дикого типу, який включає трансформування рослинної клітини експресійною касетою, яка містить нуклеїнову кислоту, що кодує поліпептид мутованої ППО за п. 2.
- 10 10. Спосіб одержання трансгенної рослини, який включає (а) трансформування рослинної клітини експресійною касетою, яка містить нуклеїнову кислоту, що кодує поліпептид мутованої ППО за п. 2, та (b) генерування рослини із підвищеною резистентністю до ППО-інгібуючого гербіциду з рослинної клітини.
11. Спосіб за будь-яким з пп. 9-10, де експресійна касета також містить регуляторну ділянку ініціації транскрипції та регуляторну ділянку ініціації трансляції, що функціонують у рослині.
- 15 12. Експресійна касета, що містить нуклеїнову кислоту, що кодує поліпептид мутованої ППО за п. 2, регуляторну ділянку ініціації транскрипції та регуляторну ділянку ініціації трансляції, що функціонують у рослині, та хлоропластспрямовуючу послідовність, яка містить нуклеотидну послідовність, що кодує транзитний пептид хлоропласту.
- 20 13. Експресійна касета за п. 12, де спрямовуюча послідовність містить нуклеотидну послідовність, що кодує транзитний пептид, який містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 49, 50, 51, 52 або 53.

169

Фігура 1 продовження



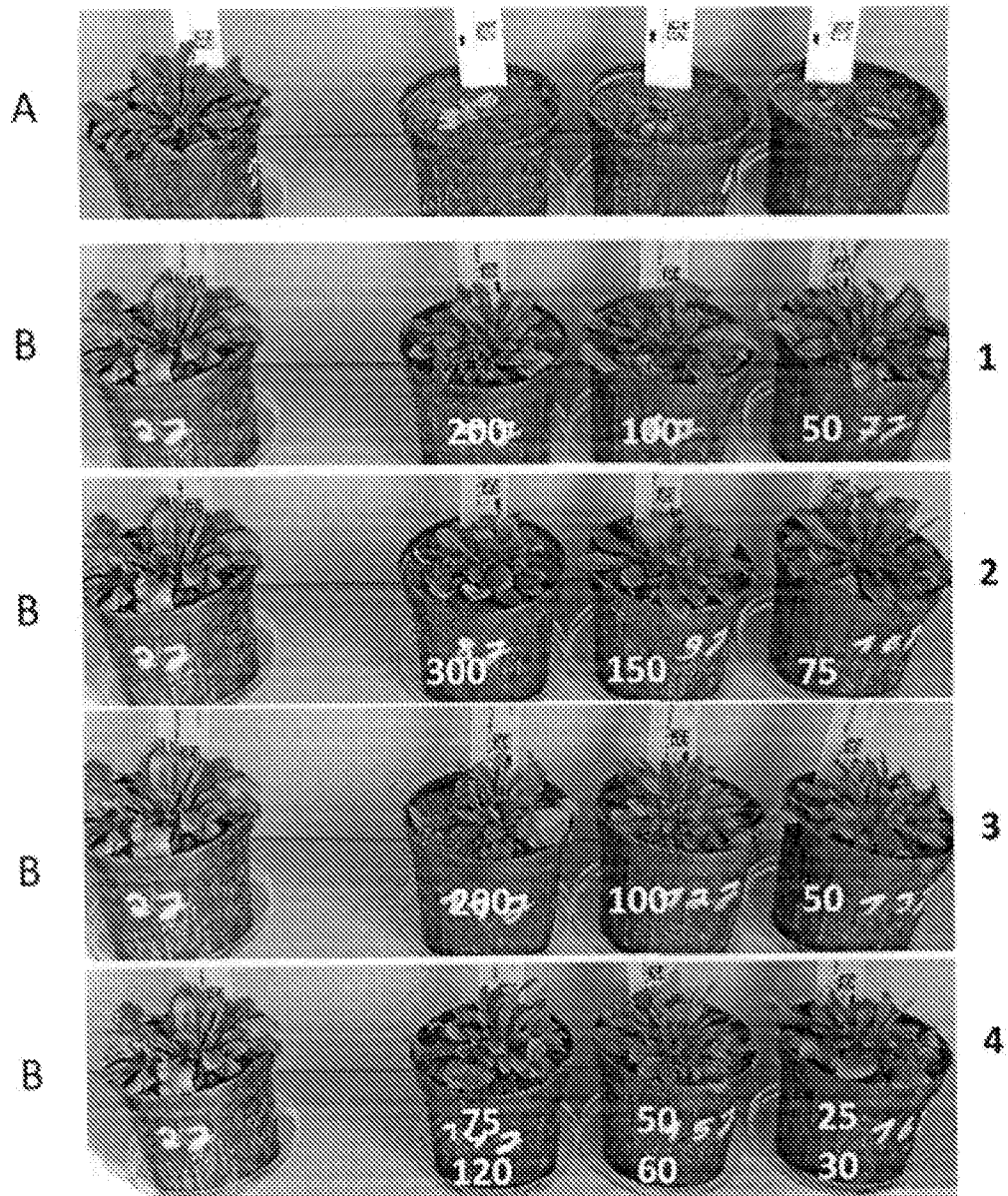
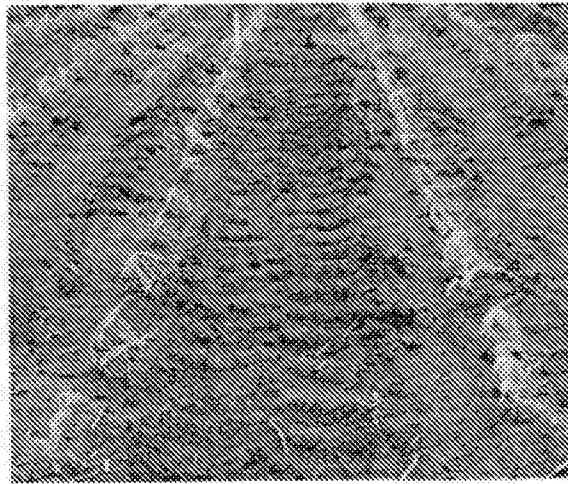
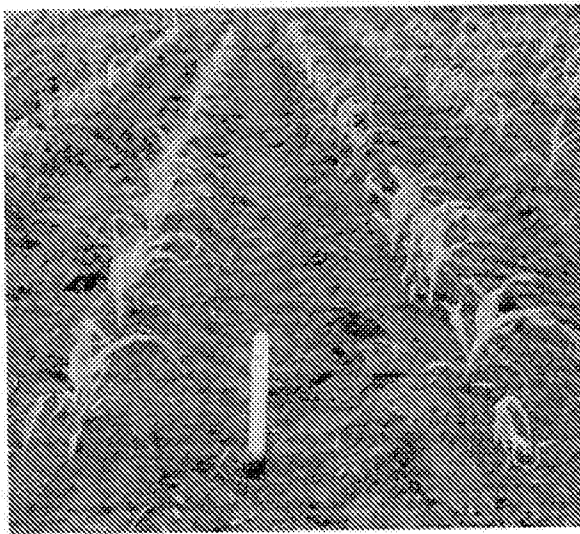


Fig. 2



1



2



3

Fig. 3

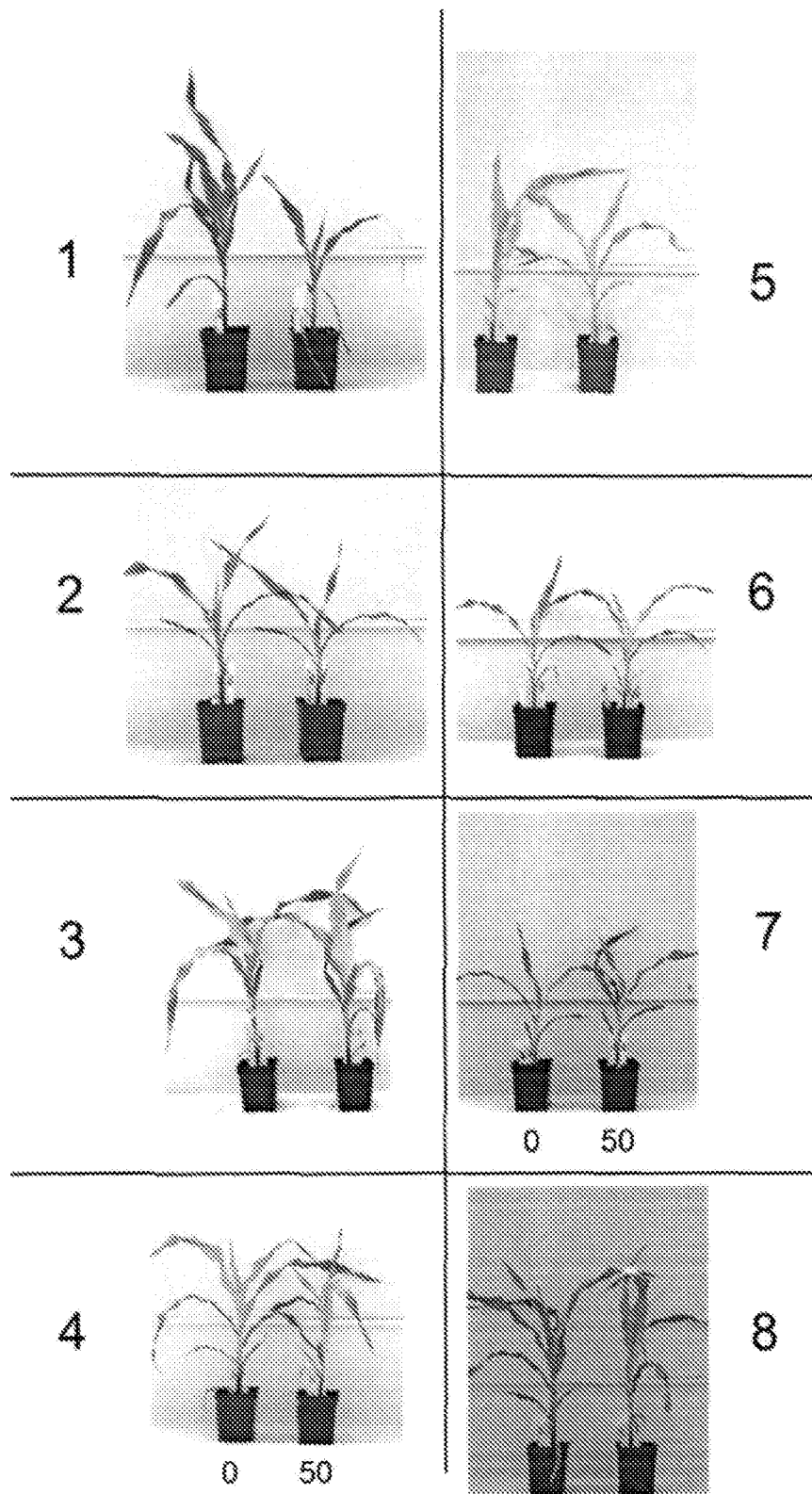


Fig. 4

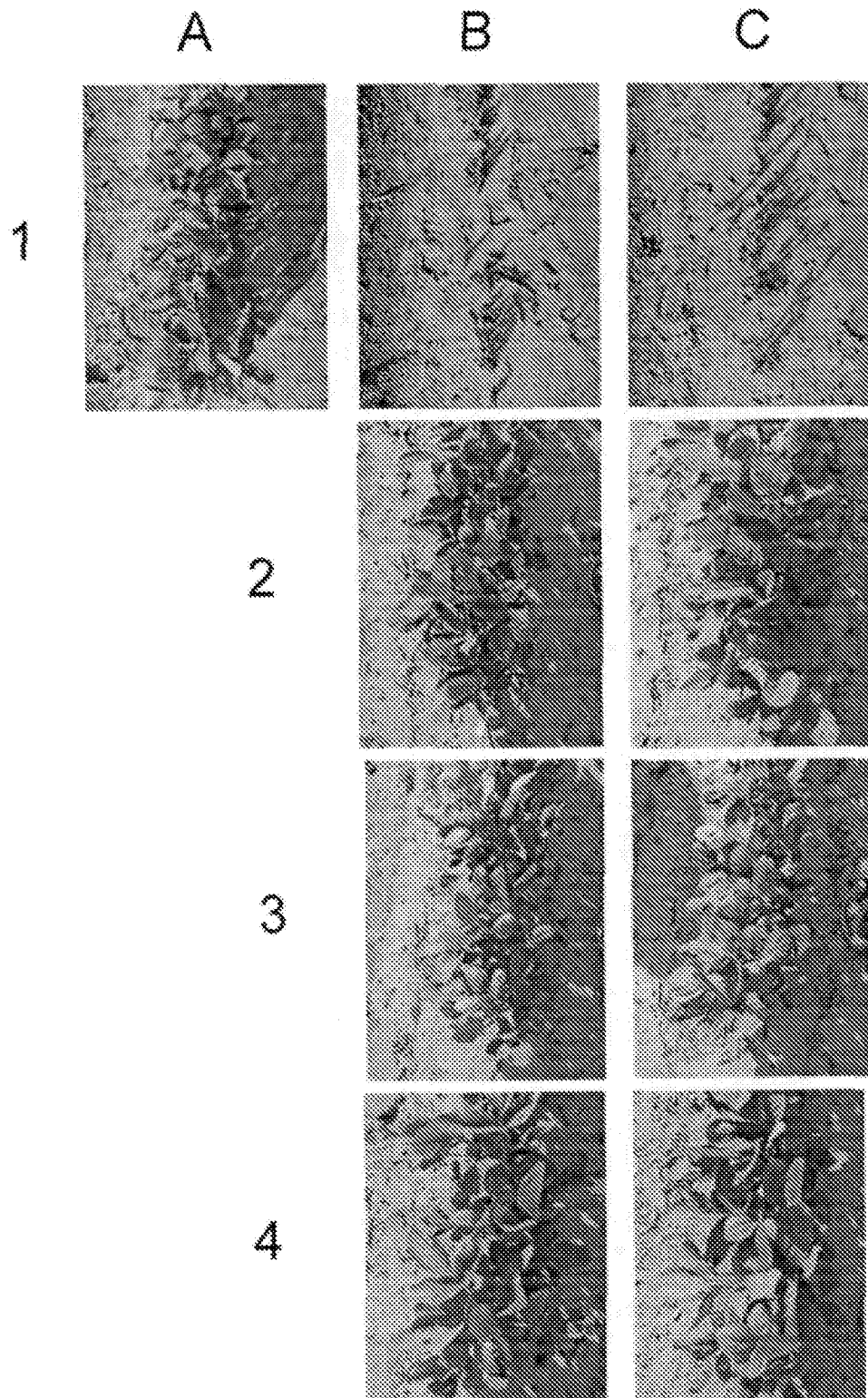


Fig. 5

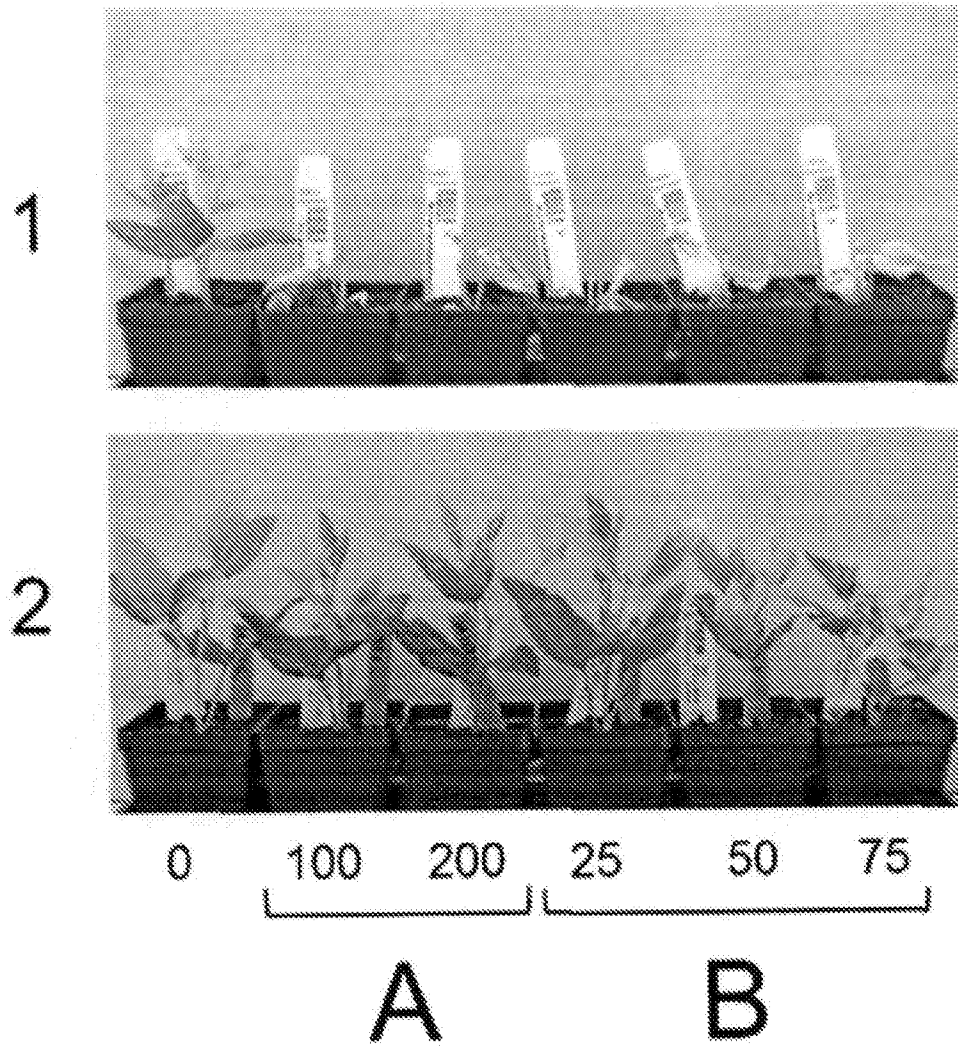


Fig. 6

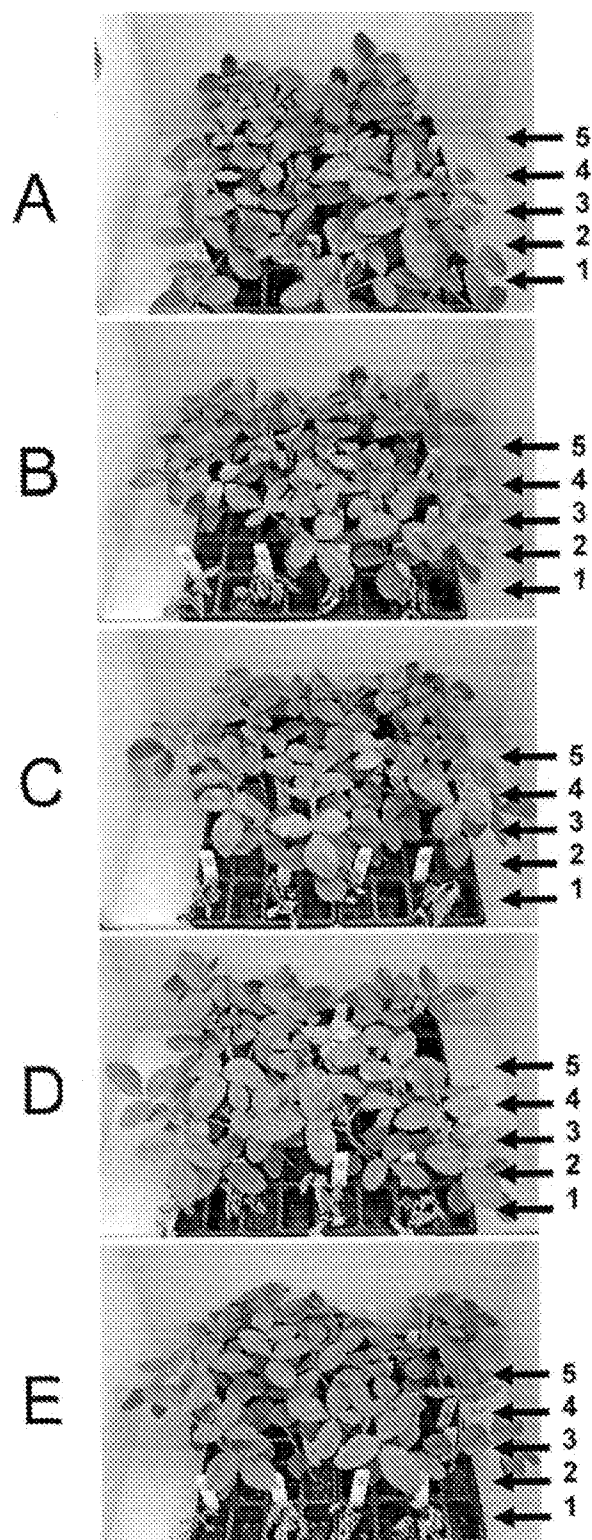


Fig. 7