



(12)发明专利



(10)授权公告号 CN 105008542 B

(45)授权公告日 2020.02.07

(21)申请号 201480012715.7

(22)申请日 2014.03.07

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 105008542 A

(43)申请公布日 2015.10.28

(30)优先权数据

13158321.3 2013.03.08 EP

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2015.09.07

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/EP2014/054461 2014.03.07

(87)PCT国际申请的公布数据

WO2014/135682 EN 2014.09.12

(73)专利权人 巴斯夫植物科学有限公司

地址 德国路德维希港

(72)发明人 H·舒尔塞斯 R·弗拉赫曼

T·门采尔

(74)专利代理机构 北京市中咨律师事务所

11247

代理人 陈迎春 黄革生

(51)Int.Cl.

C12N 15/82(2006.01)

(56)对比文件

US 2012/0137382 A1,2012.05.31,

WO 2006/130156 A2,2006.12.07,

WO 2006/130156 A2,2006.12.07,

CN 102676544 A,2012.09.19,

CN 102864169 A,2013.01.09,

US 2009/0144849 A1,2009.06.04,

CN 102010466 A,2011.04.13,

CN 102161697 A,2011.08.24,

左然等.植物MYB转录因子功能及调控机制研究进展.《生命科学》.2012,第24卷(第10期),第1133-1140页.

Ajay K. Pandey et al..Functional Analysis of the Asian Soybean Rust Resistance Pathway Mediated by Rpp2.《Molecular Plant-Microbe Interactions》.2011,第24卷(第2期),第195页左栏第1段.

J.J.Choi et al..Expression patterns in soybean resistant to Phakopsora pachyrhizi reveal the importance of peroxidases and lipoxygenases.《Funct Integr Genomics》.2008,第8卷第341-359页.

杨文杰等.大豆两个MYB 转录因子基因的克隆及表达分析.《中国农业科学》.2008,第41卷(第4期),第961-970页.

审查员 唐亚丽

权利要求书2页 说明书59页

序列表56页 附图9页

(54)发明名称

表达MybTF的抗真菌性植物

(57)摘要

本发明涉及一种增加植物和/或植物细胞中针对柄锈菌目(Pucciniales)真菌性病原体的抗性的方法。这通过与野生型植物、野生型植物部分和/或野生型植物细胞相比增加MybTF蛋白或其片段在植物、植物部分和/或植物细胞中的表达来实现。另外,本发明涉及具有增加的针对真菌性病原体、尤其柄锈菌目病原体的抗性的转基因植物、植物部分和/或植物细胞,并涉及包含与编码MybTF蛋白的序列相同或同源的序列的重组表达载体。

1. 一种用于增加大豆植物中针对大豆锈菌的抗性的方法,其中所述方法包括步骤:与野生型植物相比,增加MybTF蛋白在大豆植物中的表达和/或活性并且其中MybTF蛋白的氨基酸序列由以下核酸编码

(i) 如SEQ ID NO:1所示的核酸;

(ii) 编码如SEQ ID NO:7所示蛋白质的核酸;和/或

(iii) 编码与上文(i)至(ii)的任一核酸编码的相同的MybTF蛋白,但因遗传密码简并性而与上文(i)至(ii)的核酸不同的核酸。

2. 根据根据权利要求1所述的方法,包括

(a) 用表达盒稳定转化大豆植物细胞,所述表达盒包含与启动子处于功能性连接的

(i) 如SEQ ID NO:1所示的外源核酸;

(ii) 编码如SEQ ID NO:7所示蛋白质的外源核酸;和/或

(iii) 编码与上文(i)至(ii)的任一核酸编码的相同的MybTF蛋白,但因遗传密码简并性而与上文(i)至(ii)的核酸不同的外源核酸;

(b) 从大豆植物细胞再生出植物;并且

(c) 表达所述外源核酸。

3. 一种重组载体构建体,包含:

(a) (i) 如SEQ ID NO:1所示的核酸;

(ii) 编码如SEQ ID NO:7所示蛋白质的核酸;和/或

(iii) 编码与上文(i)至(ii)的任一核酸编码的相同的MybTF蛋白,但因遗传密码简并性而与上文(i)至(ii)的核酸不同的核酸,

所述核酸有效连接于

(b) 启动子和

(c) 转录终止序列。

4. 根据权利要求2所述的方法或根据权利要求3所述的重组载体构建体,其中启动子是组成型启动子、病原体诱导型启动子、叶肉特异性启动子或表皮特异性启动子。

5. 非繁殖材料的转基因大豆植物部分,用根据权利要求3或4所述的重组载体构建体转化。

6. 根据权利要求5所述的非繁殖材料的转基因大豆植物部分,其是非繁殖材料的转基因大豆植物细胞。

7. 一种用于产生具有增加的针对大豆锈菌的抗性的转基因大豆植物的方法,包括

(a) 将根据权利要求3或4所述的重组载体构建体引入大豆植物中;

(b) 从大豆植物产生转基因植物;并且

(c) 表达由以下核酸编码的MybTF蛋白

(i) 如SEQ ID NO:1所示的外源核酸;

(ii) 编码与SEQ ID NO:7所示蛋白质的外源核酸;和/或

(iii) 编码与上文(i)至(ii)的任一核酸编码的相同的MybTF蛋白,但因遗传密码简并性而与上文(i)至(ii)的核酸不同的外源核酸。

8. 根据权利要求7所述的方法,还包括步骤:收获转基因大豆植物的种子并种植种子以及将种子培育成植物,其中培育的植物包含

(i) 如SEQ ID NO:1所示的外源核酸;
(ii) 编码如SEQ ID NO:7所示蛋白质的外源核酸;和/或
(iii) 编码与上文(i)至(ii)的任一核酸编码的相同的MybTF蛋白,但因遗传密码简并性而与上文(i)至(ii)的核酸不同的外源核酸。

9. 权利要求1或2中所述的任一核酸的用途或根据权利要求3或4所述的重组载体构建体的用途,用于转化大豆植物以提供抗大豆锈菌的植物。

10. 产物,衍生自权利要求5中所述的非繁殖材料的转基因大豆植物部分、衍生自权利要求6中所述的非繁殖材料的转基因大豆植物细胞、衍生自通过根据权利要求7或8所述的方法可产生的转基因大豆植物。

11. 用于产生产品的方法,包括

a) 培育根据权利要求5所述的非繁殖材料的转基因大豆植物部分或根据权利要求6中所述的非繁殖材料的转基因大豆植物细胞或通过根据权利要求7或8所述的方法可获得的植物,并且

b) 从或借助所述植物和/或所述植物的部分、细胞产生所述产品。

12. 根据权利要求11所述的方法,包括

a) 培育根据权利要求5所述的非繁殖材料的转基因大豆植物部分或根据权利要求6中所述的非繁殖材料的转基因大豆植物细胞或通过根据权利要求7或8所述的方法可获得的植物,并且从植物取出可收获部分;并且

b) 从或借助植物的可收获部分产生所述产品。

13. 根据权利要求11或12所述的方法,其中产品是饼粕或油。

14. 根据权利要求1、2、7或8中任一项所述的方法或根据权利要求9所述的用途,其中针对大豆锈菌的抗性是针对山马蝗层锈菌(*Phakopsora meibomia*)和/或豆薯层锈菌(*Phakopsora pachyrhizi*)的抗性。

15. 一种用于繁育抗大豆锈菌的植物的方法,包括

(a) 将通过权利要求7或8所述的方法可获得的植物与第二植物杂交;

(b) 从步骤(a)的杂交获得种子;

(c) 种植所述种子并将种子培育成植物;并且

(d) 从所述植物选择表达MybTF蛋白的植物,所述MybTF蛋白由以下核酸编码

(i) 如SEQ ID NO:1所示的外源核酸;

(ii) 编码如SEQ ID NO:7所示蛋白质的外源核酸;和/或

(iii) 编码与上文(i)至(ii)的任一核酸编码的相同的MybTF蛋白,但因遗传密码简并性而与上文(i)至(ii)的核酸不同的外源核酸。

16. 根据权利要求1或7所述的方法,其中所述植物是植物部分。

17. 根据权利要求16所述的方法,其中所述植物部分是植物细胞。

18. 根据权利要求9所述的用途,其中所述植物是植物部分。

19. 根据权利要求18所述的用途,其中所述植物部分是植物细胞。

20. 根据权利要求10所述的产物,其中所述产物是大豆粕或大豆油。

21. 根据权利要求13所述的方法,其中所述产品是大豆粕或大豆油。

表达MybTF的抗真菌性植物

[0001] 本申请要求2013年3月8日提交的申请号EP 13158321.3的优先权,所述专利通过引用方式完整并入本文。

[0002] 发明简述

[0003] 本发明涉及一种增加植物、植物部分和/或植物细胞中针对真菌病原体、尤其柄锈菌目(Pucciniales)病原体(例如大豆锈菌)的抗性的方法。与野生型植物、野生型植物部分和/或野生型植物细胞相比这通过增加Myb样转录因子(MybTF)蛋白在植物、植物部分和/或植物细胞中的表达和/或活性来实现。

[0004] 另外,本发明涉及具有增加的针对真菌性病原体、尤其柄锈菌目病原体(例如大豆锈菌)的抗性的转基因植物、植物部分和/或植物细胞,并涉及包含与编码MybTF蛋白的序列相同或同源的序列的重组表达载体。

[0005] 发明背景

[0006] 农业作物植物栽培主要地起到为人类和动物产生食品原料的作用。尤其,作为现今规则的单种栽培高度易受流行样疾病传播的影响。结果是产量明显减少。迄今,已经主要通过使用农药控制致病生物。如今,人类也有可能开始直接修饰植物或病原体的基因组成。

[0007] 抗性总体上描述了植物防止或至少削弱遭受有害病原体侵染和定植的能力。可以识别天然存在抗性的不同机理,借助这些机理,植物抵抗植物病原性生物定植。病原体和宿主之间的这些特异性相互作用决定感染过程(Schopfer和Brennicke(1999) Pflanzensphysiologie, Springer Verlag, Berlin-Heidelberg, 德国)。

[0008] 就小种特异性抗性,也称作宿主抗性,在相容性和不相容性相互作用之间作出区分。在相容性相互作用中,强毒性病原体和易感植物之间发生相互作用。病原体幸存,并且可以建立繁殖结构,而宿主大多死亡。在另一方面,当病原体感染植物但是在症状微弱形成之前或之后其生长被抑制时,发生不相容性相互作用(大多因为存在NBS-LRR家族的R基因所致,见下文)。在后一种情况下,植物抵抗相应的病原体(Schopfer和Brennicke,见上文)。然而,这种类型抗性是对某种菌株或病原体特异的。

[0009] 在相容性和不相容性相互作用中,宿主对病原体的防御性和特异性反应发生。然而,在自然界,这种抗性经常因病原体的新毒力小种快速进化形成被克服(Neu等人,(2003) American Cytopathol. Society, MPMI16No.7:626-633)。

[0010] 大部分病原体具有植物物种特异性。这意味着病原体可以在某些植物物种中引起疾病,但是在其他植物物种中不引起疾病(Heath(2002) Can. J. Plant Pathol. 24:259-264)。某些植物物种中针对病原体的抗性称作非宿主抗性。非宿主抗性提供了免于植物病原体影响的强大、广谱和永久性保护。提供非宿主抗性的基因提供了对抗非宿主植物中某些疾病的强大、广谱和永久性保护的机会。尤其,这种抗性对不同的病原体株系起作用。

[0011] 真菌全球分布。迄今已知大约100,000种不同的真菌物种。其中锈菌类特别重要。它们可以具有至多五个不同孢子阶段(雄配子、锈孢子、夏孢子、冬孢子和担孢子)的复杂发育周期。

[0012] 在致病真菌感染植物期间,通常观察到不同阶段。植物病原真菌和其潜在宿主植

物之间相互作用的第一阶段对真菌定植植物而言具有决定意义。在感染的第一阶段期间，孢子与植物的表面接合，萌发并且真菌穿入植物。真菌可以借助现存口如气孔、皮孔、排水器和伤口穿入植物，或另外，它们因机械力的结果和借助消化细胞壁的酶直接穿入植物表皮。用于穿入植物的特定感染结构物形成。

[0013] 在识别潜在病原体后植物立即开始激发防御反应。病原体的存在大多借助所谓PAMP受体（一类识别保守的病原体相关分子（例如鞭毛或壳多糖）的跨膜受体样激酶）感知。在PAMP受体的下游，植物激素水杨酸（SA）、茉莉酸（JA）和乙烯（ET）在调节不同的防御反应中发挥至关重要作用。取决于不同植物激素的比例，宿主细胞激发不同的防御反应。通常，SA依赖性防御与活体营养型病原体抗性相关，而JA/ET依赖性防御反应在大多数情况下针对坏死营养型病原体（和昆虫）。

[0014] 另一个更特异的抗性机理基于所谓抗性基因（R-基因）的存在。大部分R基因属于核苷酸结合位点-亮氨酸丰富重复序列（NBS-LRR）基因家族并且在监测病原体效应子蛋白的存在（毒力因子；非毒力因子）方面发挥作用。在识别病原体衍生的蛋白质后，强烈防御反应（大多伴随程序性细胞死亡）被激发。

[0015] 大豆锈菌豆薯层锈菌（*Phakopsora pachyrhizi*）直接穿透植物表皮。在穿过表皮细胞后，真菌到达叶肉的胞间隙，在这里真菌开始扩散遍及整个叶。为了获得养分，真菌穿入叶肉细胞并在叶肉细胞内部形成吸器。在穿入过程期间，被穿透的叶肉细胞的细胞膜保持完整。因此，大豆锈菌真菌与大豆建立活体营养型相互作用。

[0016] 活体营养型植物病原真菌，如大豆锈菌和全部其他锈真菌，依赖植物活细胞的代谢取得它们的营养。这种类型的真菌属于活体营养型真菌类，类似于其他锈真菌、白粉病真菌或卵菌病原体如疫霉属（*Phytophthora*）或霜霉属（*Peronospora*）。坏死营养型植物病原真菌依赖植物的死细胞取得其营养，例如来自镰孢霉属（*Fusarium*）、丝核菌属（*Rhizoctonia*）或球腔菌属（*Mycosphaerella*）的物种。大豆锈菌占据居间位置，因为它直接穿透表皮，因此被穿透的细胞变得坏死。在穿透后，真菌变成专性活体营养型生活方式。基本上沿用这种感染策略的活体营养型真菌性病原体的亚类是半坏死营养型病原体。与半坏死营养型病原体相反，半活体营养型病原体以活体营养型方式短时间生活并随后开始杀死宿主细胞和/或宿主生物，即，生活周期的其余时间变成坏死营养型生活方式。

[0017] 大豆锈病在最近时间变得日益重要。该疾病可以由活体营养型锈菌豆薯层锈菌（*Phakopsora pachyrhizi*）和山马蝗层锈菌（*Phakopsora meibomiae*）引起。它们属于担子菌门（Basidiomycota）、锈菌目（Uredinales）、层锈菌科（Phakopsoraceae）。两种锈菌均感染广泛种类的豆科宿主植物。豆薯层锈菌，也称作亚洲锈菌，是大豆（*Glycine max*）上侵入性更强的病原体，并且因此至少目前对农业而言非常重要。豆薯层锈菌（*P. pachyrhizi*）可以几乎在世界上全部热带和亚热带大豆种植区找到。豆薯层锈菌能够在天然条件下感染来自豆科（Leguminosae）17个家族的31个物种并且能够在受控条件下生长在其他60物种上（Sinclair等人，（编著），*Proceedings of the rust workshop*（1995），National SoyaResearch Laboratory, Publication No.1（1996）；Rytter J.L.等人，*Plant Dis.* 87, 818（1984））。山马蝗层锈菌（*P. meibomiae*）已经在加勒比海盆地及在波多黎各发现，并且尚未造成重大损失。

[0018] 豆薯层锈菌目前可以在野外仅借助杀真菌剂控制。没有获得对全谱系分离株有抗

性的大豆植物。当检索抗性大豆种质时,通过筛选数千个大豆品种找到了NBS-LRR家族的介导大豆抵抗豆薯层锈菌的六个显性R基因,命名为Rpp1-5和Rpp? (Hyuuga)。由于R-基因衍生自宿主(大豆),所以该抗性快速丧失,原因是豆薯层锈菌形成新的毒力小种。因此迫切需要发现衍生自非宿主植物(例如拟南芥(*Arabidopsis*))的R-基因,因为认为它们更耐久。

[0019] 近年来,真菌性疾病,例如大豆锈病,已经作为农产品中的病害变得重要。因此现有技术中需要开发控制真菌和提供抗真菌性植物的方法。

[0020] 大多数研究已经在感染植物表皮层的白粉菌和霜霉领域进行。然而,没有解决与感染叶肉的大豆锈菌斗争的问题。

[0021] 本发明的目的尤其是提供一种增加针对真菌性病原体、优选地针对锈菌病原体(即,柄锈菌目真菌性病原体)、优选地针对层锈菌科(Phacopsoraceae)真菌性病原体、更优选地针对层锈菌属(Phacopsora)真菌性病原体、最优选地针对豆薯层锈菌和山马蝗层锈菌(也称作大豆锈菌)的抗性的方法。

[0022] 令人惊讶地,我们发现可以通过增加MybTF蛋白的表达,控制真菌性病原体,尤其柄锈菌目真菌性病原体,例如大豆锈菌。本发明中所述的MybTF属于R2R3-MYB家族。

[0023] 本发明因此提供一种通过过表达一种或者多种MybTF核酸而增加转基因植物、转基因植物部分或转基因植物细胞中针对真菌性病原体、优选地针对锈菌病原体(即,柄锈菌目真菌性病原体)、优选地针对层锈菌科真菌性病原体、更优选地针对层锈菌属真菌性病原体、最优选地针对豆薯层锈菌和山马蝗层锈菌(也称作大豆锈菌)的抗性的方法。

[0024] 又一个目的是提供抵抗真菌性病原体、优选地锈菌病原体(即,柄锈菌目真菌性病原体)、优选地抵抗层锈菌科病原体、更优选地抵抗层锈菌属真菌性病原体,最优选地抵抗豆薯层锈菌和山马蝗层锈菌(也称作大豆锈病)的转基因植物、一种用于产生这类植物的方法以及可用于上述方法的载体构建体。

[0025] 因此,本发明还涉及包含外源MybTF核酸的重组载体构建体和转基因植物、转基因植物部分或转基因植物细胞。另外,本文要求保护一种使用本发明的核酸产生转基因植物、转基因植物部分或转基因植物细胞的方法。此外,本文要求保护本发明核酸或重组载体用于转化植物、植物部分或植物细胞的用途。

[0026] 如上文概述,通过主要权利要求的主题实现本发明的目的。本发明的优选实施方案由从属权利要求的主题限定。

[0027] 发明简述

[0028] 本发明的目的尤其是提供一种增加针对真菌性病原体、优选地针对锈菌病原体(即,柄锈菌目真菌性病原体)、优选地针对层锈菌科真菌性病原体、更优选地针对层锈菌属真菌性病原体、最优选地针对豆薯层锈菌和山马蝗层锈菌(也称作大豆锈菌)的抗性的方法。

[0029] 令人惊讶地,我们发现可以通过增加MybTF蛋白的表达,增强针对真菌性病原体、尤其柄锈菌目真菌性病原体(例如大豆锈菌)的抗性。

[0030] 本发明因此提供一种通过过表达一种或者多种MybTF核酸而增加转基因植物、转基因植物部分或转基因植物细胞中增加针对真菌性病原体、优选地锈菌病原体(即,柄锈菌目真菌性病原体)、优选地针对层锈菌科真菌性病原体、更优选地针对层锈菌属真菌性病原体、最优选地针对豆薯层锈菌和山马蝗层锈菌(也称作大豆锈菌)的抗性的方法。

[0031] 又一个目的是提供抵抗真菌性病原体、优选地锈菌病原体(即,柄锈菌目真菌性病原体)、优选地抵抗层锈菌科病原体、更优选地抵抗层锈菌属真菌性病原体,最优选地抵抗豆薯层锈菌和山马蝗层锈菌(也称作大豆锈病)的转基因植物、一种用于产生这类植物的方法以及可用于上述方法的载体构建体。

[0032] 因此,本发明还涉及包含外源MybTF核酸的重组载体构建体和转基因植物、转基因植物部分或转基因植物细胞。另外,本文要求保护一种使用本发明的核酸产生转基因植物、转基因植物部分或转基因植物细胞的方法。此外,本文要求保护本发明核酸或重组载体用于转化植物、植物部分或植物细胞的用途。

[0033] 如上文概述,通过主要权利要求的主题实现本发明的目的。本发明的优选实施方案由从属权利要求的主题限定。

附图说明

[0034] 图1显示用来测定野生型大豆植物和抗锈真菌豆薯层锈菌的转基因大豆植物的患病叶面积水平的评分系统(如GODOY,C.V.,KOGA,L.J.和CANTERI,M.G.Diagrammatic scale for assessment of soybean rust severity.Fitopatologia Brasileira 31:063-068.2006中所述)。

[0035] 图2显示携带在欧芹遍在蛋白启动子控制下的MybTF DNA片段的植物转化载体的示意图。

[0036] 图3显示拟南芥MybTF基因组序列(AT3G29020基因组,TAIR登录号4010724011,SEQ ID NO:8)、衍生自基因组序列的两个推定性MybTF编码序列MybTF CDS1 (At3G29020.1-CDS,登录号NM_113823,SEQ-ID NO:6)和MybTF CDS2 (At3G29020.2-CDS,TAIR登录号4010715313,SEQ ID NO:4)和如实施例中所用的MybTF序列(MybTF-DNA,SEQ ID NO:1)的比对结果。

[0037] 图4显示评定表达MybTF过量表达载体构建体的15个转基因大豆植物(T₀代)的结果。携带MybTF表达盒的T₀大豆植物用豆薯层锈菌孢子接种。通过RT-PCR检查MybTF的表达。接种后14日评价全部叶上的患病叶面积。将全部叶上显示真菌菌落或强烈黄化/褐变的叶面积的百分数的平均数视为患病叶面积。平行于非转基因对照植物,总计评价表达MybTF(通过RT-PCR检查表达)的15个大豆T₀植物。图4中显示患病叶面积的平均数。与非转基因对照植物相比,MybTF过量表达显著地(***:p<0.001)减少患病叶面积72.3%。

[0038] 图5含有序列表序列的简述。

[0039] 发明详述

[0040] 可以通过参考本发明实施方案的以下详述和其中所包含的优选实施例更轻易地理解本发明。

[0041] 定义

[0042] 除非另外说明,本文中所用的术语将根据相关领域技术人员的常规用法进行理解。除了本文所提供术语的定义之外,分子生物学领域中常见术语的定义也可以在Rieger等人,1991Glossary of genetics:classical and molecular,第5版,柏林:Springer-Verlag并在Current Protocols in Molecular Biology,F.M.Ausubel等人,编著,Green Publishing Associates,Inc与John Wiley&Sons,Inc.间合资公司Current Protocols

(1998Supplement)中找到。

[0043] 应当理解如本说明书中和权利要求中所用,“a”或“an”可以意指一个或多个,这取决于使用它的上下文。因此,例如,对“一个细胞”的提及可以指利用至少一个细胞。应当理解本文中所用术语的目的仅在于描述具体实施方案,并且不意图是限制性的。

[0044] 在本申请书的全文范围内,参考了多种出版物。全部这些出版物及这些出版物中完整引用的那些参考文献的公开内容因而通过引用的方式并入本申请书,旨在更充分地描述与本发明相关的现有技术状态。用于克隆、DNA分离、扩增和纯化的标准技术、涉及DNA连接酶、DNA聚合酶、限制性核酸内切酶等的酶促反应和各种分离技术是本领域技术人员已知并常用的那些技术。下述文献中描述了多种标准技术:Sambrook等人,1989Molecular Cloning,第2版,Cold Spring Harbor Laboratory,Plainview,N.Y.;Maniatis等人,1982Molecular Cloning,Cold Spring Harbor Laboratory,Plainview,N.Y.;Wu(编著)1993Meth.Enzymol.218,Part I;Wu(编著)1979Meth Enzymol.68;Wu等人,(编著)1983Meth.Enzymol.100及101;Grossman和Moldave(编著)1980Meth.Enzymol.65;Miller(编著)1972Experiments in Molecular Genetics,Cold Spring Harbor Laboratory,Cold Spring Harbor,N.Y.;Old和Primrose,1981Principles of Gene Manipulation,University of California Press,Berkeley;Schleif和Wensink,1982Practical Methods in Molecular Biology;Glover(编著)1985DNA Cloning第I和II卷,IRL Press,Oxford,UK;Hames和Higgins(编著)1985Nucleic Acid Hybridization,IRL Press,Oxford,UK;以及Setlow和Hollaender 1979Genetic Engineering:Principles and Methods,第1-4卷,Plenum Press,New York。在使用的情况下,认为缩写和命名是本领域中的标准并且常用于专业期刊(如本文援引的那些)中。

[0045] 蛋白质的“同源物”包括这样的肽、寡肽、多肽、蛋白质和/或酶,它们相对于所讨论的未修饰蛋白具有氨基酸置换、缺失和/或插入,并且与作为所述肽、寡肽、多肽、蛋白质和酶来源的未修饰蛋白具有相似的功能活性。

[0046] 核酸的“同源物”涵盖相对所讨论的未修饰核酸而言具有核酸置换、缺失和/或插入的核苷酸和/或多核苷酸,其中由这类核酸编码的蛋白质具有与衍生它们的未修饰核酸编码的未修饰蛋白质相似的功能活性。特别地,核酸的同源物可以涵盖基于简并性氨基酸密码子的置换。

[0047] 术语“同一性”、“同源性”和“相似性”是在本文中可互换地使用。两个核酸序列或氨基酸序列之间的“同一性”或“同源性”或“相似性”在每种情况下均指在相应MybTF核酸序列或MybTF氨基酸序列的整个长度范围内。

[0048] 优选地,通过以下方式计算“序列同一性百分数”:在特定区域范围内比较两个最佳比对的序列,确定两个序列中出现相同碱基或氨基酸的位置的数目以产生匹配位置的数目,这类位置的数目除以所比较区域内位置的总数并将结果乘以100。

[0049] 用于比对序列以比较的方法是本领域熟知的,此类方法包括GAP、BESTFIT、BLAST、FASTA和TFASTA。GAP使用Needleman和Wunsch算法((1970)J Mol Biol 48:443-453)以找到使匹配数最大化并使空位数最小化的两个序列的总体(即,覆盖完整序列的)比对结果。BLAST算法(Altschul等人,(1990)J Mol Biol 215:403-10)计算序列同一性或相似性或同源性百分数并且进行两个序列之间同一性或相似性或同源性的统计分析。用于开展BLAST

分析的软件是通过国家生物技术信息中心 (NCBI) 可公开获得的。同源物可以使用例如 ClustalW 多重序列比对算法 (版本 1.83), 以默认配对比对参数和百分数评分方法轻易地鉴定。也可以使用 MatGAT 软件包中的可用方法之一确定总体相似性/同源性/同一性百分数 (Campanella 等, BMC Bioinformatics. 2003 年 7 月 10 日; 4:29. MatGAT: an application that generates similarity/homology/identity matrices using protein or DNA sequences)。如对本领域技术人员显而易见, 可以进行少许手工编辑以优化保守基序之间的比对。此外, 作为使用全长序列鉴定同源物的替代, 也可以使用特定的结构域。使用上文提及的程序, 使用默认参数, 可以确定在完整核酸或氨基酸序列范围或所选结构域或保守基序范围内的序列同一性值。对于局部比对, Smith-Waterman 算法是特别有用的 (Smith TF, Waterman MS (1981) J. Mol. Biol. 147 (1); 195-7)。

[0050] 也可以借助 Informax (USA) 公司 Vector NTI 软件包 7.1 程序, 使用 Clustal 方法 (Higgins DG, Sharp PM. Fast and sensitive multiple sequence alignments on a microcomputer. Comput Appl. Biosci. 1989 Apr; 5 (2): 151-1) 连同以下设置, 计算序列同一性:

[0051] 多重比对参数:

[0052] 空位开口罚分 10

[0053] 空位延伸罚分 10

[0054] 空位分离罚分范围 8

[0055] 空位分离罚分 关闭

[0056] 比对延迟的同一性 % 40

[0057] 残基特异性空位 关闭

[0058] 亲水残基空位 关闭

[0059] 转换 (transition) 权重 0

[0060] 配对比对参数:

[0061] FAS 算法 开启

[0062] K-tuple 大小 1

[0063] 空位罚分 3

[0064] 窗大小 5

[0065] 最佳对角线数目 5

[0066] 备选地, 可以根据 Chenna, Ramu, Sugawara, Hideaki, Koike, Tadashi, Lopez, Rodrigo, Gibson, Toby J, Higgins, Desmond G, Thompson, Julie D. 采用 Clustal 系列程序的多重序列比对 (Multiple sequence alignment with the Clustal series of programs). (2003) Nucleic Acids Res 31 (13): 3497-500, 网页: <http://www.ebi.ac.uk/Tools/clustalw/index.html> 和以下设置, 确定同一性

[0067] DNA 空位开口罚分 15.0

[0068] DNA 空位延伸罚分 6.66

[0069] DNA 矩阵 同一性

[0070] 蛋白质空位开口罚分 10.0

[0071] 蛋白质空位延伸罚分 0.2

[0072] 蛋白质矩阵Gonnet

[0073] 蛋白质/DNA末端空位 -1

[0074] 蛋白质/DNA空位距离 4

[0075] 因此,可以通过本领域已知的序列比较及比对算法(见Gribskov和Devereux, Sequence Analysis Primer, Stockton Press, 1991和其中引用的参考文献)并且用例如Smith-Waterman算法计算核苷酸序列或蛋白质序列之间的差异百分数,如使用默认参数在BESTFIT软件程序中所执行那样(例如,威斯康星大学遗传学计算集团(University of Wisconsin Genetic Computing Group)),优化根据本发明可用的核酸或蛋白质和MybTF核酸或MybTF蛋白之间的序列同一性。

[0076] “缺失”指从蛋白质中移除一个或多个氨基酸,或指从DNA、ssRNA和/或dsRNA移除一个或多个核酸。

[0077] 插入指向蛋白质或核酸中的预定位点引入一个或多个氨基酸残基或核酸残基。

[0078] “置换”指蛋白质的氨基酸以具有相似特性(如相似的疏水性、亲水性、抗原性、形成或破坏 α -螺旋结构或 β -折叠结构的倾向性)的其他氨基酸替换。

[0079] 在核酸水平,置换指在核酸内部将一个或多个核苷酸更换为其他核苷酸,其中由修饰的核酸编码的蛋白质具有相似的功能。特别地,核酸的同源物涵盖基于简并性氨基酸密码子的置换。

[0080] 氨基酸置换一般是单个残基的,不过可以是簇集性的,这取决于对蛋白质所设置的功能性约束条件,并且可以为1到10个氨基酸变动;插入或缺失通常将是约1-10个氨基酸残基级别。氨基酸置换优选地是保守性氨基酸置换。保守性置换表是本领域熟知的(参见例如Taylor W.R. (1986) The classification of amino acid conservation J Theor Biol., 119:205-18和下表1)。

[0081] 表1:保守性氨基酸置换的例子

[0082]

残基	保守性置换		残基	保守性置换
A	G、V、I、L、M		L	M、I、V、A、G
C	S、T		N	Q
E	D		Q	N
D	E		P	
G	A、V、I、L、M		S	T、C
F	Y、W		R	K、H
I	V、A、G、L、M		T	S、C
H	R、K		W	Y、F
K	R、H		V	I、A、G、L、M
M	L、I、V、A、G		Y	F、W

[0083] 氨基酸置换、缺失和/或插入可以使用本领域熟知的肽合成技术如固相肽合成法等或通过重组DNA操作而容易地进行。

[0084] 用于操作DNA序列以产生蛋白质的置换、插入或缺失变体的方法是本领域熟知的。例如,用于在DNA中预定位点处产生置换突变的技术是本领域技术人员熟知的并且包括M13

诱变法、T7-Gen体外诱变法(USB,Cleveland,OH)、QuickChange位点定向诱变法(Stratagene, San Diego, CA)、PCR介导的位点定向诱变或其他位点定向诱变法。

[0085] 直向同源物和旁系同源物包含用来描述基因祖先关系的进化概念。旁系同源物是相同物种内起源于先祖基因复制的基因;而直向同源物是来自不同生物的起源于物种形成的基因,并且也源自共同的祖先基因。

[0086] 术语“编码”或“编码”用于核酸借助遗传密码(即,一系列分别是三核苷酸序列的密码子)含有蛋白质的氨基酸序列信息的能力,所述遗传密码规定蛋白质合成期间接下来将添加哪个氨基酸。术语“编码”或“编码”因此包括核酸的全部可能可读框。另外,术语“编码”或“编码”还适用于其编码序列被翻译前移除的非编码核酸序列中断的核酸,例如,包含内含子的核酸序列。

[0087] 术语“结构域”指沿进化相关蛋白质的序列比对结果而在特定位置处保守的一组氨基酸。尽管在其他位置处的氨基酸可以在同源物之间不同,然而在特定位置处高度保守的氨基酸指示在蛋白质结构、稳定性或功能方面可能是必需的氨基酸。

[0088] 存在用于鉴定结构域的专业数据库,例如,SMART (Schultz等人,(1998) Proc.Natl.Acad.Sci.USA 95,5857-5864;Letunic等人,(2002) Nucleic Acids Res 30, 242-244)、InterPro (Mulder等,(2003) Nucl.Acids.Res.31,315-318)、Prosite (Bucher和Bairoch(1994), A generalized profile syntax for biomolecular sequences motifs and its function in automatic sequence interpretation(引自) ISMB-94; Proceedings 2nd International Conference on Intelligent Systems for Molecular Biology. Altman R., Brutlag D., Karp P., Lathrop R., Searls D. 编著,第53-61页, AAAI Press, Menlo Park; Hulo等, Nucl.Acids.Res.32:D134-D137, (2004)) 或 Pfam (Bateman等, Nucleic Acids Research 30(1):276-280 (2002))。一组用于计算机芯片上分析蛋白质序列的工具是在ExPASy蛋白质组服务器上可获得的(瑞士生物信息研究所(Gasteiger等人, ExPASy: The proteomics server for in-depth protein knowledge and analysis, Nucleic Acids Res.31:3784-3788 (2003))。也可以使用常规技术如通过序列比对鉴定结构域或基序。

[0089] 如本文所用术语“真菌抗性”,“抵抗真菌”和/或“抗真菌的”意指减少、防止或延迟真菌感染。术语“抗性”指真菌抗性。抗性不暗示植物必然地具有100%抗感染性。在优选的实施方案中,增强或增加真菌抗性意指抗性植物中的抗性与野生型植物相比大于10%、大于20%、大于30%、大于40%、大于50%、大于60%、大于70%、大于80%、大于90%、或大于95%。

[0090] 如本文所用术语“大豆锈菌抗性”、“抵抗大豆锈菌”、“抗大豆锈菌的”、“锈菌抗性”、“抵抗锈菌”或“抗锈菌的”意指与野生型植物、野生型植物部分或野生型植物细胞相比,减少或防止或延迟植物、植物部分或植物细胞被层锈菌科、尤其豆薯层锈菌和山马蝗层锈菌(也称作大豆锈菌或亚洲大豆锈菌(ASR))感染。抗性不暗示植物必然地具有100%抗感染性。在优选的实施方案中,增强或增加锈菌抗性意指抗性植物中的锈菌抗性与不抵抗大豆锈菌的野生型植物相比大于10%、大于20%、大于30%、大于40%、大于50%、大于60%、大于70%、大于80%、大于90%、或大于95%。优选地,野生型植物是基因型与具有增加的大豆锈菌抗性的植物相似、更优选相同的植物,但是不包含外源MybTF核酸、其功能性片段和/

或能够与MybTF核酸杂交的外源核酸。

[0091] 植物的真菌抗性水平可以按多种方式确定,例如通过相对于总体叶面积对感染叶面积评分/测量来确定。另一种确定抗性水平的可能性是计数植物上大豆锈菌菌落的数目或测量这些菌落产生的孢子的数量。另一个解析真菌侵染程度的方式是通过定量(q)PCR特异性测量锈菌DNA的量。针对大部分真菌性病原体的特异性探针和引物序列是在文献中可获得的(Frederick RD, Snyder CL, Peterson GL等人, 2002 Polymerase chain reaction assays for the detection and discrimination of the rust pathogens *Phakopsora pachyrhizi* and *P. meibomia*, *Phytopathology* 92 (2) 217-227)。

[0092] 如本文中所用,术语“杂交”包括“核酸分子的链通过碱基配对作用与互补链结合的任意过程”(J. Coombs (1994) *Dictionary of Biotechnology*, Stockton Press, New York)。杂交和杂交的强度(即,核酸分子之间结合的强度)受此类因素影响,如核酸分子之间的互补性程度、所涉及条件的严格性、所形成杂合体的 T_m 和核酸分子内部的G:C比。

[0093] 如本文中所用,术语“ T_m ”用来指“解链温度”。解链温度是双链核酸分子群体一半解离成单链的温度。用于计算核酸分子的 T_m 的等式是本领域熟知的。如标准参考文献所示,当核酸分子处于1M NaCl的水溶液中时,可以通过等式: $T_m = 81.5 + 0.41 (\%G+C)$ 计算来进行 T_m 值的简单估计(见例如,Anderson和Young, *Quantitative Filter Hybridization, in Nucleic Acid Hybridization* (1985))。其他参考文献包括更复杂算法,这些算法考虑了结构特征及序列特征以计算 T_m 。严格条件是本领域技术人员已知的并且可以在Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, N.Y. (1989), 6.3.1-6.3.6中找到。

[0094] 特别地,术语“严格性条件”指这些条件,其中作为互补核酸分子(DNA、RNA、ssDNA或ssRNA)的片段或与之相同的100个或更多个连续核苷酸、150个或更多个连续核苷酸、200个或更多个连续核苷酸或250个或更多个连续核苷酸在等同于在50℃在7%十二烷基硫酸钠(SDS)、0.5M NaPO₄、1mM EDTA中杂交同时在50℃或65℃、优选地在65℃于2X SSC、0.1% SDS中洗涤的条件下与特定核酸分子(DNA、RNA、ssDNA或ssRNA)杂交。优选地,该杂交条件等同于在50℃在7%十二烷基硫酸钠(SDS)、0.5M NaPO₄、1mM EDTA中杂交,同时在50℃或65℃、优选地65℃于1X SSC、0.1% SDS中洗涤,更优选地,该杂交条件等同于在50℃在7%十二烷基硫酸钠(SDS)、0.5M NaPO₄、1mM EDTA中杂交,同时在50℃或65℃、优选地在65℃于0.1X SSC、0.1% SDS中洗涤。优选地,互补核苷酸与MybTF核酸的片段或完整MybTF核酸杂交。备选地,优选的杂交条件涵盖在65℃在1x SSC中或在42℃在1x SSC和50%甲酰胺中杂交,随后在65℃在0.3x SSC中洗涤或在50℃在4x SSC中或在40℃在6x SSC和50%甲酰胺中杂交,随后在50℃在2x SSC中洗涤。其他优选的杂交条件是0.1% SDS、0.1x SSD和65℃。

[0095] 术语“植物”意在包括处于任何成熟或发育阶段的植物,以及取自或源自任意这种植物的任何组织或器官(植物部分),除非由上下文另外清晰地指明。植物部分包括但不限于植物细胞、茎、根、花、胚珠、雄蕊、种子、叶、胚、分生组织区、愈伤组织、花药培养物、配子体、孢子体、花粉、小孢子、原生质体、须根培养物、和/或等等。本发明还包括由本发明植物产生的种子。优选地,种子包含外源MybTF核酸。在一个实施方案中,种子可以发育成与植物种子的野生型品种相比抗真菌性感染性增加的植物。如本文所用,“植物细胞”包括,但不限于原生质体、配子生产细胞和再生成为完整植株的细胞。植物的各种组织的组织培养和从中再生出植物是本领域熟知的并且广泛地公开。

[0096] 本文中对“内源”核酸和/或蛋白质的称谓指如植物中以其天然形式(即不存在任何人类干预情况下)存在的所讨论核酸和/或蛋白质。

[0097] 术语“外源”核酸指已经借助基因技术引入植物中的核酸。“外源”核酸可以不以其天然形式出现在植物中,与如植物中以其天然形式存在的所讨论核酸不同,或可以与如植物中以其天然形式存在的所讨论核酸相同,但是没有整合于它们的天然遗传环境内部的那些。“外源”的相应含义在蛋白质表达的背景下适用。例如,与内源基因表达相比时,含有转基因(即,外源核酸)的转基因植物可以遭遇相应的基因或蛋白质表达总体上大幅度增加。本发明的转基因植物包括整合在任何基因座处的外源MybTF核酸,并且任选地,所述植物还可以包括在天然遗传背景内部的内源基因。

[0098] 出于本发明的目的,“重组”就例如核酸序列而言意指包含任一种或多种MybTF核酸的核酸分子、表达盒或载体构建体、由人类通过基因技术方法带来的全部那些构建体,其中:

[0099] (a) MybTF核酸或其部份的序列,或

[0100] (b) 与本发明MybTF核酸序列有效连接的基因控制序列,例如启动子,或

[0101] (c) (a) 和 (b)

[0102] 不位于其天然遗传环境内或已经由人类通过基因技术方法修饰。修饰可以采取例如一个或多个核苷酸残基置换、添加、缺失、倒位或插入的形式。天然遗传环境理解为意指来源植物中的天然基因组基因座或染色体基因座或在基因组文库中存在或与天然启动子组合。

[0103] 例如,天然存在的表达盒-例如核酸序列的天然启动子与编码本发明方法中所用的蛋白质的对应核酸序列的天然存在组合,如上文所定义-当这种表达盒由人类通过非天然性合成(“人工”)方法(如诱变处理)修饰时,变成重组表达盒。合适的方法例如在US 5,565,350、WO 00/15815或US200405323中描述。另外,天然存在的表达盒-例如核酸序列的天然启动子与编码本发明方法中所用的蛋白质的对应核酸序列的天然存在的组合,如上文所定义-在这种表达盒没有在天然遗传环境中而在一个不同遗传环境中整合时,变成重组表达盒。

[0104] 术语“分离的核酸”或“分离的蛋白质”指不位于其天然环境、尤其其它天然细胞环境内的核酸或蛋白质。因此,分离的核酸或分离的蛋白质基本上与其天然环境的其他组分分离。但是,本领域技术人员明白分离的核酸或分离的蛋白质的制备物可以显示一定程度的不纯度,这取决于所用的分离方法。用于纯化核酸和蛋白质的方法是本领域熟知的。分离的基因可以从生物分离,或可以是人造的,例如通过化学合成法。在这个方面,重组核酸也可以处于分离的形成。

[0105] 如本文所用,术语“转基因”指外源含有本文所述的核酸,重组构建体、载体或表达盒或其部份的生物,例如,植物、植物细胞、愈伤组织、植物组织或植物部分,其中所述核酸,重组构建体、载体或表达盒或其部份优选地通过基本上不是生物的过程、优选地通过农杆菌转化法引入。重组构建体或其部份稳定整合入染色体,从而它通过无性繁殖、营养繁殖或有性繁殖传递给后续世代。优选的后续世代也是转基因的。基本上生物的过程可以是植物杂交和/或天然重组。

[0106] 出于本发明的目的,转基因植物、植物细胞或组织因此理解为意指外源MybTF核

酸、包含一种或多种MybTF核酸的重组构建体、载体或表达盒借助基因技术整合至基因组中。

[0107] “野生型植物”、“野生型”植物部分或“野生型”植物细胞意指所述植物、植物部分或植物细胞不表达外源MybTF核酸或外源MybTF蛋白。

[0108] 天然基因座意指特定染色体上的位置,优选地在某些基因之间的位置,更优选地与经转化的原始植物相同的序列背景。

[0109] 优选地,转基因植物、其植物细胞或组织表达本文所述的MybTF核酸、MybTF构建体或MybTF表达盒。

[0110] 术语“表达”或“基因表达”意指一个特定基因或多个特定基因或特定基因载体构建体的转录。术语“表达”或“基因表达”尤其意指某个基因或多个基因或基因载体构建体转录成结构性RNA (rRNA、tRNA) 或mRNA,所述mRNA随后翻译成或不翻译成蛋白质。该过程包括DNA的转录和所得RNA产物的加工。术语“表达”或“基因表达”还可以包括翻译mRNA和随后合成所编码的蛋白质,即,蛋白质表达。

[0111] 如本文中所用的术语“增加的表达”或“增强的表达”或“过量表达”或“含量增加”意指相对于原有野生型表达水平为额外的任何形式的表达。出于本发明的目的,原初的野生型表达水平也可以是零(不存在表达)。

[0112] 用于增加基因或基因产物的表达的方法是本领域内充分记录的,并且包括例如由适宜启动子驱动的过量表达、使用转录增强子或翻译增强子。可以在非异源形式的多核苷酸的适宜位置(一般在上游)中导入充当启动子或增强子元件的分离的核酸,从而上调编码目的蛋白质的核酸表达。例如,内源性启动子可以通过突变、缺失和/或取代而在体内改变(见Kmiec,US 5,565,350;Zarling等,W09322443),或可以将分离的启动子以相对于本发明基因的正确方向及距离引入植物细胞,以便控制基因表达。

[0113] 术语“功能性片段”指任何核酸或蛋白质,所述核酸或蛋白质分别仅包含全长核酸或全长蛋白质的部分,但在植物中分别表达或被阻遏时仍提供基本上相同的功能,例如,真菌抗性。优选地,该片段包含至少70%、至少80%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%的原始序列。优选地,功能性片段包含分别如原始核酸或原始蛋白质中那样的连续核酸或氨基酸。在一个实施方案中,任何MybTF核酸的片段在相应MybTF核酸的至少70%、至少75%、至少90%核苷酸的长度范围内具有如上文定义的同源性。

[0114] 如本文中所用的术语“剪接变体”包含其中已经切除、替换、移位或添加所选内含子和/或外显子或其部分或其中内含子已经缩短或加长的核酸序列的变体。因此,剪接变体可以具有移除或添加或部分移除或部分添加的一个或多个或甚至全部内含子。根据这个定义,将cDNA视为相应的含有内含子的基因组序列的剪接变体并且反之亦然。此类剪接变体可以在自然界中找到或可以人工产生。用于预测和分离此类剪接变体的方法是本领域熟知的(见例如Foissac和Schiex (2005) BMC Bioinformatics.6:25)。

[0115] 在需要过量表达核酸的情况下,术语“相似的功能活性”或“相似的功能”意指在植物中表达时任何同源物和/或片段提供真菌抗性。优选地,相似的功能活性意指与通过外源表达如SEQ ID NO:6、4、2、3、或1所定义的MybTF核苷酸序列提供的功能活性相比,至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%或更高的真菌抗性。

[0116] 如本文所用的术语“增加的活性”或“增强的活性”意指任何蛋白质,所述蛋白质具有增加的活性并且与仅表达相应的内源MybTF核酸的野生型植物相比,提供增加的真菌抗性。就过量表达而言,出于本发明的目的,原初的野生型表达也可以是零(不存在表达)。

[0117] 就载体构建体和/或重组核酸分子而言,术语“有效连接”意指待表达的核酸以允许核酸表达(例如,当载体引入宿主植物细胞时在宿主植物细胞中)的方式与调节序列连接,所述调节序列包括启动子、终止子、增强子和/或其他表达控制元件(例如,多聚腺苷化信号)。此类调节序列例如在Goeddel, Gene Expression Technology: Methods in Enzymology 185, Academic Press, San Diego, CA (1990) 和Gruber与Crosby, 引自: Methods in Plant Molecular Biology and Biotechnology, Glick和Thompson编著, 第7章, 89-108, CRC Press: Boca Raton, Florida, 包括其中参考文献中描述。调节序列包括指导核苷酸序列在许多类型的宿主细胞中组成型表达的那些调节序列和指导这种核苷酸序列仅在某些宿主细胞中或在某些条件下表达的那些调节序列。本领域技术人员会理解,载体的设计可能取决于此类因素,如待转化细胞的选择、所需的核酸表达水平等。

[0118] 如本文中所提及的术语“引入”或“转化”包括外源性多核苷酸转移至宿主细胞内,无论用于转化的方法是什么。能够后续克隆性增殖(无论通过器官发生或胚发生)的植物组织可以用本发明的载体构建体转化并且可以从中再生完整植物。所选的具体组织根据可用于并且最好适于正在进行转化的具体物种的克隆性增殖系统而变化。示例性靶组织包括叶盘、花粉、胚、子叶、下胚轴、大配子体、愈伤组织、现存的分生组织(例如顶端分生组织、腋芽和根分生组织)和诱导的分生组织(例如子叶分生组织和下胚轴分生组织)。多核苷酸可以瞬时或稳定地引入宿主细胞并且可以非整合地维持,例如作为质粒。备选地,多核苷酸可以整合至宿主基因组内。宿主基因组包括细胞核中所含的核酸以及质体(例如,叶绿体和/或线粒体)中所含的核酸。产生的转化植物细胞随后可以用来以本领域技术人员已知的方式再生出转化的植物。

[0119] 术语“终止子”包括这样的控制序列,其是在转录单位末端的DNA序列,发出对初级转录物进行3'加工并多聚腺苷化以及终止转录的信号。终止子可以从天然基因、从多种其他植物基因或从T-DNA衍生。待添加的终止子可以源自例如胭脂碱合酶基因或章鱼碱合酶基因或备选地来自另一种植物基因或较不优选地来自任何其他真核基因。

[0120] 发明详述

[0121] MybTF核酸

[0122] 待过量表达以实现对真菌性病原体例如层锈菌科真菌病性原体(例如大豆锈菌)的抗性增加的MybTF核酸优选地是编码MybTF蛋白、优选地是R2R3-MYB家族MybTF蛋白的核酸,并且优选地如SEQ ID NO: 2、3、1、6、4、8、9-24、25、27、29、31、33、35、37、39、41、43、45、47、49、51、53或55或者其片段、同系物、衍生物、直向同源物或旁系同源物或其剪接变体所定义。优选地,编码本发明MybTF蛋白的核酸与SEQ ID NO: 2、3、1、6、4、8、9-24、25、27、29、31、33、35、37、39、41、43、45、47、49、51、53或55具有至少70%序列同一性、至少80%、至少90%、至少92%、至少95%、至少97%、至少98%、至少99%序列同一性,或甚至100%序列同一性,或是其功能性片段或其剪接变体。最优选与SEQ ID NO: 2、3、1、6、4、8、9-24、25、27、29、31、33、35、37、39、41、43、45、47、49、51、53或55具有至少90%同一性,至少92%、至少95%、至少97%、更优选地具有至少98%或至少99%同一性。

[0123] 优选地,待过量表达以实现对真菌性病原体例如层锈菌科真菌病性原体(例如大豆锈菌)的抗性增加的MybTF核酸优选地是编码MybTF蛋白的核酸,并且优选地如SEQ ID NO:2或者其片段、同系物、衍生物、直向同源物或旁系同源物或其剪接变体所定义。优选地,编码本发明MybTF蛋白的核酸与SEQ ID NO:2具有至少70%序列同一性,至少80%、至少90%、至少92%、至少95%、至少97%、至少98%、至少99%序列同一性,或甚至100%序列同一性,或是其功能性片段或其剪接变体。最优选与SEQ ID NO:2具有至少90%同一性、至少92%、至少95%、至少97%同一性、更优选地具有至少98%或至少99%同一性。

[0124] 更优选地,待过量表达以实现对真菌性病原体例如层锈菌科真菌病性原体(例如大豆锈菌)的抗性增加的MybTF核酸优选地是编码MybTF蛋白的核酸,并且优选地如SEQ ID NO:1或者其片段、同系物、衍生物、直向同源物或旁系同源物或其剪接变体所定义。优选地,编码本发明MybTF蛋白的核酸与SEQ ID NO:1具有至少70%序列同一性、至少80%、至少90%、至少92%、至少95%、至少97%、至少98%、至少99%序列同一性或甚至100%序列同一性,或是其功能性片段或其剪接变体。最优选与SEQ ID NO:1具有至少92%、至少95%、至少97%同一性、更优选地具有至少98%或至少99%同一性。

[0125] 优选地,待过量表达以实现对真菌性病原体例如层锈菌科真菌病性原体(例如大豆锈菌)的抗性增加的MybTF核酸优选地是编码MybTF蛋白的核酸,并且优选地如SEQ ID NO:3或者其片段、同系物、衍生物、直向同源物或旁系同源物或其剪接变体所定义。优选地,编码本发明MybTF蛋白的核酸与SEQ ID NO:3具有至少70%序列同一性、至少80%、至少90%、至少92%、至少95%、至少97%、至少98%、至少99%序列同一性或甚至100%序列同一性,或是其功能性片段或其剪接变体。最优选与SEQ ID NO:3具有至少90%同一性、至少92%、至少95%、至少97%同一性、更优选地具有至少98%或至少99%同一性。

[0126] 优选地,MybTF核酸是分离的核酸分子,所述分离的核酸分子由选自以下的核酸组成或包含所述核酸:

[0127] (i) 以增加的优选顺序与SEQ ID NO:2、3、1、6、4、8、9-24、25、27、29、31、33、35、37、39、41、43、45、47、49、51、53或55所代表的核酸序列具有至少70%、至少71%、至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%序列同一性的核酸、其功能性片段、衍生物、直向同源物或旁系同源物或其剪接变体;

[0128] (ii) 编码包含氨基酸序列的MybTF蛋白、或其功能性片段、衍生物、直向同源物或旁系同源物的核酸,所述氨基酸序列以增加的优选顺序与SEQ ID NO:7、5、26、28、30、32、34、36、38、40、42、44、46、48、50、52、54或56所代表的氨基酸序列具有至少70%、至少71%、至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%序列同一性;优选地,MybTF蛋白具有基本上与如SEQ ID NO:2、3、1、6或4编码的MybTF蛋白相同的生物活性;优选地相对对照植物,MybTF蛋白赋予增强的真菌抗性;

[0129] (iii) 核酸分子,所述核酸分子与根据(i)或(ii)的任一个核酸分子的互补序列在高严格性杂交条件下杂交;优选地编码MybTF蛋白;优选地其中所述核酸分子编码与SEQ ID NO:5或7中所述的多肽具有基本上相同特性的多肽;优选地相对于对照植物,编码的蛋白质赋予增强的真菌抗性;和

[0130] (iv) 编码与上文(i)至(iii)的MybTF核酸编码的相同的MybTF蛋白,但因遗传密码简并性而与上文(i)至(iii)的MybTF核酸不同的核酸。

[0131] 优选地,MybTF核酸是分离的核酸分子,所述分离的核酸分子由选自以下的核酸组成或包含所述核酸:

[0132] (i) 以增加的优选顺序与SEQ ID NO:1或8所代表的核酸序列具有至少70%、至少71%、至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%序列同一性的核酸、或其功能性片段、衍生物、直向同源物或旁系同源物或其剪接变体;

[0133] (ii) 编码MybTF蛋白的核酸、或其功能性片段、衍生物、直向同源物或旁系同源物,所述MybTF蛋白以增加的优选顺序与SEQ ID NO:7或5所代表的氨基酸序列具有至少70%、至少71%、至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%序列同一性;优选地,MybTF蛋白具有基本上与如SEQ ID NO:1或8编码的MybTF蛋白相同的生物活性;优选地相对对照植物,MybTF蛋白赋予增强的真菌抗性;

[0134] (iii) 核酸分子,所述核酸分子与根据(i)或(ii)的任一个核酸分子的互补序列在高严格性杂交条件下杂交;优选地编码MybTF蛋白;优选地其中所述核酸分子编码与SEQ ID NO:7或5中所述的多肽具有基本上相同特性的多肽;优选地相对于对照植物,编码的蛋白质赋予增强的真菌抗性;和

[0135] (iv) 编码与上文(i)至(iii)的MybTF核酸编码的相同的MybTF蛋白,但因遗传密码简并性而与上文(i)至(iii)的MybTF核酸不同的核酸。

[0136] 优选地,MybTF核酸是分离的核酸分子,所述分离的核酸分子包含选自以下的核酸:

[0137] (i) 以增加的优选顺序与SEQ ID NO:2或3所代表的核酸序列具有至少70%、至少71%、至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%序列同一性的核酸、或其功能性片段、衍生物、直向同源物或旁系同源物或其剪接变体;

[0138] (ii) 编码MybTF蛋白的核酸、或其功能性片段、衍生物、直向同源物或旁系同源物,所述MybTF蛋白以增加的优选顺序与SEQ ID NO:7或5所代表的氨基酸序列具有至少70%、至少71%、至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少

79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%序列同一性；优选地，MybTF蛋白具有基本上与如SEQ ID NO:2或3编码的MybTF蛋白相同的生物活性；优选地相对对照植物，MybTF蛋白赋予增强的真菌抗性；

[0139] (iii) 核酸分子，所述核酸分子与根据(i)或(ii)的任一个核酸分子的互补序列在高严格性杂交条件下杂交；优选地编码MybTF蛋白；优选地其中所述核酸分子编码与SEQ ID NO:7或5中所述的多肽具有基本上相同特性的多肽；优选地相对于对照植物，编码的蛋白质赋予增强的真菌抗性；和

[0140] (iv) 编码与上文(i)至(iii)的MybTF核酸编码的相同的MybTF蛋白，但因遗传密码简并性而与上文(i)至(iii)的MybTF核酸不同的核酸。

[0141] 优选地，MybTF核酸是分离的核酸分子，所述分离的核酸分子包含选自以下的核酸：

[0142] (i) 以增加的优选顺序与SEQ ID NO:2或6所代表的核酸序列具有至少70%、至少71%、至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%序列同一性的核酸、或其功能性片段、衍生物、直向同源物或旁系同源物或其剪接变体；

[0143] (ii) 编码MybTF蛋白的核酸、或其功能性片段、衍生物、直向同源物或旁系同源物，所述MybTF蛋白以增加的优选顺序与SEQ ID NO:7所代表的氨基酸序列具有至少70%、至少71%、至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%序列同一性；优选地，MybTF蛋白具有基本上与如SEQ ID NO:2或6编码的MybTF蛋白相同的生物活性；优选地相对对照植物，MybTF蛋白赋予增强的真菌抗性；

[0144] (iii) 核酸分子，所述核酸分子与根据(i)或(ii)的任一个核酸分子的互补序列在高严格性杂交条件下杂交；优选地编码MybTF蛋白；优选地其中所述核酸分子编码与SEQ ID NO:7中所述的多肽具有基本上相同特性的多肽；优选地相对于对照植物，编码的蛋白质赋予增强的真菌抗性；和

[0145] (iv) 编码与上文(i)至(iii)的MybTF核酸编码的相同的MybTF蛋白，但因遗传密码简并性而与上文(i)至(iii)的MybTF核酸不同的核酸。

[0146] 优选地，MybTF核酸是分离的核酸分子，所述分离的核酸分子包含选自以下的核酸：

[0147] (i) 以增加的优选顺序与SEQ ID NO:3或4所代表的核酸序列具有至少70%、至少71%、至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、

至少97%、至少98%、至少99%或100%序列同一性的核酸、或其功能性片段、衍生物、直向同源物或旁系同源物或其剪接变体;

[0148] (ii) 编码MybTF蛋白的核酸、或其功能性片段、衍生物、直向同源物或旁系同源物, 所述MybTF蛋白以增加的优选顺序与SEQ ID NO:5所代表的氨基酸序列具有至少70%、至少71%、至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%序列同一性; 优选地, MybTF蛋白具有基本上与如SEQ ID NO:3或4编码的MybTF蛋白相同的生物活性; 优选地相对对照植物, MybTF蛋白赋予增强的真菌抗性;

[0149] (iii) 核酸分子, 所述核酸分子与根据(i)或(ii)的任一个核酸分子的互补序列在高严格性杂交条件下杂交; 优选地编码MybTF蛋白; 优选地其中所述核酸分子编码与SEQ ID NO:5中所述的多肽具有基本上相同特性的多肽; 优选地相对于对照植物, 编码的蛋白质赋予增强的真菌抗性; 和

[0150] (iv) 编码与上文(i)至(iii)的MybTF核酸编码的相同的MybTF蛋白, 但因遗传密码简并性而与上文(i)至(iii)的MybTF核酸不同的核酸。

[0151] 参比本文具体公开的序列中给出的整个核苷酸区域指示核酸的同一性百分数。

[0152] 优选地, MybTF核酸的部分在长度方面是SEQ ID NO:2、3、1、6、4、8、9-24、25、27、29、31、33、35、37、39、41、43、45、47、49、51、53或55中给出的核酸序列的约500-600个、约600-700个、约800-900个、约900-1000个、约1000-1100个、约1100-1200个、约1200-1300个或约1300-1340个核苷酸, 优选地是其连续核苷酸, 优选地从核酸5'或3'末端计数。

[0153] 优选地, MybTF核酸包含SEQ ID NO:2、3、1、6、4、8、9-24、25、27、29、31、33、35、37、39、41、43、45、47、49、51、53或55中所述的核酸序列的至少约500个、至少约600个、至少约700个、至少约800个、至少约900个、至少约1100个、至少约1200个或至少约1300个核苷酸, 或直至所述核酸序列的全长, 优选地是连续核苷酸, 优选地从核酸5'或3'末端计数。

[0154] 优选地, MybTF核酸包含SEQ ID NO:2、3、1、6、4、9-24、25、27、29、31、33、35、37、39、41、43、45、47、49、51、53或55中所述的核酸序列的至少约500个、至少约550个、至少约600个、至少约650个、至少约700个、至少约750个、至少约800个、至少约850个或至少约900个核苷酸, 或直至所述核酸序列的全长, 优选地是连续核苷酸, 优选地从核酸5'或3'末端计数。

[0155] 优选地, MybTF核酸的部分在长度方面是SEQ ID NO:2、3、1、6、4、9-24、25、27、29、31、33、35、37、39、41、43、45、47、49、51、53或55中给出的核酸序列的约500-550个、约550-600个、约600-650个、约650-700个、约675-708个、约700-750个、约750-800个、约800-850个、约850-900个或约900-918个核苷酸, 优选地是其连续核苷酸, 优选地从核酸5'或3'末端计数。

[0156] 优选地, MybTF核酸包含SEQ ID NO:2或3中所述的核酸序列的至少约500个、至少约550个、至少约600个、至少约650个、至少约700个、至少约750个、至少约800个、至少约850个或至少约900个核苷酸, 或直至所述核酸序列的全长, 优选地是其连续核苷酸, 优选地从核酸5'或3'末端计数。

[0157] 优选地, MybTF核酸的部分在长度方面是SEQ ID NO:2或3中给出的核酸序列的约

500-550个、约550-600个、约600-650个、约650-700个、约675-708个、约700-750个、约750-800个、约800-850个、约850-900个或约900-918个核苷酸,优选地是其连续核苷酸,优选地从核酸5'或3'末端计数。

[0158] 优选地,MybTF核酸是MybTF核酸剪接变体。优选的剪接变体是由SEQ ID NO:1或8所代表的核酸的剪接变体。图3中显示作为SEQ ID NO:1或8的剪接变体的优选MybTF核酸。

[0159] 优选地,MybTF核酸是一种包含SEQ ID NO:1或8的剪接变体的分离核酸分子,其中剪接变体选自:

[0160] (i) 以增加的优选顺序与SEQ ID NO:4或6所代表的核酸序列具有至少70%、至少71%、至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%序列同一性的核酸、或其功能性片段、衍生物、直向同源物或旁系同源物;

[0161] (ii) 编码MybTF蛋白的核酸、或其功能性片段、衍生物、直向同源物或旁系同源物,所述MybTF蛋白以增加的优选顺序与SEQ ID NO:7或5所代表的氨基酸序列具有至少70%、至少71%、至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%序列同一性;优选地,MybTF蛋白具有基本上与如SEQ ID NO:1、6或4编码的MybTF蛋白相同的生物活性;优选地相对对照植物,MybTF蛋白赋予增强的真菌抗性;

[0162] (iii) 核酸分子,所述核酸分子与根据(i)或(ii)的任一个核酸分子的互补序列在高严格性杂交条件下杂交;优选地编码MybTF蛋白;优选地其中所述核酸分子编码与SEQ ID NO:7或5中所述的多肽具有基本上相同特性的多肽;优选地相对于对照植物,编码的蛋白质赋予增强的真菌抗性;和

[0163] (iv) 编码与上文(i)至(iii)的MybTF核酸编码的相同的MybTF蛋白,但因遗传密码简并性而与上文(i)至(iii)的MybTF核酸不同的核酸。

[0164] SEQ ID NO:1或8的优选剪接变体由SEQ ID NO:4或6中所示的任一核苷酸序列组成或包含所述核苷酸序列。最优选如SEQ ID NO:6中所示的MybTF核酸剪接变体。

[0165] 优选地,MybTF核酸是分离的核酸分子,所述分离的核酸分子包含选自以下的核酸:

[0166] (i) 以增加的顺序与SEQ ID NO:1或8所代表的核酸序列具有至少70%、至少71%、至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%序列同一性的核酸,或其剪接变体;

[0167] (ii) 核酸分子,所述核酸分子与根据(i)的任一个核酸分子的互补序列在高严格性杂交条件下杂交;优选地编码MybTF蛋白;优选地其中所述核酸分子编码与SEQ ID NO:7或5中所述的多肽具有基本上相同特性的多肽;优选地相对于对照植物,编码的蛋白质赋予

增强的真菌抗性；和

[0168] (iii) 编码与上文(i)至(ii)的MybTF核酸编码的相同的MybTF蛋白，但因遗传密码简并性而与上文(i)至(ii)的MybTF核酸不同的核酸；

[0169] 其中其剪接变体选自：

[0170] (i) 以增加的优选顺序与SEQ ID NO:4或6所代表的核酸序列具有至少70%、至少71%、至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%序列同一性的核酸、其功能性片段、衍生物、直向同源物或旁系同源物；

[0171] (ii) 编码MybTF蛋白的核酸、或其功能性片段、衍生物、直向同源物或旁系同源物，所述MybTF蛋白以增加的优选顺序与SEQ ID NO:7或5所代表的氨基酸序列具有至少70%、至少71%、至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%序列同一性；优选地，MybTF蛋白具有基本上与如SEQ ID NO:1、6或4编码的MybTF蛋白相同的生物活性；优选地相对对照植物，MybTF蛋白赋予增强的真菌抗性；

[0172] (iii) 核酸分子，所述核酸分子与根据(i)或(ii)的任一个核酸分子的互补序列在高严格性杂交条件下杂交；优选地编码MybTF蛋白；优选地其中所述核酸分子编码与SEQ ID NO:7或5中所述的多肽具有基本上相同特性的多肽；优选地相对于对照植物，编码的蛋白质赋予增强的真菌抗性；和

[0173] (iv) 编码与上文(i)至(iii)的MybTF核酸编码的相同的MybTF蛋白，但因遗传密码简并性而与上文(i)至(iii)的MybTF核酸不同的核酸。

[0174] 更优选地，MybTF核酸是分离的核酸分子，所述分离的核酸分子包含选自以下的核酸：

[0175] 以增加的优选顺序与SEQ ID NO:1或8所代表的核酸序列具有至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%序列同一性的核酸，或其剪接变体；

[0176] 其中其剪接变体选自：

[0177] 以增加的优选顺序与SEQ ID NO:4或6、优选地与SEQ ID NO:4所代表的核酸序列具有至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%序列同一性的核酸；

[0178] 本文中提及的全部核酸序列(单链和双链DNA和RNA序列，例如cDNA和mRNA)可以按已知方式通过化学合成从核苷酸结构单元产生，例如通过各个重叠的互补性双螺旋核酸结构单元的片段缩合来产生。寡核苷酸的化学合成可以例如以已知方式通过亚磷酸酰胺(phosphoramidite)方法(Voet, Voet, 第2版, Wiley Press, New York, 第896-897页)进行。合

成性寡核苷酸的积聚和借助DNA聚合酶Klenow片段填补缺口和连接反应以及一般克隆技术在Sambrook等人(1989)中描述,见下文。

[0179] 本文所述的MybTF核酸可用于本发明的构建体、方法、植物、可收获部分和产物中。

[0180] MybTF蛋白

[0181] MybTF蛋白优选地是R2R3-MYB家族的,优选地由SEQ ID NO:7、5、26、28、30、32、34、36、38、40、42、44、46、48、50、52、54或56或其片段、同源物、衍生物、直向同源物或旁系同源物定义。优选地,本发明的MybTF蛋白由下述核酸或其功能性片段编码,所述核酸与SEQ ID NO:2、3、1、6、4、8、9-24、25、27、29、31、33、35、37、39、41、43、45、47、49、51、53或55具有至少70%序列同一性,至少80%、至少90%、至少92%、至少95%、至少97%、至少98%、至少99%序列同一性或甚至100%序列同一性。更优选地,本发明的MybTF蛋白与SEQ ID NO:7、5、26、28、30、32、34、36、38、40、42、44、46、48、50、52、54或56具有至少70%序列同一性、至少80%、至少90%、至少92%、至少95%、至少97%、至少98%、至少99%序列同一性或甚至100%序列同一性,或是其功能性片段、其直向同源物或旁系同源物。最优选与SEQ ID NO:7、5、26、28、30、32、34、36、38、40、42、44、46、48、50、52、54或56具有至少90%同一性,至少92%、至少95%、至少97%同一性、更优选地具有至少98%或至少99%同一性。

[0182] 更优选地,本发明的MybTF蛋白与SEQ ID NO:7具有至少70%序列同一性、至少80%、至少90%、至少92%、至少95%、至少97%、至少98%、至少99%序列同一性或甚至100%序列同一性,或是其功能性片段、其直向同源物或旁系同源物。

[0183] 更优选地,本发明的MybTF蛋白与SEQ ID NO:5具有至少70%序列同一性、至少80%、至少90%、至少92%、至少95%、至少97%、至少98%、至少99%序列同一性或甚至100%序列同一性,或是其功能性片段、其直向同源物或旁系同源物。

[0184] MybTF蛋白优选地由SEQ ID NO:7、5、26、28、30、32、34、36、38、40、42、44、46、48、50、52、54或56或其片段、同源物、衍生物、直向同源物或旁系同源物定义。优选地,本发明的MybTF蛋白由下述核酸或其功能性片段编码,所述核酸与SEQ ID NO:2、3、1、6、4、8、9-24、25、27、29、31、33、35、37、39、41、43、45、47、49、51、53或55具有至少70%序列同一性,至少80%、至少90%、至少92%、至少95%、至少97%、至少98%、至少99%序列同一性或甚至100%序列同一性。更优选地,本发明的MybTF蛋白与SEQ ID NO:7、5、26、28、30、32、34、36、38、40、42、44、46、48、50、52、54或56具有至少70%序列同一性、至少80%、至少90%、至少92%、至少95%、至少97%、至少98%、至少99%序列同一性或甚至100%序列同一性,或是其功能性片段、其直向同源物或旁系同源物。最优选与SEQ ID NO:7、5、26、28、30、32、34、36、38、40、42、44、46、48、50、52、54或56具有至少92%、至少95%、至少97%同一性、更优选地具有至少98%或至少99%同一性。

[0185] 优选地,MybTF蛋白是由选自以下的氨基酸序列组成或包含所述氨基酸序列的蛋白质:

[0186] (ii) 氨基酸序列、或其功能性片段、衍生物、直向同源物或旁系同源物,所述氨基酸序列以增加的优选顺序与SEQ ID NO:7、5、26、28、30、32、34、36、38、40、42、44、46、48、50、52、54或56所代表的氨基酸序列具有至少70%、至少71%、至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、

至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%序列同一性;优选地,MybTF蛋白具有基本上与如SEQ ID NO:2、3、1、6或4编码的MybTF蛋白相同的生物活性;优选地相对对照植物,MybTF蛋白赋予增强的真菌抗性;或

[0187] (ii) 由下述核酸或其功能性片段、衍生物、直向同源物或旁系同源物或其剪接变体编码的氨基酸序列,所述核酸以增加的优选顺序与SEQ ID NO:2、3、1、6、4、8、9-24、25、27、29、31、33、35、37、39、41、43、45、47、49、51、53或55所代表的核酸序列具有至少70%、至少71%、至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%序列同一性;优选地相对对照植物,MybTF蛋白赋予增强的真菌抗性。

[0188] 优选地,MybTF蛋白是包含选自以下氨基酸序列的蛋白质:

[0189] (ii) 氨基酸序列、或其功能性片段、衍生物、直向同源物或旁系同源物,所述氨基酸序列以增加的优选顺序与SEQ ID NO:7所代表的氨基酸序列具有至少70%、至少71%、至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%序列同一性;优选地,MybTF蛋白具有基本上与如SEQ ID NO:2、6或1编码的MybTF蛋白相同的生物活性;优选地相对对照植物,MybTF蛋白赋予增强的真菌抗性;或

[0190] (ii) 由下述核酸或其功能性片段、衍生物、直向同源物或旁系同源物或其剪接变体编码的氨基酸序列,所述核酸以增加的优选顺序与SEQ ID NO:2、6、9-16或1所代表的核酸序列具有至少70%、至少71%、至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%序列同一性;优选地相对对照植物,MybTF蛋白赋予增强的真菌抗性。

[0191] 优选地,MybTF蛋白是包含选自以下氨基酸序列的蛋白质:

[0192] (ii) 氨基酸序列或其功能性片段、衍生物、直向同源物或旁系同源物,所述氨基酸序列以增加的优选顺序与SEQ ID NO:5所代表的氨基酸序列具有至少70%、至少71%、至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%序列同一性;优选地,MybTF蛋白具有基本上与如SEQ ID NO:3、4或1编码的MybTF蛋白相同的生物活性;优选地相对对照植物,MybTF蛋白赋予增强的真菌抗性;或

[0193] (ii) 由下述核酸、或其功能性片段、衍生物、直向同源物或旁系同源物或其剪接变体编码的氨基酸序列,所述核酸以增加的优选顺序与SEQ ID NO:3、4、17-24或1所代表的核酸序列具有至少70%、至少71%、至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少

77%、至少78%、至少79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%序列同一性；优选地相对对照植物，MybTF蛋白赋予增强的真菌抗性。

[0194] MybTF蛋白的优选衍生物是由选自以下的氨基酸序列组成或包含所述氨基酸序列的MybTF蛋白：

[0195] 以增加的优选顺序与SEQ ID NO:7、5、26、28、30、32、34、36、38、40、42、44、46、48、50、52、54或56代表的氨基酸序列具有至少70%、至少71%、至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、或至少99%序列同一性的氨基酸序列，其中不相同的氨基酸残基是SEQ ID NO:7、5、26、28、30、32、34、36、38、40、42、44、46、48、50、52、54或56的相应氨基酸残基的保守性氨基酸置换，优选地如表1中所示；优选地，MybTF蛋白具有基本上与SEQ ID NO:7或5相同的生物活性，或与SEQ ID NO:2、3、1、6或4编码的MybTF蛋白具有相同的生物活性，优选地相对对照植物，MybTF蛋白赋予增强的真菌抗性。

[0196] 优选地，MybTF蛋白由SEQ ID NO:7、5、26、28、30、32、34、36、38、40、42、44、46、48、50、52、54或56代表的氨基酸序列组成或包含所述氨基酸序列，具有SEQ ID NO:7、5、26、28、30、32、34、36、38、40、42、44、46、48、50、52、54或56的相应氨基酸残基的一个或多个保守性氨基酸置换，优选地如表1中所示。优选地，SEQ ID NO:7、5、26、28、30、32、34、36、38、40、42、44、46、48、50、52、54或56的1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、105、110、115、120、1-10、10-20、20-30、40-50、50-60、60-70、70-80、80-90、90-100、100-110、110-120、120-130、130-140、140-150、150-160、60-170、170-180、180-190、190-200、200-210或210-220个氨基酸残基是SEQ ID NO:7、5、26、28、30、32、34、36、38、40、42、44、46、48、50、52、54或56的相应氨基酸残基的保守性氨基酸置换，优选地如表1中所示。

[0197] 更优选地，MybTF蛋白由下述氨基酸序列组成或包含该氨基酸序列，所述氨基酸序列与如SEQ ID NO:7、5、26、28、30、32、34、36、38、40、42、44、46、48、50、52、54或56所代表的氨基酸序列具有至少70%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性，其中至少1个、至少2个、至少3个、至少4个、至少5个、至少6个、至少7个、至少8个、至少9个、至少10个、至少11个、至少12个、至少13个、至少14个、至少15个、至少16个、至少17个、至少18个、至少19个、至少20个、至少21个、至少22个、至少23个、至少24个、至少25个、至少26个、至少27个、至少28个、至少29个、至少30个、至少35个、至少40个、至少45个、至少50个、至少55个、至少60个、至少65个、至少70个、至少75个、至少80个、至少85个、至少90个、至少95个、至少100个、至少105个、至少110个、至少115个或至少120个不相同氨基酸残基或其中1-10个、10-20个、20-30个、40-50个、50-60个、60-70个、70-80个、80-90个、90-100个、100-110个、110-120个、120-130个、130-140个、140-150个、150-160个、60-170个、170-180个、180-190个、190-200个、200-210个或210-220个或甚至全部的不相同氨基酸残基是SEQ ID NO:7、5、26、28、30、32、34、36、38、40、42、44、46、48、50、52、54或56的相应氨基酸残

基的保守性氨基酸置换,优选地如表1中所示。

[0198] 参比本文具体公开的完整氨基酸序列指示多肽或蛋白质的同一性百分数。

[0199] 优选地,MybTF蛋白包含SEQ ID NO:5、42、44、46、48、50、52、54或56中所述的氨基酸序列的至少约100个、至少约150个、至少约200个、至少约225个、至少约250个、至少约275个或至少约300个氨基酸残基,或直至所述氨基酸序列的全长,优选地是其连续氨基酸残基,优选地从氨基酸序列N末端或C末端计数。

[0200] 优选地,MybTF多肽包含由SEQ ID NO:5、42、44、46、48、50、52、54或56中所述的核酸序列编码的任一氨基酸序列的约100-150个、约150-200个、约200-225个、约225-250个、约250-275个、约275-300个或约300-305个氨基酸残基,或直至所述氨基酸序列的全长,优选地是其连续氨基酸残基,优选地从氨基酸序列N末端或C末端计数。

[0201] 优选地,MybTF蛋白包含SEQ ID NO:7、26、28、30、32、34、36、38或40中所述的氨基酸序列的至少约100个、至少约125个、至少约150个、至少约175个、至少约200个或至少约225个氨基酸残基,优选地是其连续氨基酸残基,或直至所述氨基酸序列的全长,优选地从氨基酸序列N末端或C末端计数。

[0202] 优选地,MybTF多肽包含由SEQ ID NO:7、26、28、30、32、34、36、38或40中所述的核酸序列编码的任一氨基酸序列的约100-125个、约125-150个、约150-175个、约175-200个、约200-225个或约225-233个氨基酸残基,或直至所述氨基酸序列的全长,优选地是其连续氨基酸残基,优选地从氨基酸序列N末端或C末端计数。

[0203] 本文所述的MybTF蛋白可用于本发明的构建体、方法、植物、可收获部分和产物中。

[0204] 用于增加真菌抗性的方法;用于调节基因表达的方法

[0205] 本发明的一个实施方案是一种与野生型植物、野生型植物部分或野生型植物细胞相比,通过增加MybTF蛋白或其功能性片段、直向同源物、旁系同源物或同源物的表达增加植物、植物部分或植物细胞中真菌抗性、优选地层锈菌科真菌(例如大豆锈菌)抗性的方法。

[0206] 本发明还提供一种增加植物或植物细胞中针对真菌性病原体、尤其半坏死营养型病原体、尤其针对锈菌病原体(即,柄锈菌目真菌性病原体)、优选地层锈菌科真菌性病原体、优选地层锈菌属真菌性病原体,最优选地针对豆薯层锈菌和山马蝗层锈菌(也称作大豆锈菌)的抗性的方法,其中与野生型植物、野生型植物部分或野生型植物细胞相比,MybTF蛋白过量表达。

[0207] 本发明还提供一种通过过量表达MybTF蛋白增加植物或植物细胞中针对层锈菌属真菌性病原体、最优选地针对豆薯层锈菌和山马蝗层锈菌(也称作大豆锈菌)的抗性的方法。

[0208] 在优选的实施方案中,与未用MybTF核酸转化的野生型植物相比,MybTF蛋白在植物中的蛋白质数量和/或功能增加至少10%、至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%或至少95%或更多。

[0209] 在本发明的一个实施方案中,MybTF蛋白由核酸编码,所述核酸包含:

[0210] (i) 与SEQ ID NO:2、3、1、6、4、8、9-24、25、27、29、31、33、35、37、39、41、43、45、47、49、51、53或55具有至少70%、例如至少75%、更优选地至少80%、例如至少85%、甚至更优选地至少90%、例如至少95%或至少96%或至少97%或至少98%、最优选地99%同一性的外源核酸、其功能性片段或其直向同源物或旁系同源物或其剪接变体;或由以下核酸编码

[0211] (ii) 编码蛋白质、其功能性片段、其直向同源物或旁系同源物的外源核酸,所述蛋白质包含与SEQ ID NO:7、5、26、28、30、32、34、36、38、40、42、44、46、48、50、52、54或56具有至少70%、例如至少75%、更优选地至少80%、例如至少85%、甚至更优选地至少90%、例如至少95%或至少96%或至少97%或至少98%、最优选地99%同源性的氨基酸序列,优选地相对于对照植物,编码的蛋白质赋予增强的真菌抗性;

[0212] (iii) 外源核酸,其能够与根据(i)或(ii)的任一个核酸的互补序列在严格条件下杂交;优选地编码MybTF蛋白;优选地其中所述核酸分子编码与SEQ ID NO:7或5中所述的多肽具有基本上相同特性的多肽;优选地相对于对照植物,编码的蛋白质赋予增强的真菌抗性;或由以下核酸编码

[0213] (iv) 编码与上文(i)至(iii)的核酸编码的相同的MybTF蛋白,但因遗传密码简并性而与上文(i)至(iii)的核酸不同的外源核酸。

[0214] 一种通过增加MybTF蛋白或其功能性片段、直向同源物、旁系同源物或同源物或其剪接变体的表达,增加植物、植物部分或植物细胞中真菌抗性、优选地层锈菌科真菌(例如大豆锈菌)抗性的方法,其中MybTF蛋白由下述核酸编码,所述核酸包含:

[0215] (i) 与SEQ ID NO:2、3、1、6、4、8、9-24、25、27、29、31、33、35、37、39、41、43、45、47、49、51、53或55具有至少70%序列同一性、至少80%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%同一性或甚至100%序列同一性的外源核酸,或其功能性片段、其直向同源物或旁系同源物、或其剪接变体;

[0216] (ii) 编码蛋白质、其功能性片段、其直向同源物或旁系同源物的外源核酸,所述蛋白质包含与SEQ ID NO:7、5、26、28、30、32、34、36、38、40、42、44、46、48、50、52、54或56具有至少70%序列同一性、至少80%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%序列同一性或甚至100%序列同一性的氨基酸序列;优选地相对于对照植物,编码的蛋白质赋予增强的真菌抗性;

[0217] (iii) 外源核酸,其能够与根据(i)或(ii)的任一个核酸的互补序列在严格条件下杂交;优选地编码MybTF蛋白;优选地其中所述核酸分子编码与SEQ ID NO:7或5中所述的多肽具有基本上相同特性的多肽;优选地相对于对照植物,编码的蛋白质赋予增强的真菌抗性;和/或由以下核酸编码

[0218] (iv) 编码与上文(i)至(iii)的核酸编码的相同的MybTF蛋白,但因遗传密码简并性而与上文(i)至(iii)的核酸不同的外源核酸;

[0219] 是本发明的其他实施方案。

[0220] 一种通过增加MybTF蛋白或其功能性片段、直向同源物、旁系同源物或同源物或其剪接变体的表达,增加植物、植物部分或植物细胞中真菌抗性、优选地层锈菌科真菌(例如大豆锈菌)抗性的方法,其中MybTF蛋白由下述核酸编码:

[0221] (i) 与SEQ ID NO:1具有至少70%序列同一性、至少80%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%同一性或甚至100%序列同一性的外源核酸,或其功能性片段、其直向同源物或旁系同源物、或其剪接变体;

[0222] (ii) 编码蛋白质、其功能性片段、其直向同源物或旁系同源物的外源核酸,所述蛋白质与SEQ ID NO:7或5具有至少70%序列同一性、至少80%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%序列同一性或甚至100%序列同一性;优选地相对于对照植物,编码的蛋白

质赋予增强的真菌抗性；

[0223] (iii) 外源核酸，其能够与根据 (i) 或 (ii) 的任一个核酸的互补序列在严格条件下杂交；优选地编码MybTF蛋白；优选地其中所述核酸分子编码与SEQ ID NO:7或5中所述的多肽具有基本上相同特性的多肽；优选地相对于对照植物，编码的蛋白质赋予增强的真菌抗性；和/或由以下核酸编码

[0224] (iv) 编码与上文 (i) 至 (iii) 的核酸编码的相同的MybTF蛋白，但因遗传密码简并性而与上文 (i) 至 (iii) 的核酸不同的外源核酸；

[0225] 是本发明的其他实施方案。

[0226] 一种通过增加MybTF蛋白或其功能性片段、直向同源物、旁系同源物或同源物或其剪接变体的表达，增加植物、植物部分或植物细胞中真菌抗性、优选地层锈菌科真菌（例如大豆锈菌）抗性的方法，其中MybTF蛋白由下述核酸编码：

[0227] (i) 与SEQ ID NO:2或6具有至少70%序列同一性、至少80%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%同一性或甚至100%序列同一性的外源核酸、或其功能性片段、其直向同源物或旁系同源物、或其剪接变体；

[0228] (ii) 编码蛋白质、其功能性片段、其直向同源物或旁系同源物的外源核酸，所述蛋白质与SEQ ID NO:7具有至少70%序列同一性、至少80%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%序列同一性或甚至100%序列同一性；优选地相对于对照植物，编码的蛋白质赋予增强的真菌抗性；

[0229] (iii) 外源核酸，其能够与根据 (i) 或 (ii) 的任一个核酸的互补序列在严格条件下杂交；优选地编码MybTF蛋白；优选地其中所述核酸分子编码与SEQ ID NO:7中所述的多肽具有基本上相同特性的多肽；优选地相对于对照植物，编码的蛋白质赋予增强的真菌抗性；和/或由以下核酸编码

[0230] (iv) 编码与上文 (i) 至 (iii) 的核酸编码的相同的MybTF蛋白，但因遗传密码简并性而与上文 (i) 至 (iii) 的核酸不同的外源核酸；

[0231] 是本发明的其他实施方案。

[0232] 一种通过增加MybTF蛋白或其功能性片段、直向同源物、旁系同源物或同源物或其剪接变体的表达，增加植物、植物部分或植物细胞中真菌抗性、优选地层锈菌科真菌（例如大豆锈菌）抗性的方法，其中MybTF蛋白由下述核酸编码：

[0233] (i) 与SEQ ID NO:3或4具有至少70%序列同一性、至少80%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%同一性或甚至100%序列同一性的外源核酸，或其功能性片段、其直向同源物或旁系同源物、或其剪接变体；

[0234] (ii) 编码蛋白质、其功能性片段、其直向同源物或旁系同源物的外源核酸，所述蛋白质与SEQ ID NO:5具有至少70%序列同一性、至少80%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%序列同一性或甚至100%序列同一性；优选地相对于对照植物，编码的蛋白质赋予增强的真菌抗性；

[0235] (iii) 外源核酸，其能够与根据 (i) 或 (ii) 的任一个核酸的互补序列在严格条件下杂交；优选地编码MybTF蛋白；优选地其中所述核酸分子编码与SEQ ID NO:5中所述的多肽具有基本上相同特性的多肽；优选地相对于对照植物，编码的蛋白质赋予增强的真菌抗性；和/或由以下核酸编码

[0236] (iv) 编码与上文(i)至(iii)的核酸编码的相同的MybTF蛋白,但因遗传密码简并性而与上文(i)至(iii)的核酸不同的外源核酸;

[0237] 是本发明的其他实施方案。

[0238] 在本发明的又一个方法中,该方法包括步骤

[0239] (a) 用重组表达盒稳定转化植物细胞,所述重组表达盒包含与启动子处于功能性连接的

[0240] (i) 与SEQ ID NO:2、3、1、6、4、8、9-24、25、27、29、31、33、35、37、39、41、43、45、47、49、51、53或55具有至少70%序列同一性、至少80%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%同一性或甚至100%序列同一性的核酸,或其功能性片段、或其直向同源物或旁系同源物、或其剪接变体;

[0241] (ii) 编码蛋白质、其功能性片段、其直向同源物或旁系同源物的核酸,所述蛋白质包含与SEQ ID NO:7、5、26、28、30、32、34、36、38、40、42、44、46、48、50、52、54或56具有至少70%序列同一性、至少80%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%序列同一性或甚至100%序列同一性的氨基酸序列;优选地相对于对照植物,编码的蛋白质赋予增强的真菌抗性;

[0242] (iii) 核酸,其能够与根据(i)或(ii)的任一个核酸的互补序列在严格条件下杂交;优选地编码MybTF蛋白;优选地其中所述核酸分子编码与SEQ ID NO:7或5中所述的多肽具有基本上相同特性的多肽;优选地相对于对照植物,编码的蛋白质赋予增强的真菌抗性;和/或

[0243] (iv) 编码与上文(i)至(iii)的核酸编码的相同的MybTF多肽,但因遗传密码简并性而与上文(i)至(iii)的核酸不同的核酸;

[0244] (b) 从植物细胞再生出植物;并且

[0245] (c) 表达所述核酸,任选地其中编码MybTF蛋白的核酸按足以在所述植物中产生大豆锈菌抗性或足以在其中增加大豆锈菌抗性的量和时间表达。

[0246] 优选地,该方法包括步骤

[0247] (a) 用重组表达盒稳定转化的植物细胞,所述重组表达盒包含与启动子处于功能性连接的

[0248] (i) 与SEQ ID NO:1具有至少70%序列同一性、至少80%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%同一性或甚至100%序列同一性的核酸、或其功能性片段、或其直向同源物或旁系同源物、或其剪接变体;

[0249] (ii) 编码蛋白质、其功能性片段、其直向同源物或旁系同源物的核酸,所述蛋白质与SEQ ID NO:7或5具有至少70%序列同一性、至少80%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%序列同一性或甚至100%序列同一性;优选地相对于对照植物,编码的蛋白质赋予增强的真菌抗性;

[0250] (iii) 核酸,其能够与根据(i)或(ii)的任一个核酸的互补序列在严格条件下杂交;优选地编码MybTF蛋白;优选地其中所述核酸分子编码与SEQ ID NO:7或5中所述的多肽具有基本上相同特性的多肽;优选地相对于对照植物,编码的蛋白质赋予增强的真菌抗性;和/或

[0251] (iv) 编码与上文(i)至(iii)的核酸编码的相同的MybTF多肽,但因遗传密码简并

性而与上文(i)至(iii)的核酸不同的核酸;

[0252] (b) 从植物细胞再生出植物;并且

[0253] (c) 表达所述核酸,任选地其中编码MybTF蛋白的核酸按足以在所述植物中产生大豆锈菌抗性或足以在其中增加大豆锈菌抗性的量和时间表达。

[0254] 优选地,该方法包括步骤

[0255] (a) 用重组表达盒稳定转化植物细胞,所述重组表达盒包含与启动子处于功能性连接的

[0256] (i) 与SEQ ID NO:2或6具有至少70%序列同一性、至少80%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%同一性或甚至100%序列同一性的核酸、或其功能性片段、或其直向同源物或旁系同源物、或其剪接变体;

[0257] (ii) 编码蛋白质、其功能性片段、其直向同源物或旁系同源物的核酸,所述蛋白质与SEQ ID NO:7具有至少70%序列同一性、至少80%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%序列同一性或甚至100%序列同一性;优选地相对于对照植物,编码的蛋白质赋予增强的真菌抗性;

[0258] (iii) 核酸,其能够与根据(i)或(ii)的任一个核酸的互补序列在严格条件下杂交;优选地编码MybTF蛋白;优选地其中所述核酸分子编码与SEQ ID NO:7中所述的多肽具有基本上相同特性的多肽;优选地相对于对照植物,编码的蛋白质赋予增强的真菌抗性;和/或

[0259] (iv) 编码与上文(i)至(iii)的核酸编码的相同的MybTF多肽,但因遗传密码简并性而与上文(i)至(iii)的核酸不同的核酸;

[0260] (b) 从植物细胞再生出植物;并且

[0261] (c) 表达所述核酸,任选地其中编码MybTF蛋白的核酸按足以在所述植物中产生大豆锈菌抗性或足以在其中增加大豆锈菌抗性的量和时间表达。

[0262] 优选地,该方法包括步骤

[0263] (a) 用重组表达盒稳定转化植物细胞,所述重组表达盒包含与启动子处于功能性连接的

[0264] (i) 与SEQ ID NO:3或4具有至少70%序列同一性、至少80%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%同一性或甚至100%序列同一性的核酸,或其功能性片段、或其直向同源物或旁系同源物、或其剪接变体;

[0265] (ii) 编码蛋白质、其功能性片段、其直向同源物或旁系同源物的核酸,所述蛋白质与SEQ ID NO:5具有至少70%序列同一性、至少80%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%序列同一性或甚至100%序列同一性;优选地相对于对照植物,编码的蛋白质赋予增强的真菌抗性;

[0266] (iii) 核酸,其能够与根据(i)或(ii)的任一个核酸的互补序列在严格条件下杂交;优选地编码MybTF蛋白;优选地其中所述核酸分子编码与SEQ ID NO:5中所述的多肽具有基本上相同特性的多肽;优选地相对于对照植物,编码的蛋白质赋予增强的真菌抗性;和/或

[0267] (iv) 编码与上文(i)至(iii)的核酸编码的相同的MybTF多肽,但因遗传密码简并性而与上文(i)至(iii)的核酸不同的核酸;

[0268] (b) 从植物细胞再生出植物;并且

[0269] (c) 表达所述核酸,任选地其中编码MybTF蛋白的核酸按足以在所述植物中产生大豆锈菌抗性或足以在其中增加大豆锈菌抗性的量和时间表达。

[0270] 优选地,启动子是锈菌诱导型和/或叶肉特异性启动子,优选地,锈菌诱导型叶肉特异性启动子820。

[0271] 优选地,用于增加植物、植物部分或植物细胞中真菌抗性、优选地针对层锈菌科真菌(例如大豆锈菌)的抗性的方法,所述方法还包括步骤:选择表达以下核酸的转基因植物

[0272] (i) 与SEQ ID NO:2、3、1、6、4、8、9-24、25、27、29、31、33、35、37、39、41、43、45、47、49、51、53或55具有至少70%序列同一性、至少80%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%同一性或甚至100%序列同一性的外源核酸,或其功能性片段、或其直向同源物或旁系同源物、或其剪接变体;

[0273] (ii) 编码蛋白质、其功能性片段、其直向同源物或旁系同源物的外源核酸,所述蛋白质与SEQ ID NO:7、5、26、28、30、32、34、36、38、40、42、44、46、48、50、52、54或56具有至少70%序列同一性、至少80%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%序列同一性或甚至100%序列同一性;优选地相对于对照植物,编码的蛋白质赋予增强的真菌抗性;

[0274] (iii) 外源核酸,其能够与根据(i)或(ii)的任一个核酸的互补序列在严格条件下杂交;优选地编码MybTF蛋白;优选地其中所述核酸分子编码与SEQ ID NO:7或5中所述的多肽具有基本上相同特性的多肽;优选地相对于对照植物,编码的蛋白质赋予增强的真菌抗性;和/或

[0275] (iv) 编码与上文(i)至(iii)的核酸编码的相同的MybTF多肽,但因遗传密码简并性而与上文(i)至(iii)的核酸不同的外源核酸。

[0276] 一个优选的实施方案是一种通过增加MybTF蛋白表达,增加大豆植物、大豆植物部分或大豆植物细胞针对大豆锈菌的抗性的方法,其中MybTF蛋白由下述核酸编码,所述核酸包含:

[0277] (i) 与SEQ ID NO:2、3、1、6、4、8、9-24、25、27、29、31、33、35、37、39、41、43、45、47、49、51、53或55具有至少80%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%序列同一性或甚至100%序列同一性的外源核酸;

[0278] (ii) 编码蛋白质的外源核酸,所述蛋白质包含与SEQ ID NO:7、5、26、28、30、32、34、36、38、40、42、44、46、48、50、52、54或56具有80%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%序列同一性或甚至100%序列同一性的氨基酸序列;优选地相对于对照植物,编码的蛋白质赋予增强的真菌抗性;

[0279] (iii) 外源核酸,其能够与根据(i)或(ii)的任一个核酸的互补序列在严格条件下杂交;优选地编码MybTF蛋白;优选地其中所述核酸分子编码与SEQ ID NO:7或5中所述的多肽具有基本上相同特性的多肽;优选地相对于对照植物,编码的蛋白质赋予增强的真菌抗性;和/或由以下核酸编码

[0280] (iv) 编码与上文(i)至(iii)的核酸编码的相同的MybTF蛋白,但因遗传密码简并性而与上文(i)至(iii)的核酸不同的外源核酸,

[0281] 其中通过用核酸转化大豆植物、植物部分或植物细胞实现增加MybTF蛋白的表达,所述核酸包含项(i)或(ii)或项(iii)或(iv)下所述的核酸。

[0282] 一个优选的实施方案还是一种通过增加MybTF蛋白表达,增加大豆植物、大豆植物部分或大豆植物细胞针对大豆锈菌的抗性的方法,其中MybTF蛋白由下述核酸编码,所述核酸包含:

[0283] (i) 与SEQ ID NO:2、3、1、6、4、8、9-24、25、27、29、31、33、35、37、39、41、43、45、47、49、51、53或55具有至少80%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%序列同一性或甚至100%序列同一性的外源核酸;

[0284] (ii) 编码蛋白质的外源核酸,所述蛋白质包含与SEQ ID NO:7、5、26、28、30、32、34、36、38、40、42、44、46、48、50、52、54或56具有80%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%序列同一性或甚至100%序列同一性的氨基酸序列;优选地相对于对照植物,编码的蛋白质赋予增强的真菌抗性;或

[0285] (iii) 编码与上文(i)至(ii)的核酸编码的相同的MybTF蛋白,但因遗传密码简并性而与上文(i)至(ii)的核酸不同的外源核酸,

[0286] 其中通过用核酸转化大豆植物、植物部分或植物细胞实现增加的MybTF蛋白表达,所述核酸包含项(i)或(ii)或(iii)下所述的核酸。

[0287] 真菌性病原体或真菌样病原体(如,例如,色藻界(Chromista))可以属于包括Plasmodiophoromycota、卵菌门(Oomycota)、子囊菌门(Ascomycota)、壶菌纲(Chytridiomycetes)、接合菌纲(Zygomycetes)、担子菌门(Basidiomycota)或半知菌纲(Deuteromycetes)(半知菌类)的群组。可以通过举例方式提到,但不受限制的病原体是表2和表3中详述的那些,以及与它们相关的疾病。

[0288] 表2:活体营养型和/或半坏死营养型植物病原真菌引起的疾病

[0289]

疾病	病原体
叶锈病	隐匿柄锈菌(<i>Puccinia recondita</i>)
黄锈病	条形柄锈菌(<i>P. striiformis</i>)
白粉病	禾白粉菌(<i>Erysiphe graminis</i>)/ 禾本科布氏白粉菌(<i>Blumeria graminis</i>)
锈病(普通玉米锈病)	高粱柄锈菌(<i>Puccinia sorghi</i>)
锈病(南方玉米锈病)	多堆柄锈菌(<i>Puccinia polysora</i>)
烟草叶斑病	烟草尾孢菌(<i>Cercospora nicotianae</i>)
锈病(大豆)	豆薯层锈菌、山马蝗层锈菌(<i>P. meibomia</i>)
锈病(热带玉米锈病)	<i>Physopella pallescens</i> 、玉米壳锈菌 = <i>Angiopsora zeae</i>

[0290] 表3:由坏死营养型和/或半活体营养型真菌和卵菌纲真菌引起的疾病

[0291]

疾病	病原体
羽斑病(Plume blotch)	壳针孢属 (Septoria)(颖枯壳多胞菌 (Stagonospora nodorum))
叶斑病	小麦壳针孢(Septoria tritici)
Ear fusarioses	镰孢霉属物种(Fusarium spp.)
晚疫病	致病疫霉(Phytophthora infestans)

疾病	病原体
炭疽叶枯病 (Anthrocnose leaf blight) 炭疽茎腐病 (Anthracnose stalk rot)	禾生炭疽菌 (Colletotrichum graminicola)(有性型：禾生小丛壳 (Glomerella graminicola)Politis) ； Glomerella tucumanensis (无性型：Glomerella falcatum Went)
弯孢菌叶斑病	棒状弯孢菌(Curvularia clavata)、画眉草弯孢菌(C. eragrostidis)、= 斑点弯孢菌(C. maculans)(有性型：画眉草旋孢腔菌 (Cochliobolus eragrostidis))、不等弯孢菌 (Curvularia inaequalis)、间型弯孢菌(C. intermedia)(有性型：间型旋孢腔菌 (Cochliobolus intermedius))、新月弯孢菌 (Curvularia lunata)(有性型：新月旋孢腔菌 (Cochliobolus lunatus))、苍白弯孢菌 (Curvularia pallescens)(有性型：苍白旋孢腔菌 (Cochliobolus pallescens))、塞内加尔弯孢菌(Curvularia senegalensis)、具瘤弯孢菌(C. tuberculata)(有性型：具瘤旋孢腔菌 (Cochliobolus tuberculatus))
亚隔孢壳(Didymella)叶斑病	Didymella exitalis
壳色单隔孢(Diplodia)叶斑病 或条斑病	大孢狭壳柱孢(Stenocarpella macrospora) = 大孢壳色单隔孢 (Diplodia leaf macrospora)
褐条霜霉病	Sclerophthora rayssiae var. zeae
疯顶霜霉病 (Crazy top	大孢指疫霉(Sclerophthora macrospora)=

[0292]

疾病	病原体
downy mildew)	大孢指梗霜霉(<i>Sclerospora macrospora</i>)
绿穗霜霉病 (Green ear downy mildew)(禾生霜霉病 (graminicola downy mildew))	禾生指梗霜霉(<i>Sclerospora graminicola</i>)
小斑病(Leaf spots, minor)	链格孢(<i>Alternaria alternata</i>)、 玉米壳二孢(<i>Ascochyta maydis</i>)、小麦壳二孢(<i>A. tritici</i>)、 玉蜀黍生壳二孢(<i>A. zeicola</i>)、 <i>Bipolaris victoriae</i> = <i>Helminthosporium victoriae</i> (有性型: <i>Cochliobolus victoriae</i>)、 <i>C. sativus</i> (无性型: 禾草离蠕孢(<i>Bipolaris sorokiniana</i>) = <i>H. sorokinianum</i> = <i>H. sativum</i>)、黑附球菌(<i>Epicoccum nigrum</i>)、 <i>Exserohilum prolatum</i> = <i>Drechslera prolata</i> (有性型: <i>Setosphaeria prolata</i>) 拟青霉粘束孢(<i>Graphium penicillioides</i>)、 玉米小球腔菌(<i>Leptosphaeria maydis</i>)、玉米细盾霉 (<i>Leptothyrium zeae</i>)、 <i>Ophiosphaerella herpotricha</i> (无性型: 刺球腔菌属(<i>Scolecosporiella</i> sp.))、 <i>Paraphaeosphaeria michotii</i> 、茎点霉属 (<i>Phoma</i> sp.)、玉蜀黍壳针孢(<i>Septoria zeae</i>)、玉蜀黍生壳针孢(<i>S. zeicola</i>)、 玉蜀黍壳针孢(<i>S. zeina</i>)
北方玉米叶枯病(白瘟病 (white blast)、轴茎腐病	大班刚毛球腔菌(<i>Setosphaeria turcica</i>)(无性型: 大班凸脐蠕孢 (<i>Exserohilum</i>

[0293]

[0294]

疾病	病原体
(crown stalk rot)、条纹病)	turcicum)= 大 斑 病 长 蠕 孢 (<i>Helminthosporium turcicum</i>))
北方玉米叶斑病长蠕孢穗腐病(小种 1)	炭 色 旋 孢 腔 菌 (<i>Cochliobolus carbonum</i>)(无性型: 玉蜀黍生平脐蠕孢 (<i>Bipolaris zeicola</i>) = 炭 色 长 蠕 孢 (<i>Helminthosporium carbonum</i>))
暗 球 腔 菌 叶 斑 病 (<i>Phaeosphaeria leaf spot</i>)	玉蜀黍暗球腔菌(<i>Phaeosphaeria maydis</i>) = 玉蜀黍亚球壳(<i>Sphaerulina maydis</i>)
Rostratum 叶斑病(长蠕孢叶病、穗和茎腐病)	喙状毛座腔菌(<i>Setosphaeria rostrata</i>)(无性型: 喙状凸脐蠕孢(<i>xserohilum rostratum</i>) = 喙 状 长 蠕 孢 (<i>Helminthosporium rostratum</i>))
爪哇霜霉病	玉蜀黍指霜霉(<i>Peronosclerospora maydis</i>) = 玉蜀黍指梗霜霉属(<i>Sclerospora maydis</i>)
菲律宾霜霉病	菲 律 宾 指 霜 霉 (<i>Peronosclerospora philippinensis</i>) = 菲 律 宾 指 梗 霜 霉 (<i>Sclerospora philippinensis</i>)
高粱霜霉病	高粱指霜霉(<i>Peronosclerospora sorghi</i>) = 高粱指梗霜霉(<i>Sclerospora sorghi</i>)
甜 根 子 草 霜 霉 病 (<i>Spontaneum downy mildew</i>)	甜根子草指霜霉 (<i>Peronosclerospora spontanea</i>) = 甜根子草指梗霜霉 (<i>Sclerospora spontanea</i>)
甘蔗霜霉病	甘 蔗 指 霜 霉 属 (<i>Peronosclerospora sacchari</i>)=

[0295]

疾病	病原体
	甘蔗指梗霜霉(<i>Sclerospora sacchari</i>)
小菌核穗腐病(白绢病)	齐整小核菌(<i>Sclerotium rolfsii</i> Sacc.)(有性型: 罗氏阿太菌(<i>Athelia rolfsii</i>))
种腐病-苗枯病	禾草离蠕孢、玉蜀黍生平脐蠕孢(<i>B. zeicola</i>) = 炭色长蠕孢、玉蜀黍壳色单隔孢、角果凸脐蠕孢(<i>Exserohilum pedicillatum</i>)、大班凸脐蠕孢 = 大班病长蠕孢、燕麦镰孢霉(<i>Fusarium avenaceum</i>)、黄色镰孢霉(<i>F. culmorum</i>)、串珠镰孢霉(<i>F. moniliforme</i>)、玉蜀黍赤霉(无性型: 禾谷镰孢霉(<i>F. graminearum</i>))、菜豆壳球孢菌(<i>Macrophomina phaseolina</i>)、青霉属某些物种(<i>Penicillium</i> spp.)、拟茎点霉物种属(<i>Phomopsis</i> sp.)、腐霉属某些物种(<i>Pythium</i> spp.)、茄丝核菌(<i>Rhizoctonia solani</i>)、玉蜀黍丝核菌(<i>R. zeae</i>)、齐整小核菌(<i>Sclerotium rolfsii</i>)、穗霉属物种(<i>Spicaria</i> sp.)
壳月孢叶斑病(<i>Selenophoma</i> leaf spot)	壳月孢属物种(<i>Selenophoma</i> sp.)
黄色叶枯病	<i>Ascochyta ischaemi</i> 、玉蜀黍叶点霉(<i>Phyllosticta maydis</i>)(有性型: <i>Mycosphaerella zeae-maydis</i>)
轮斑病 (Zonate leaf spot)	高粱胶尾孢(<i>Gloeocercospora sorghi</i>)

[0296] 以下是特别优选的:

[0297] -Plasmodiophoromycota, 如芸苔根肿菌(*Plasmodiophora Brassicae*) (十字花科植物的根肿病)、马铃薯粉痂菌(*Spongospora subterranea*)、禾谷多粘菌(*Polymyxa graminis*),

[0298] -卵菌门(Oomycota) 如莴苣盘梗霉(*Bremia lactucae*) (莴苣的霜霉病)、霜霉属(*Peronospora*) (霜霉病) 如在金鱼草(snapdragon) (金鱼草霜霉(*P. antirrhini*))、洋葱(葱霜霉(*P. destructor*))、菠菜(散展霜霉(*P. effusa*))、大豆(东北霜霉(*P. manchurica*))、烟

草(“蓝霉”;烟草霜霉(*P. tabacina*))、苜蓿和车轴草(车轴草霜霉(*P. trifolium*))、葎草假霜霉(*Pseudoperonospora humuli*) (啤酒花的霜霉病)中霜霉、单轴霉属(*Plasmopara*) (葡萄藤的霜霉病) (葡萄生单轴霉(*P. viticola*))和向日葵(霍尔单轴霉(*P. halstedii*))、大孢指疫霉(*Sclerophthora macrospora*) (禾谷类和牧草中的霜霉病)、腐霉属(*Pythium*) (例如由德巴利腐霉(*P. debaryanum*)引起的红甜菜猝倒病)、致病疫霉(*Phytophthora infestans*) (马铃薯中和番茄中的晚疫病等)、白锈菌物种(*Albugo spec.*)。

[0299] -子囊菌门(*Ascomycota*)如雪霉微座孢(*Microdochium nivale*) (黑麦和小麦的雪霉病)、镰孢霉属(*Fusarium*)、禾本科镰孢霉(*Fusarium graminearum*)、黄色镰孢霉(*Fusarium culmorum*) (主要在小麦中的部分穗不育)、尖孢镰孢霉(*Fusarium oxysporum*) (番茄的镰孢枯萎)、禾本科布氏白粉菌(*Blumeria graminis*) (大麦(大麦专化型(*f.sp. hordei*)))和小麦(小麦专化型(*f.sp. tritici*))的白粉病)、豌豆白粉菌(*Erysiphe pisi*) (豌豆白粉病)、仁果干癌丛赤壳菌(*Nectria galligena*) (果树的丛赤壳菌溃疡病)、葡萄钩丝壳(*Uncinula necator*) (葡萄藤的白粉病)、维管束假盘菌(*Pseudopeziza tracheiphila*) (葡萄藤的红热病)、麦角菌(*Claviceps purpurea*) (例如黑麦和牧草的麦角症)、禾顶囊壳(*Gaeumannomyces graminis*) (小麦、黑麦和其他牧草上的全蚀病)、灰色大角间座壳(*Magnaporthe grisea*)、麦类核腔菌(*Pyrenophora graminea*) (大麦的叶纹病)、圆核腔菌(*Pyrenophora teres*) (大麦的网斑病)、假麦草核腔菌(*Pyrenophora tritici-repentis*) (小麦叶枯病)、苹果黑星菌(*Venturia inaequalis*) (苹果斑点病)、核盘菌(*Sclerotinia sclerotium*) (茎断、茎腐)、苜蓿假盘菌(*Pseudopeziza medicaginis*) (苜蓿、白车轴草和红车轴草的叶斑病)。

[0300] -担子菌纲(*Basidiomycetes*)如肉孢核瑚菌(*Typhula incarnata*) (大麦、黑麦、小麦上的核瑚菌枯萎病)、玉蜀黍黑粉菌(*Ustilago maydis*) (玉米上的黑粉病)、裸黑粉菌(*Ustilago nuda*) (大麦上的散黑穗病)、小麦黑粉菌(*Ustilago tritici*) (小麦、斯佩尔特小麦上的散黑穗病)、燕麦散黑粉菌(*Ustilago avenae*) (燕麦上的散黑穗病)、茄丝核菌(*Rhizoctonia solani*) (马铃薯的丝核菌根腐病)、轴黑粉菌属的某些物种(*Sphacelotheca spp.*) (高粱的黑穗病)、亚麻栅锈菌(*Melampsora lini*) (亚麻的锈病)、禾柄锈菌(*Puccinia graminis*) (小麦、大麦、黑麦、燕麦的茎锈病)、隐匿柄锈菌(*Puccinia recondita*) (小麦上的叶锈病)、散生柄锈菌(*Puccinia dispersa*) (黑麦上的褐锈病)、大麦柄锈菌(*Puccinia hordei*) (大麦的叶锈病)、禾冠柄锈菌(*Puccinia coronata*) (燕麦的冠锈病)、条形柄锈菌(*Puccinia striiformis*) (小麦、大麦、黑麦和多种牧草的黄锈病)、疣顶单胞锈(*Uromyces appendiculatus*) (菜豆的褐锈病)、齐整小核菌(*Sclerotium rolfsii*) (许多植物的根腐病和茎腐病)。

[0301] 半知菌纲(*Deuteromycetes*) (半知真菌)如小麦(小麦壳针孢(*Septoria tritici*))的颖枯壳针孢(*Stagonospora nodorum*) (颖斑枯病)、小麦基腐病菌(*Pseudocercospora herpotrichoides*) (小麦、大麦、黑麦的眼斑病)、黑麦喙孢(*Rhynchosporium secalis*) (黑麦和大麦上的叶斑病)、茄链格孢(*Alternaria solani*) (马铃薯、番茄的早疫病)、甜菜茎点霉(*Phoma betae*) ((甜菜的黑胫病)、甜菜生尾胞(*Cercospora beticola*) (甜菜的叶斑病)、芸苔链格孢(油菜籽油菜、卷心菜和其他十字花科植物的黑斑病)、大丽轮枝菌(*Verticillium dahliae*) (黄萎病(*verticillium wilt*)))、

刺盘孢属 (*Colletotrichum*)、豆刺盘孢 (*Colletotrichum lindemuthianum*) (菜豆炭疽病)、黑胫茎点霉 (*Phoma lingam*) (卷心菜和油菜的黑胫病)、灰葡萄孢 (*Botrytis cinerea*) (葡萄树、草莓、番茄、蛇麻花等的灰霉病)。

[0302] 特别优选的是活体营养型病原体、更优选地半坏死营养型病原体,例如,豆薯层锈菌和/或具有基本上与豆薯层锈菌相似的感染机理的那些病原体,如本文所述。特别优选来自柄锈菌亚纲 (*Pucciniomycetes*)、优选地来自柄锈菌目 (*Pucciniales*) (锈菌) (先前称作锈菌目 (*Uredinales*)), 尤其连同栅锈菌科 (*Melompsoraceae*)) 的病原体。优选层锈菌科 (*Phakopsoraceae*), 更优选地层锈菌属 (*Phakopsora*)。特别优选的是豆薯层锈菌和/或山马蝗层锈菌。

[0303] 优选的锈菌真菌还选自柄锈菌属 (*Puccinia*)、胶锈菌属 (*Gymnosporangium*)、刺柏属 (*Juniperus*)、柱锈菌属 (*Cronartium*)、驼孢锈菌属 (*Hemileia*) 和单胞锈菌属 (*Uromyces*); 优选地高粱柄锈菌 (*Puccinia sorghi*)、*Gymnosporangium juniperi-virginianae*、弗吉尼亚刺柏 (*Juniperus virginiana*)、茶藨生柱锈菌 (*Cronartium ribicola*)、咖啡驼孢锈菌 (*Hemileia vastatrix*)、禾柄锈菌 (*Puccinia graminis*)、禾冠柄锈菌 (*Puccinia coronata*)、*Uromyces phaseoli*、萱草柄锈菌 (*Puccinia hemerocallidis*)、*Puccinia persistens* subsp. *Triticina*、条形柄锈菌 (*Puccinia striiformis*)、禾柄锈菌 (*Puccinia graminis*) 病因, 和/或瘤顶单胞锈菌 (*Uromyces appendiculatus*)。

[0304] 其他的优选病原体, 优选地玉米病原体, 是造成茎腐病、尤其镰孢霉茎腐病、赤霉茎腐病、壳色单隔孢茎腐病和炭腐病的病原体和造成炭疽病的病原体。造成镰孢霉茎腐病的优选的病原体是轮枝镰孢霉 (*Fusarium verticillioides*)、层出镰孢霉 (*Fusarium proliferatum*) 或胶孢镰孢霉 (*Fusarium subglutinans*)。造成赤霉茎腐病的优选病原体是禾谷镰孢霉。造成壳色单隔孢茎腐病的优选病原体是玉蜀黍壳色单隔孢属 (*Diplodia maydis*)。造成炭腐病的优选病原体是菜豆壳球孢菌 (*Macrophomina phaseolina*)。造成炭疽病的优选病原体是禾生刺盘孢 (*Colletotrichum graminicola*)。

[0305] MybTF表达构建体和载体构建体

[0306] 重组载体构建体, 包含:

[0307] (a) (i) 与SEQ ID NO:2、3、1、6、4、8、9-24、25、27、29、31、33、35、37、39、41、43、45、47、49、51、53或55具有至少70%序列同一性、至少80%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%同一性或甚至100%序列同一性的核酸, 或其功能性片段、或其直向同源物或旁系同源物、或其剪接变体;

[0308] (ii) 编码蛋白质、其功能性片段、其直向同源物或旁系同源物的核酸, 所述蛋白质包含与SEQ ID NO:7、5、26、28、30、32、34、36、38、40、42、44、46、48、50、52、54或56具有至少70%序列同一性、至少80%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%序列同一性或甚至100%序列同一性的氨基酸序列; 优选地相对于对照植物, 编码的蛋白质赋予增强的真菌抗性;

[0309] (iii) 核酸, 其能够与根据 (i) 或 (ii) 的任一个核酸的互补序列在严格条件下杂交; 优选地编码MybTF蛋白; 优选地其中所述核酸分子编码与SEQ ID NO:7或5中所述的多肽具有基本上相同特性的多肽; 优选地相对于对照植物, 编码的蛋白质赋予增强的真菌抗性;

和/或

[0310] (iv) 编码与上文(i)至(iii)的核酸编码的相同的MybTF蛋白,但因遗传密码简并性而与上文(i)至(iii)的核酸不同的核酸,

[0311] 所述核酸有效连接于

[0312] (b) 启动子和

[0313] (c) 转录终止序列是本发明的又一个实施方案。

[0314] 另外,提供包含下述的重组载体构建体:

[0315] (a) (i) 与SEQ ID NO:2、3、1、6、4、8、9-24、25、27、29、31、33、35、37、39、41、43、45、47、49、51、53或55具有至少80%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%序列同一性或甚至100%序列同一性的核酸;

[0316] (ii) 编码蛋白质的核酸,所述蛋白质包含与SEQ ID NO:7、5、26、28、30、32、34、36、38、40、42、44、46、48、50、52、54或56具有至少80%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%序列同一性或甚至100%序列同一性的氨基酸序列;优选地相对于对照植物,编码的蛋白质赋予增强的真菌抗性;

[0317] (iii) 核酸,其能够与根据(i)或(ii)的任一个核酸的互补序列在严格条件下杂交;优选地编码MybTF蛋白;优选地其中所述核酸分子编码与SEQ ID NO:7或5中所述的多肽具有基本上相同特性的多肽;优选地相对于对照植物,编码的蛋白质赋予增强的真菌抗性;

和/或

[0318] (iv) 编码与上文(i)至(iii)的核酸编码的相同的MybTF蛋白,但因遗传密码简并性而与上文(i)至(iii)的核酸不同的核酸,

[0319] 所述核酸有效连接于

[0320] (b) 启动子和

[0321] (c) 转录终止序列是本发明的又一个实施方案。

[0322] 另外,提供包含下述的重组载体构建体:

[0323] (a) (i) 与SEQ ID NO:1具有至少80%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%序列同一性或甚至100%序列同一性的核酸;

[0324] (ii) 编码蛋白质的核酸,所述蛋白质与SEQ ID NO:7或5具有至少80%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%序列同一性或甚至100%序列同一性;优选地相对于对照植物,编码的蛋白质赋予增强的真菌抗性;

[0325] (iii) 核酸,其能够与根据(i)或(ii)的任一个核酸的互补序列在严格条件下杂交;优选地编码MybTF蛋白;优选地其中所述核酸分子编码与SEQ ID NO:7或5中所述的多肽具有基本上相同特性的多肽;优选地相对于对照植物,编码的蛋白质赋予增强的真菌抗性;

和/或

[0326] (iv) 编码与上文(i)至(iii)的核酸编码的相同的MybTF蛋白,但因遗传密码简并性而与上文(i)至(iii)的核酸不同的核酸,

[0327] 所述核酸有效连接于

[0328] (b) 启动子和

[0329] (c) 转录终止序列是本发明的又一个实施方案。

[0330] 另外,提供包含下述的重组载体构建体:

[0331] (a) (i) 与SEQ ID N0:2或6具有至少80%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%序列同一性或甚至100%序列同一性的核酸;

[0332] (ii) 编码蛋白质的核酸,所述蛋白质与SEQ ID N0:7具有至少80%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%序列同一性或甚至100%序列同一性;优选地相对于对照植物,编码的蛋白质赋予增强的真菌抗性;

[0333] (iii) 核酸,其能够与根据(i)或(ii)的任一个核酸的互补序列在严格条件下杂交;优选地编码MybTF蛋白;优选地其中所述核酸分子编码与SEQ ID N0:7中所述的多肽具有基本上相同特性的多肽;优选地相对于对照植物,编码的蛋白质赋予增强的真菌抗性;和/或

[0334] (iv) 编码与上文(i)至(iii)的核酸编码的相同的MybTF蛋白,但因遗传密码简并性而与上文(i)至(iii)的核酸不同的核酸,

[0335] 所述核酸有效连接于

[0336] (b) 启动子和

[0337] (c) 转录终止序列是本发明的又一个实施方案。

[0338] 另外,提供包含下述的重组载体构建体:

[0339] (a) (i) 与SEQ ID N0:3或4具有至少80%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%序列同一性或甚至100%序列同一性的核酸;

[0340] (ii) 编码蛋白质的核酸,所述蛋白质与SEQ ID N0:5具有至少80%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%序列同一性或甚至100%序列同一性;优选地相对于对照植物,编码的蛋白质赋予增强的真菌抗性;

[0341] (iii) 核酸,其能够与根据(i)或(ii)的任一个核酸的互补序列在严格条件下杂交;优选地编码MybTF蛋白;优选地其中所述核酸分子编码与SEQ ID N0:5中所述的多肽具有基本上相同特性的多肽;优选地相对于对照植物,编码的蛋白质赋予增强的真菌抗性;和/或

[0342] (iv) 编码与上文(i)至(iii)的核酸编码的相同的MybTF蛋白,但因遗传密码简并性而与上文(i)至(iii)的核酸不同的核酸,

[0343] 所述核酸有效连接于

[0344] (b) 启动子和

[0345] (c) 转录终止序列是本发明的又一个实施方案。

[0346] 在基因组文库的情况下,优选地保留、至少部分地保留该核酸序列的天然遗传环境。该环境优选地分布在该核酸序列的至少一侧并且具有至少50bp,优选至少500bp,特别优选至少1000bp,最优选至少5000bp序列长度。

[0347] 本发明的启动子可以是组成型的、诱导性型的、尤其病原体诱导型的,发育阶段优选的、细胞类型优选的、组织优选的或器官优选的。组成型启动子在大多数条件下有活性。组成型启动子的非限制性例子包括CaMV 19S和35S启动子(Odell等人,1985,Nature 313:810-812)、sX CaMV 35S启动子(Kay等人,1987,Science 236:1299-1302)、Sep1启动子、稻肌动蛋白启动子(McElroy等人,1990,Plant Cell 2:163-171)、拟南芥肌动蛋白启动子、遍在蛋白启动子(Christensen等人,1989,Plant Molec.Biol.18:675-689);pEmu(Last等人,1991,Theor.Appl.Genet.81:581-588)、玄参花叶病毒35S启动子、Smas启动子(Velten等

人,1984,EMBO J.3:2723-2730)、GRP1-8启动子、肉桂醇脱氢酶启动子(美国专利号5,683,439)、来自农杆菌T-DNA的启动子如甘露碱合酶启动子、胭脂碱合酶启动子和章鱼碱合酶启动子以及二磷酸核酮糖羧化酶小亚基(ssuRUBISCO)启动子和/或等。

[0348] 优选地,本发明的表达载体包含组成型启动子、叶肉特异性启动子、表皮特异性启动子、根特异性启动子、病原体诱导型启动子、或真菌诱导型启动子。

[0349] 如果某启动子在其诱导状态下的活性(按该启动子控制下所产生的RNA的量测量)比其非诱导的状态高至少30%、至少40%、至少50%优选地至少60%、至少70%、至少80%、至少90%更优选地至少100%、至少200%、至少300%,则该启动子是诱导型的。如果某启动子在特定细胞类型、组织或器官中的活性(按该启动子控制下所产生的RNA的量测量)比相同植物的其他细胞类型或组织中高至少30%、至少40%、至少50%优选地至少60%、至少70%、至少80%、至少90%更优选地至少100%、至少200%、至少300%,则该启动子是细胞特异的、组织特异的或器官特异的,优选地,其他细胞类型或组织是相同植物器官(例如根)的细胞类型或组织。在器官特异性启动子情况下,启动子活性必须与其他植物器官例如叶、茎、花或种子中的启动子活性比较。优选地,启动子是组成型启动子、叶肉特异性启动子或表皮特异性启动子。

[0350] 在优选的实施方案中,MybTF蛋白的蛋白质数量和/或活性增加以组成型方式或组织特异性方式发生。在特别优选的实施方案中,发生病原体实质上诱导的蛋白质数量和/或蛋白质活性增加(例如因MybTF核酸在真菌诱导型启动子控制下重组表达)。特别地,MybTF核酸的表达在真菌的感染部位上发生,然而,其中优选地,真菌未感染的组织中MybTF核酸的表达保持基本上不改变。

[0351] 发育期优选性启动子在某个发期中偏好性地表达。组织优选性和器官优选性启动子包括在特定组织或器官如叶、根、种子或木质部中偏好表达的那些启动子。组织优选的和器官优选的启动子的例子包括,但不限于果实优选的、胚珠优选的、雄性组织优选的、种子优选的、珠被优选的、块茎优选的、柄优选的、果皮优选的、叶优选的、柱头优选的、花粉优选的、花药优选的、花瓣优选的、萼片优选的、花梗优选的、果荚优选的、茎优选的、根优选的启动子和/或其他等。种子优选的启动子在种子发育和/或萌发期间偏好性表达。例如,种子优选的启动子可以是胚优选的、胚乳优选的和种衣优选的。见Thompson等人,1989,BioEssays 10:108。种子优选的启动子的例子包括,但不限于纤维素合酶(celA)、Cim1、 γ -玉米醇溶蛋白、球蛋白-1、玉米19kD玉米醇溶蛋白(cZ19B1)和/或等。

[0352] 其它合适的组织优选或器官优选的启动子包括,但不限于来自欧洲油菜的油菜籽蛋白基因启动子(美国专利号5,608,152)、来自蚕豆(*Vicia faba*)的USP启动子(Baeumlein等,1991,Mol Gen Genet.225(3):459-67)、来自拟南芥的油质蛋白启动子(PCT申请号W098/45461)、菜豆(*Phaseolus vulgaris*)的菜豆蛋白启动子(美国专利号5,504,200)、来自芸苔属的Bce4启动子(PCT申请号W0 91/13980)或豆球蛋白的B4启动子(LeB4;Baeumlein等,1992,Plant Journal,2(2):233-9)以及单子叶植物如玉米、大麦、小麦、黑麦、稻等中赋予种子特异性表达的启动子。待提到的合适启动子是来自大麦的lpt2基因或lpt1基因启动子(PCT申请号W0 95/15389和PCT申请号W0 95/23230)或PCT申请号W0 99/16890中描述的那些启动子(来自以下基因的启动子:大麦的大麦醇溶蛋白基因、稻的谷蛋白基因、稻的水稻素基因、稻谷醇溶蛋白基因、小麦的麦醇溶蛋白基因、小麦的谷蛋白基因、燕麦的谷蛋白

基因、高粱kasirin基因和/或黑麦的secalin基因)。

[0353] 根据本发明有用的启动子包括,但不限于主要叶绿素a/b结合蛋白启动子、组蛋白启动子、Ap3启动子、 β -伴大豆球蛋白启动子、油菜籽蛋白启动子、大豆凝集素启动子、玉米15kD玉米醇溶蛋白启动子、22kD玉米醇溶蛋白启动子、27kD玉米醇溶蛋白启动子、 γ -玉米醇溶蛋白启动子、蜡质、皱缩1、皱缩2和青铜色启动子、Zm13启动子(美国专利号5,086,169)、玉米聚半乳糖醛酸酶启动子(PG)(美国专利号5,412,085和5,545,546)、SGB6启动子(美国专利号5,470,359)以及合成性启动子或其它天然启动子。

[0354] 表皮特异性启动子可以选自:

[0355] WIR5(=GstA1);登录号X56012;Dudler和Schweizer,

[0356] GLP4,登录号AJ310534;Wei Y.,Zhang Z.,Andersen C.H.,Schmelzer E.,Gregersen P.L.,Collinge D.B.,Smedegaard-Petersen V.和Thordal-Christensen H.,Plant Molecular Biology 36,101(1998),

[0357] GLP2a,登录号AJ237942,Schweizer P.,Christoffel A.和Dudler R.,Plant J.20,541(1999);

[0358] Prx7,登录号AJ003141,Kristensen B.K.,**Ammitzböll** H.,Rasmussen S.K.和Nielsen K.A.,Molecular Plant Pathology,2(6),311(2001);

[0359] GerA,登录号AF250933;Wu S.,Druka A.,Horvath H.,Kleinhofs A.,Kannangara G.和von Wettstein D.,Plant Phys Biochem 38,685(2000);

[0360] OsROC1,登录号AP004656

[0361] RTBV,登录号AAV62708、AAV62707;**Klöti** A.,Henrich C.,Bieri S.,He X.,Chen G.,Burkhardt P.K.,Wünn J.,Lucca P.,Hohn T.,Potrykus I.和Fütterer J.,PMB 40,249(1999);

[0362] 来自马铃薯的几丁质酶ChtC2启动子(Ancillo等人,Planta.217(4),566,(2003));

[0363] AtProT3启动子(Grallath等人,Plant Physiology.137(1),117(2005));

[0364] 来自拟南芥的SHN启动子(参与角质和蜡产生的AP2/EREBP转录因子)(Aarón等人,Plant Cell.16(9),2463(2004));和/或

[0365] 来自小麦的GSTA1(Dudler等人,WP2005306368和Altpeter等人,Plant Molecular Biology.57(2),271(2005))。

[0366] 叶肉特异性启动子可以选自:

[0367] PPCZm1(=PEPC);Kausch A.P.,Owen T.P.,Zachwieja S.J.,Flynn A.R.和Sheen J.,Plant Mol.Biol.45,1(2001);

[0368] OsrbcS,Kyozuka等人,Plant Phys 102,991(1993);Kyozuka J.,McElroy D.,Hayakawa T.,Xie Y.,Wu R.和Shimamoto K.,Plant Phys.102,991(1993);

[0369] OsPPDK,登录号AC099041;

[0370] TaGF-2.8,登录号M63223;Schweizer P.,Christoffel A.和Dudler R.,Plant J.20,541(1999);

[0371] TaFBPase,登录号X53957;

- [0372] TaWIS1, 登录号AF467542; US 200220115849;
- [0373] HvBIS1, 登录号AF467539; US 200220115849;
- [0374] ZmMIS1, 登录号AF467514; US 200220115849;
- [0375] HvPR1a, 登录号X74939; Bryngelsson等人, Mol. Plant Microbe Interact. 7 (2), 267 (1994);
- [0376] HvPR1b, 登录号X74940; Bryngelsson等人, Mol. Plant Microbe Interact. 7 (2), 267 (1994);
- [0377] HvB1, 3gluc; 登录号AF479647;
- [0378] HvPrx8, 登录号AJ276227; Kristensen等人, Molecular Plant Pathology, 2 (6), 311 (2001); 和/或
- [0379] HvPAL, 登录号X97313; Wei Y., Zhang Z., Andersen C.H., Schmelzer E., Gregersen P.L., Collinge D.B., Smedegaard-Petersen V. 和 Thordal-Christensen H. Plant Molecular Biology 36, 101 (1998)。
- [0380] 组成型启动子可以选自
- [0381] -来自欧芹的PcUbi启动子(WO 03/102198)
- [0382] -CaMV 35S启动子: 花椰菜花叶病毒35S启动子 (Benfey等人, 1989EMBO J. 8 (8): 2195-2202),
- [0383] -STPT启动子: 拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*) 短磷酸三糖易位蛋白启动子 (登录号NM_123979)
- [0384] -Act1启动子: 稻 (*Oryza sativa*) 肌动蛋白1基因启动子 (McElroy等人, 1990PLANT CELL 2 (2) 163-171a) 和/或
- [0385] -EF1A2启动子: 大豆 (*Glycine max*) 翻译延伸率因子EF1 α (US20090133159)。
- [0386] 在优选的实施方案中, MybTF蛋白的蛋白质数量和/或功能增加以组成型方式或组织特异性方式发生。在特别优选的实施方案中, 病原体实质上诱导的蛋白质数量和/或蛋白质功能增加例如因MybTF核酸在真菌诱导型启动子、优选地锈菌诱导型启动子控制下外源表达而发生。特别地, MybTF核酸的表达在真菌的感染部位上发生, 然而, 其中优选地, 真菌未感染的组织中MybTF核酸序列的表达保持基本上不改变。
- [0387] 优选地, MybTF核酸处在锈菌诱导型叶肉特异性启动子的控制下。更优选地, 该启动子是锈菌诱导型叶肉特异性启动子820。
- [0388] 优选的终止子是来自马铃薯 (*Solanum tuberosum*) 的组织蛋白酶D抑制物基因的终止子。
- [0389] 优选的启动子-终止子与其间目的基因的组合是来自欧芹的启动子, 优选地, 欧芹遍在蛋白启动子, 与来自马铃薯的组织蛋白酶D抑制物基因的终止子组合。另一个优选的启动子-终止子组合是锈菌诱导型叶肉特异性启动子820与来自马铃薯的组织蛋白酶D抑制物基因的终止子组合。
- [0390] 内含子序列也可以添加至5' 非翻译区 (UTR) 和/或部分编码序列的编码序列以增加细胞溶胶中聚集的成熟信使的量。已经证实可剪接内含子在植物表达构建体和动物表达构建体中转录单位内的包含在mRNA水平及蛋白质水平上增加基因表达至多达1000倍 (Buchman和Berg (1988) Mol. Cell biol. 8:4395-4405; Callis等 (1987) Gens Dev 1:1183-

1200)。此类内含子增强基因表达的作用一般在所述内含子置于转录单位的5'末端附近时最强烈。玉米内含子Adh1-S内含子1、2和6、Bronze-1内含子的用途是本领域已知的。对于一般信息,见:《玉米手册》,第116章,编者Freeling和Walbot, Springer, N.Y. (1994)。

[0391] 一种类型的载体构建体是“质粒”,其指额外DNA区段可以连入其中的环形双链DNA环。另一类型的载体是病毒载体,其中额外的DNA区段可以连入病毒基因组中。某些载体构建体能够在引入它们的宿主植物细胞中自主复制。其他载体构建体在引入宿主植物细胞时整合入宿主细胞的基因组,从而随着宿主基因组一起复制。特别地,载体构建体能够指导与载体有效连接的基因表达。但是,本发明意在包括这类起到等同功能的其他形式的表达载体构建体,如病毒载体(例如,马铃薯病毒X、烟草脆裂病毒和/或双生病毒)。

[0392] 转基因生物;转基因植物、植物部分和植物细胞

[0393] 一个优选实施方案是过量表达外源MybTF蛋白的转基因植物、转基因植物部分或转基因植物细胞,优选地,转基因植物包含编码MybTF蛋白的重组表达构建体。优选地,在植物、植物部分或植物细胞中过量表达的MybTF蛋白由核酸编码,所述核酸包含:

[0394] (i) 与SEQ ID NO:2、3、1、6、4、8、9-24、25、27、29、31、33、35、37、39、41、43、45、47、49、51、53或55具有至少70%同一性的外源核酸,或其功能性片段、其直向同源物或旁系同源物、或其剪接变体,或由以下核酸编码

[0395] (ii) 编码蛋白质、其功能性片段、其直向同源物或旁系同源物的外源核酸,所述蛋白质包含与SEQ ID NO:7、5、26、28、30、32、34、36、38、40、42、44、46、48、50、52、54或56具有至少70%序列同一性的氨基酸序列;优选地相对于对照植物,编码的蛋白质赋予增强的真菌抗性;

[0396] (iii) 外源核酸,其能够与根据(i)或(ii)的任一个核酸的互补序列在严格条件下杂交;优选地编码MybTF蛋白;优选地其中所述核酸分子编码与SEQ ID NO:7或5中所述的多肽具有基本上相同特性的多肽;优选地相对于对照植物,编码的蛋白质赋予增强的真菌抗性;和/或由以下核酸编码

[0397] (iv) 编码与上文(i)至(iii)的核酸编码的相同的MybTF蛋白,但因遗传密码简并性而与上文(i)至(iii)的核酸不同的外源核酸。

[0398] 最优选地,外源核酸与SEQ ID NO:2、3、1、6、4、8、9-24、25、27、29、31、33、35、37、39、41、43、45、47、49、51、53或55具有至少80%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%序列同一性或甚至100%序列同一性;或包含编码蛋白质的外源核酸,所述蛋白质与SEQ ID NO:7、5、26、28、30、32、34、36、38、40、42、44、46、48、50、52、54或56具有至少80%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%序列同一性或甚至100%序列同一性。

[0399] 一个优选实施方案是过量表达外源MybTF蛋白的转基因植物、转基因植物部分或转基因植物细胞。优选地,在植物、植物部分或植物细胞中过量表达的MybTF蛋白由以下核酸编码:

[0400] (i) 与SEQ ID NO:1具有至少70%同一性的外源核酸、或其功能性片段、其直向同源物或旁系同源物、或其剪接变体,或由以下核酸编码

[0401] (ii) 编码蛋白质的外源核酸、其功能性片段、其直向同源物或旁系同源物,所述蛋白质与SEQ ID NO:7或5具有至少70%序列同一性;优选地相对于对照植物,编码的蛋白质赋予增强的真菌抗性;

[0402] (iii) 外源核酸,其能够与根据(i)或(ii)的任一个核酸的互补序列在严格条件下杂交;优选地编码MybTF蛋白;优选地其中所述核酸分子编码与SEQ ID NO:7或5中所述的多肽具有基本上相同特性的多肽;优选地相对于对照植物,编码的蛋白质赋予增强的真菌抗性;和/或由以下核酸编码

[0403] (iv) 编码与上文(i)至(iii)的核酸编码的相同的MybTF蛋白,但因遗传密码简并性而与上文(i)至(iii)的核酸不同的外源核酸。

[0404] 一个优选实施方案是过量表达外源MybTF蛋白的转基因植物、转基因植物部分或转基因植物细胞。优选地,在植物、植物部分或植物细胞中过量表达的MybTF蛋白由以下核酸编码:

[0405] (i) 与SEQ ID NO:2或6具有至少70%同一性的外源核酸,或其功能性片段、其直向同源物或旁系同源物、或其剪接变体,或由以下核酸编码

[0406] (ii) 编码蛋白质、其功能性片段、其直向同源物或旁系同源物的外源核酸,所述蛋白质与SEQ ID NO:7具有至少70%序列同一性;优选地相对于对照植物,编码的蛋白质赋予增强的真菌抗性;

[0407] (iii) 外源核酸,其能够与根据(i)或(ii)的任一个核酸的互补序列在严格条件下杂交;优选地编码MybTF蛋白;优选地其中所述核酸分子编码与SEQ ID NO:7中所述的多肽具有基本上相同特性的多肽;优选地相对于对照植物,编码的蛋白质赋予增强的真菌抗性;和/或由以下核酸编码

[0408] (iv) 编码与上文(i)至(iii)的核酸编码的相同的MybTF蛋白,但因遗传密码简并性而与上文(i)至(iii)的核酸不同的外源核酸。

[0409] 一个优选实施方案是过量表达外源MybTF蛋白的转基因植物、转基因植物部分或转基因植物细胞。优选地,在植物、植物部分或植物细胞中过量表达的MybTF蛋白由以下核酸编码:

[0410] (i) 与SEQ ID NO:3或4具有至少70%同一性的外源核酸,或其功能性片段、其直向同源物或旁系同源物、或其剪接变体,或由以下核酸编码

[0411] (ii) 编码蛋白质的外源核酸、其功能性片段、其直向同源物或旁系同源物,所述蛋白质与SEQ ID NO:5具有至少70%序列同一性;优选地相对于对照植物,编码的蛋白质赋予增强的真菌抗性;

[0412] (iii) 外源核酸,其能够与根据(i)或(ii)的任一个核酸的互补序列在严格条件下杂交;优选地编码MybTF蛋白;优选地其中所述核酸分子编码与SEQ ID NO:5中所述的多肽具有基本上相同特性的多肽;优选地相对于对照植物,编码的蛋白质赋予增强的真菌抗性;和/或由以下核酸编码

[0413] (iv) 编码与上文(i)至(iii)的核酸编码的相同的MybTF蛋白,但因遗传密码简并性而与上文(i)至(iii)的核酸不同的外源核酸。

[0414] 最优选地,外源核酸与SEQ ID NO:1具有至少80%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%序列同一性或甚至100%序列同一性;或包含编码蛋白质的外源核酸,所述蛋白质与SEQ ID NO:7或5具有至少80%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%序列同一性或甚至100%序列同一性。

[0415] 最优选地,外源核酸与SEQ ID NO:2或6具有至少80%、至少90%、至少95%、至少

98%、至少99%序列同一性或甚至100%序列同一性;或包含编码蛋白质的外源核酸,所述蛋白质与SEQ ID NO:7具有至少80%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%序列同一性或甚至100%序列同一性。

[0416] 最优选地,外源核酸与SEQ ID NO:3或4具有至少80%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%序列同一性或甚至100%序列同一性;或包含编码蛋白质的外源核酸,所述蛋白质与SEQ ID NO:5具有至少80%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%序列同一性或甚至100%序列同一性。

[0417] 在优选的实施方案中,与未用MybTF核酸转化的野生型植物相比,MybTF蛋白在转基因植物中的蛋白质数量增加至少10%、至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%或至少95%或更多。

[0418] 更优选地,已经通过用本文所述的重组载体转化获得本发明的转基因植物、转基因植物部分或转基因植物细胞。

[0419] 用于转化或转染宿主细胞(包括植物细胞)的适合方法是植物生物技术领域熟知的。任何方法可以用来将重组表达载体转化入植物细胞中,以产生本发明的转基因植物。用于转化双子叶植物的一般方法是公开在例如美国专利号4,940,838;5,464,763等中公开。美国专利号5,004,863;5,159,135;和5,846,797中阐述了用于转化特定双子叶植物(例如,棉花)的方法。可以使用在美国专利号4,992,375;5,416,011;5,569,834;5,824,877;6,384,301和在EP 0301749 B1中阐述的大豆转化方法。转化方法可以包括直接和间接转化方法。合适的直接方法包括聚乙二醇诱导的DNA摄入法、脂质体介导转化法(US 4,536,475)、使用基因枪的生物射弹法(Fromm ME等人,Bio/Technology.8(9):833-9,1990;Gordon-Kamm等人,Plant Cell 2:603,1990)、电穿孔法、干燥胚在包含DNA的溶液中温育法和微量注射法。在这些直接转化法的情况下,所用的质粒不需要满足任何特殊要求。可以使用简单质粒,如pUC系列、pBR322、M13mp系列、pACYC184等的那些。若将从转化的细胞再生完整植物,则额外的选择标记基因优选地位于质粒上。直接转化技术同等地适用于双子叶植物和单子叶植物。

[0420] 转化也可以通过借助农杆菌的细菌性感染(例如EP 0 116 718)、借助病毒载体的病毒性感染(EP 0 067 553;US 4,407,956;WO 95/34668;WO 93/03161)或借助花粉(EP 0 270 356;WO 85/01856;US 4,684,611)而实施。基于农杆菌的转化技术(尤其对于双子叶植物)在本领域是熟知的。农杆菌菌株(例如根癌农杆菌(*Agrobacterium tumefaciens*)或发根农杆菌(*Agrobacterium rhizogenes*))包含质粒(Ti或Ri质粒)和T-DNA元件,其在用农杆菌感染植物后转移至该植物。T-DNA(转移的DNA)整合入植物细胞的基因组。该T-DNA可以位于Ri-或Ti-质粒上或分别地包含在所谓二元载体中。用于农杆菌介导转化的方法例如在Horsch RB等人(1985)Science 225:1229中描述。农杆菌介导的转化最适用于双子叶植物,但也已经应用于单子叶植物。在例如White FF, Vectors for Gene Transfer in Higher Plants, Transgenic Plants, 第1卷, Engineering and Utilization, S.D.Kung和R.Wu编著, Academic Press, 1993, 第15-38页;Jenes B等人, Techniques for Gene Transfer, Transgenic Plants, 第1卷, Engineering and Utilization, S.D.Kung和R.Wu编著, Academic Press, 1993, 第128-143页;Potrykus(1991)Annu Rev Plant Physiol Plant Molec Biol 42:205-225中描述了通过农杆菌转化植物。转化可以产生瞬时的或稳定的转

化和表达。虽然本发明的多核苷酸可以插入属于这些广泛类型范围内的任意植物和植物细胞中,然而它特别地用在作物植物细胞中。

[0421] 可以借助技术人员熟悉的全部方法再生出基因修饰的植物细胞。合适的方法可以在S.D.Kung和R.Wu, Potrykus或 **Höfgen** 和Willmitzer的上述出版物中找到。

[0422] 在转化后,可以对植物细胞或细胞群体选择一个或多个标记的存在,其中所述的标记由连同目的基因一起被共转移的植物可表达基因编码,随后将转化的材料再生成完整植物。为了选出转化的植物,转化中所获得的植物材料原则上经历选择性条件,从而转化的植物可以与未转化的植物区分。例如,按上述方式获得的种子可以种植,并且在初始培育期后,经受喷洒所致的合适选择作用。另一种可能性在于将种子(如果适宜,在消毒后)在使用合适选择剂的琼脂板上培育,从而仅转化的种子可以长成植物。备选地,对转化的植物筛选选择标记(如上文所述的选择标记)的存在。也可以通过筛选MybTF核酸的存在,直接选出转化的植物。

[0423] 在DNA转移和再生后,也可以对推定转化的植物,例如使用DNA印迹分析,评价目的基因的存在、拷贝数和/或基因组构造。备选或额外地,可以使用RNA印迹分析和/或蛋白质印迹分析,监测新引入的DNA的表达水平,这两项技术均是本领域普通技术人员熟知的。

[0424] 可以通过多种手段增殖产生的转化植物,如通过克隆性增殖或经典育种技术。例如,第一世代(或T1)转化植物可以自交并且可以选择纯合的第二世代(或T2)转化体,并且随后可以通过经典育种技术进一步增殖T2植物。产生的转化生物可以采取多种形式。例如,它们可以是转化细胞与非转化细胞的嵌合体;克隆性转化体(例如,经转化以含有表达盒的全部细胞);转化的组织的和未转化组织的移植体(例如,在植物中,向未转化的接穗嫁接的转化根砧木)。

[0425] 优选地,构建体或载体或表达盒不存在于原始植物的基因组中或存在于转基因植物的基因组中却不在原始植物基因组的其天然基因座处。

[0426] 优选地,本发明的转基因植物或通过本发明方法获得的植物具有增加的针对真菌性病原体、优选地针对锈菌病原体(即,柄锈菌目真菌性病原体)、优选地针对层锈菌科真菌性病原体、更优选地针对层锈菌属真菌性病原体、最优选地针对豆薯层锈菌和山马蝗层锈菌(也称作大豆锈菌)的抗性。优选地,针对豆薯层锈菌和/或山马蝗层锈菌的抗性增加。

[0427] 优选地,植物、植物部分或植物细胞是选自以下的植物或衍生自选自以下的植物:菜豆、大豆、豌豆、车轴草、葛、紫花苜蓿、兵豆、羽扇豆、野豌豆、落花生、稻、小麦、大麦、拟南芥、兵豆、香蕉、卡诺拉油菜、棉花、马铃薯、玉米、甘蔗、苜蓿和糖用甜菜。

[0428] 在本发明的一个实施方案中,植物选自菜豆、大豆、豌豆、车轴草、葛、紫花苜蓿、兵豆、羽扇豆、野豌豆和/或落花生。优选地,植物是豆科植物,包括以下属的植物:菜豆属(*Phaseolus*) (包括法国菜豆(*French bean*)、矮生菜豆、蔓菜豆(菜豆(*Phaseolus vulgaris*)),利马豆(棉豆(*Phaseolus lunatus* L.)、宽叶菜豆(*Tepary bean*) (尖叶菜豆(*Phaseolus acutifolius* A.Gray))、红花菜豆(荷包豆(*Phaseolus coccineus*));大豆属(*Glycine*) (包括野大豆(*Glycine soja*)、大豆(大豆(*Glycine max* (L.) Merrill));豌豆(豌豆属(*Pisum*)) (包括剥皮豌豆(豌豆普通型栽培变种(*Pisum sativum* L. convar. *sativum*))、也称作光滑或圆形豌豆;大豌豆(*Pisum sativum* L. convar. *medullare* Alef. emend. C.O. Lehm)、糖荚豌豆(*Pisum sativum* L. convar. *axiphium* Alef

emend.C.O.Lehm)、也称作荷兰豆、豆荚可食性豌豆或嫩豌豆(mangetout)(*Pisum granda sneida* L.convar.sneidulo p.shneiderium));花生(落花生(*Arachis hypogaea*))、车轴草(车轴草属物种(*Trifolium*))、苜蓿(苜蓿属(*Medicago*))、葛藤(野葛(*Pueraria lobata*))、寻常紫花苜蓿,苜蓿(*M.sativa* L.)、鹰嘴豆(鹰嘴豆属(*Cicer*))、兵豆(*Lens*) (兵豆(*Lens culinaris* Medik.))、羽扇豆(羽扇豆属(*Lupinus*));野豌豆(蚕豆属(*Vicia*))、蚕豆、蚕豆(蚕豆(*Vicia faba*))、山黧豆(山黧豆属(*Lathyrus*)) (包括家山黧豆(*Lathyrus sativus*))、玫红山黧豆(*Lathyrus tuberosus*);豇豆属(*Vigna*) (包括蛾豆(乌头叶豇豆(*Vigna aconitifolia*) (Jacq.)Maréchal)、红小豆(赤豆(*Vigna angularis* (Willd.) Ohwi 和H.Ohashi)、黑绿豆(urd bean)(黑小豆(*Vigna mungo* (L.)Hepper)、绿豆(*Vigna radiata* (L.)R.Wilczek)、班巴拉豆(bambara groundnut)(*Vigna subterranea* (L.)Verdc.)、饭豆(赤小豆(*Vigna umbellata* (Thunb.) Ohwi和H.Ohashi))、野豇豆(*Vigna vexillata* (L.) A.Rich.)、豇豆(*Vigna unguiculata* (L.)Walp.)),划分成三个亚种:长豇豆、豇豆,小豇豆(catjang bean);木豆(*Cajanus cajan* (L.)Millsp.)、硬皮豆属(*Macrotyloma*) (包括geocarpa groundnut(*Macrotyloma geocarpum* (Harms)Maréchal和Baudet)、马齿豆(horse bean)(硬皮豆(*Macrotyloma uniflorum* (Lam.)Verdc.));翼豆(四棱豆(*Psophocarpus tetragonolobus* (L.)DC.))、非洲豆薯(*Sphenostylis stenocarpa* (Hochst.ex A.Rich.) Harms)、埃及黑豆(Egyptian black bean)、牛豆(dolichos bean)、白扁豆(lablab bean)(扁豆(*Lablab purpureus* (L.)Sweet)、豆薯(豆薯属(*Pachyrhizus*))、瓜尔豆(*Cyamopsis tetragonolobus* (L.)Taub.);和/或刀豆属(*Canavalia*) (包括直生刀豆(*Canavalia ensiformis* (L.)DC.))、刀豆(刀豆(*Canavalia gladiata* (Jacq.)DC.))。

[0429] 进一步优选的是选自菜豆、大豆、豌豆、车轴草、葛、紫花苜蓿、兵豆、羽扇豆、野豌豆和落花生的植物。最优选地,植物、植物部分或植物细胞是或衍生自大豆。

[0430] 优选地,本发明的转基因植物或通过本发明方法获得的植物是大豆植物并具有增加的针对柄锈菌目真菌性病原体(锈菌)、优选地层锈菌科真菌性病原体、更优选地针对层锈菌属真菌性病原体、最优选地针对豆薯层锈菌和山马蝗层锈菌(也称作大豆锈菌)的抗性。优选地,针对豆薯层锈菌和/或山马蝗层锈菌的抗性增加。

[0431] 用于产生转基因植物的方法

[0432] 本发明的一个实施方案提供一种用于产生抵抗真菌性病原体、优选地层锈菌科真菌性病原体,例如大豆锈菌的转基因植物、转基因植物部分或转基因植物细胞的方法,其中用来产生转基因植物的重组核酸包含在植物细胞中有功能的启动子,所述启动子与优选地是SEQ ID NO:2、3、6、4或1的MybTF核酸和终止子调节序列有效连接。

[0433] 在一个实施方案中,本发明涉及一种用于产生具有增加的真菌抗性的转基因植物、转基因植物部分或转基因植物细胞的方法,所述方法包括

[0434] (a) 将本发明的重组载体构建体引入植物、植物部分或植物细胞中,并且;

[0435] (b) 从植物、植物部分或植物细胞产生转基因植物。

[0436] 优选地,用于产生转基因植物、转基因植物部分或转基因植物细胞的方法还包括步骤

[0437] (c) 表达MybTF蛋白,所述MybTF蛋白优选地由核酸编码,所述核酸包含:

[0438] (i) 与SEQ ID NO:2、3、1、6、4、8、9-24、25、27、29、31、33、35、37、39、41、43、45、47、

49、51、53或55具有至少70%同一性的外源核酸、其功能性片段、其直向同源物或旁系同源物、或其剪接变体；

[0439] (ii) 编码蛋白质、或其功能性片段、其直向同源物或旁系同源物的外源核酸，所述蛋白质包含与SEQ ID NO:7、5、26、28、30、32、34、36、38、40、42、44、46、48、50、52、54或56具有至少70%序列同一性的氨基酸序列；优选地相对于对照植物，编码的蛋白质赋予增强的真菌抗性；

[0440] (iii) 外源核酸，其能够与根据(i)或(ii)的任一个核酸的互补序列在严格条件下杂交；优选地编码MybTF蛋白；优选地其中所述核酸分子编码与SEQ ID NO:7或5中所述的多肽具有基本上相同特性的多肽；优选地相对于对照植物，编码的蛋白质赋予增强的真菌抗性；和/或由以下核酸编码

[0441] (iv) 编码与上文(i)至(iii)的核酸编码的相同的MybTF蛋白，但因遗传密码简并性而与上文(i)至(iii)的核酸不同的外源核酸。

[0442] 优选地，所述引入和表达不包括基本上生物的过程。

[0443] 更优选地，用于产生转基因植物、转基因植物部分或转基因植物细胞的方法还包括步骤

[0444] (c) 表达MybTF蛋白，所述MybTF蛋白优选地由以下核酸编码：

[0445] (i) 与SEQ ID NO:1具有至少70%同一性的外源核酸、其功能性片段、其直向同源物或旁系同源物、或其剪接变体；

[0446] (ii) 编码蛋白质、或其功能性片段、其直向同源物或旁系同源物的外源核酸，所述蛋白质与SEQ ID NO:7或5具有至少70%序列同一性；优选地相对于对照植物，编码的蛋白质赋予增强的真菌抗性；

[0447] (iii) 外源核酸，其能够与根据(i)或(ii)的任一个核酸的互补序列在严格条件下杂交；优选地编码MybTF蛋白；优选地其中所述核酸分子编码与SEQ ID NO:7或5中所述的多肽具有基本上相同特性的多肽；优选地相对于对照植物，编码的蛋白质赋予增强的真菌抗性；和/或由以下核酸编码

[0448] (iv) 编码与上文(i)至(iii)的核酸编码的相同的MybTF蛋白，但因遗传密码简并性而与上文(i)至(iii)的核酸不同的外源核酸。

[0449] 更优选地，用于产生转基因植物、转基因植物部分或转基因植物细胞的方法还包括步骤

[0450] (c) 表达MybTF蛋白，所述MybTF蛋白优选地由以下核酸编码：

[0451] (i) 与SEQ ID NO:2或6具有至少70%同一性的外源核酸、其功能性片段、其直向同源物或旁系同源物、或其剪接变体；

[0452] (ii) 编码蛋白质、或其功能性片段、其直向同源物或旁系同源物的外源核酸，所述蛋白质与SEQ ID NO:7具有至少70%序列同一性；优选地相对于对照植物，编码的蛋白质赋予增强的真菌抗性；

[0453] (iii) 外源核酸，其能够与根据(i)或(ii)的任一个核酸的互补序列在严格条件下杂交；优选地编码MybTF蛋白；优选地其中所述核酸分子编码与SEQ ID NO:7中所述的多肽具有基本上相同特性的多肽；优选地相对于对照植物，编码的蛋白质赋予增强的真菌抗性；和/或由以下核酸编码

[0454] (iv) 编码与上文(i)至(iii)的核酸编码的相同的MybTF蛋白,但因遗传密码简并性而与上文(i)至(iii)的核酸不同的外源核酸。

[0455] 更优选地,用于产生转基因植物、转基因植物部分或转基因植物细胞的方法还包括步骤

[0456] (c) 表达MybTF蛋白,所述MybTF蛋白优选地由以下核酸编码:

[0457] (i) 与SEQ ID NO:3或4具有至少70%同一性的外源核酸、其功能性片段、其直向同源物或旁系同源物、或其剪接变体;

[0458] (ii) 编码蛋白质、或其功能性片段、其直向同源物或旁系同源物的外源核酸,所述蛋白质与SEQ ID NO:5具有至少70%序列同一性;优选地相对于对照植物,编码的蛋白质赋予增强的真菌抗性;

[0459] (iii) 外源核酸,其能够与根据(i)或(ii)的任一个核酸的互补序列在严格条件下杂交;优选地编码MybTF蛋白;优选地其中所述核酸分子编码与SEQ ID NO:5中所述的多肽具有基本上相同特性的多肽;优选地相对于对照植物,编码的蛋白质赋予增强的真菌抗性;和/或由以下核酸编码

[0460] (iv) 编码与上文(i)至(iii)的核酸编码的相同的MybTF蛋白,但因遗传密码简并性而与上文(i)至(iii)的核酸不同的外源核酸。

[0461] 优选地,用于产生转基因植物、转基因植物部分或转基因植物细胞的方法还包括步骤:选择表达以下核酸的转基因植物

[0462] (i) 与SEQ ID NO:2、3、1、6、4、8、9-24、25、27、29、31、33、35、37、39、41、43、45、47、49、51、53或55具有至少70%序列同一性、至少80%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%同一性或甚至100%序列同一性的外源核酸,或其功能性片段、或其直向同源物或旁系同源物、或其剪接变体;

[0463] (ii) 编码蛋白质的外源核酸、其功能性片段、其直向同源物或旁系同源物,所述蛋白质与SEQ ID NO:7、5、26、28、30、32、34、36、38、40、42、44、46、48、50、52、54或56具有至少70%序列同一性、至少80%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%序列同一性或甚至100%序列同一性;优选地相对于对照植物,编码的蛋白质赋予增强的真菌抗性;

[0464] (iii) 外源核酸,其能够与根据(i)或(ii)的任一个核酸的互补序列在严格条件下杂交;优选地编码MybTF蛋白;优选地其中所述核酸分子编码与SEQ ID NO:7或5中所述的多肽具有基本上相同特性的多肽;优选地相对于对照植物,编码的蛋白质赋予增强的真菌抗性;和/或

[0465] (iv) 编码与上文(i)至(iii)的核酸编码的相同的MybTF多肽,但因遗传密码简并性而与上文(i)至(iii)的核酸不同的外源核酸。

[0466] 优选地,用于产生转基因植物、转基因植物部分或转基因植物细胞的方法额外地包括收获转基因植物的种子并种植种子以及将种子培育成植物的步骤,其中培育的植物包含

[0467] (i) 与SEQ ID NO:2、3、1、6、4、8、9-24、25、27、29、31、33、35、37、39、41、43、45、47、49、51、53或55具有至少70%同一性的外源核酸,或其功能性片段、其直向同源物或旁系同源物、或其剪接变体;

[0468] (ii) 编码蛋白质、或其功能性片段、其直向同源物或旁系同源物的外源核酸,所述

蛋白质包含与SEQ ID NO:7、5、26、28、30、32、34、36、38、40、42、44、46、48、50、52、54或56具有至少70%序列同一性的氨基酸序列;优选地相对于对照植物,编码的蛋白质赋予增强的真菌抗性;

[0469] (iii) 外源核酸,其能够与根据(i)或(ii)的任一个核酸的互补序列在严格条件下杂交;优选地编码MybTF蛋白;优选地其中所述核酸分子编码与SEQ ID NO:7或5中所述的多肽具有基本上相同特性的多肽;优选地相对于对照植物,编码的蛋白质赋予增强的真菌抗性;和/或

[0470] (iv) 编码与上文(i)至(iii)的核酸编码的相同的MybTF蛋白,但因遗传密码简并性而与上文(i)至(iii)的核酸不同的外源核酸;

[0471] 优选地,收获转基因植物的种子并种植种子以及将种子培育成植物的步骤,其中培育的植物包含

[0472] (i) 与SEQ ID NO:2、3、1、6、4、8、9-24、25、27、29、31、33、35、37、39、41、43、45、47、49、51、53或55具有至少70%同一性的外源核酸,或其功能性片段、其直向同源物或旁系同源物、或其剪接变体;

[0473] (ii) 编码蛋白质、或其功能性片段、其直向同源物或旁系同源物的外源核酸,所述蛋白质包含与SEQ ID NO:7、5、26、28、30、32、34、36、38、40、42、44、46、48、50、52、54或56具有至少70%序列同一性的氨基酸序列;优选地相对于对照植物,编码的蛋白质赋予增强的真菌抗性;

[0474] (iii) 外源核酸,其能够与根据(i)或(ii)的任一个核酸的互补序列在严格条件下杂交;优选地编码MybTF蛋白;优选地其中所述核酸分子编码与SEQ ID NO:7或5中所述的多肽具有基本上相同特性的多肽;优选地相对于对照植物,编码的蛋白质赋予增强的真菌抗性;和/或

[0475] (iv) 编码与上文(i)至(iii)的核酸编码的相同的MybTF蛋白,但因遗传密码简并性而与上文(i)至(iii)的核酸不同的外源核酸;

[0476] 上述步骤重复多于一次,优选地1、2、3、4、5、6、、8、9、10、15、20、25、30、35、40、45或50次。

[0477] 转基因植物可以通过如上文所述的已知方法选择,例如,通过筛选由随MybTF基因一起共转移的植物可表达基因编码的一种或多种标志物的存在或通过直接筛选MybTF核酸。

[0478] 另外,使用外源MybTF核酸或包含MybTF核酸的重组载体构建体转化植物、植物部分或植物细胞以提供抗真菌植物、植物部分或植物细胞。

[0479] 可收获部分和产物

[0480] 本发明的转基因植物的可收获部分是本发明组成部分。优选地,可收获部分包含MybTF核酸或MybTF蛋白。可收获部分可以是包含MybTF核酸或MybTF蛋白的种子、根、叶和/或花或其部分。优选的大豆植物部分是包含MybTF核酸或MybTF蛋白的大豆。

[0481] 衍生自本发明转基因植物、其部分或其可收获部分的产物是本发明组成部分。优选的产物是饼粕或油,优选地,大豆粕(soybean meal)或大豆油。优选地,大豆粕和/或油包含MybTF核酸或MybTF蛋白。

[0482] 优选地,本发明转基因植物的可收获部分或从转基因植物衍生的产物包含外源核

酸分子,所述外源核酸分子由选自以下的核酸组成或包含所述核酸:

[0483] (i) 以增加的优选顺序与SEQ ID NO:2、3、1、6、4、8、9-24、25、27、29、31、33、35、37、39、41、43、45、47、49、51、53或55所代表的核酸序列具有至少70%、至少71%、至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%序列同一性的外源核酸、其功能性片段、衍生物、直向同源物或旁系同源物或其剪接变体;

[0484] (ii) 编码包含氨基酸序列的MybTF蛋白的外源核酸、或其功能性片段、衍生物、直向同源物或旁系同源物,所述氨基酸序列以增加的优选顺序与SEQ ID NO:7、5、26、28、30、32、34、36、38、40、42、44、46、48、50、52、54或56所代表的氨基酸序列具有至少70%、至少71%、至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%序列同一性;优选地,MybTF蛋白具有基本上与如SEQ ID NO:1、2、4或6编码的MybTF蛋白相同的生物活性;优选地相对对照植物,MybTF蛋白赋予增强的真菌抗性;

[0485] (iii) 外源核酸分子,所述外源核酸分子与根据(i)或(ii)的任一个核酸分子的互补序列在高严格性杂交条件下杂交;优选地编码MybTF蛋白;优选地其中所述核酸分子编码与SEQ ID NO:7或5中所述的多肽具有基本上相同特性的多肽;优选地相对于对照植物,编码的蛋白质赋予增强的真菌抗性;和

[0486] (iv) 编码与上文(i)至(iii)的MybTF核酸编码的相同的MybTF蛋白,但因遗传密码简并性而与上文(i)至(iii)的MybTF核酸不同的外源核酸。

[0487] 或其中转基因植物的可收获部分或从转基因植物衍生的产物包含由(i)至(iv)的任一MybTF核酸编码的MybTF蛋白。

[0488] 用于制造产物的方法

[0489] 在一个实施方案中,用于制造产物的方法包括

[0490] a) 培育本发明的或通过本发明方法可获得的植物并且

[0491] b) 从或借助本发明植物和/或这些植物的部分例如种子产生所述产物。

[0492] 在又一个实施方案中,所述方法包括步骤a) 培育本发明的植物,b) 从植物取出如上文定义的可收获部分和c) 从或借助本发明的可收获部分产生所述产物。

[0493] 优选地,通过所述方法获得的产物包括外源核酸分子,所述外源核酸分子由选自以下的核酸组成或包含所述核酸:

[0494] (i) 以增加的优选顺序与SEQ ID NO:2、3、1、6、4、8、9-24、25、27、29、31、33、35、37、39、41、43、45、47、49、51、53或55所代表的核酸序列具有至少70%、至少71%、至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%序列同一性的外源核酸、其功能性片段、衍生物、直向同源物或旁系

同源物或其剪接变体；

[0495] (ii) 编码包含氨基酸序列的MybTF蛋白的外源核酸、或其功能性片段、衍生物、直向同源物或旁系同源物，所述氨基酸序列以增加的优选顺序与SEQ ID NO:7、5、26、28、30、32、34、36、38、40、42、44、46、48、50、52、54或56所代表的氨基酸序列具有至少70%、至少71%、至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%序列同一性；优选地，MybTF蛋白具有基本上与如SEQ ID NO:1、2、4或6编码的MybTF蛋白相同的生物活性；优选地相对对照植物，MybTF蛋白赋予增强的真菌抗性；

[0496] (iii) 外源核酸分子，所述外源核酸分子与根据(i)或(ii)的任一个核酸分子的互补序列在高严格性杂交条件下杂交；优选地编码MybTF蛋白；优选地其中所述核酸分子编码与SEQ ID NO:7或5中所述的多肽具有基本上相同特性的多肽；优选地相对于对照植物，编码的蛋白质赋予增强的真菌抗性；和

[0497] (iv) 编码与上文(i)至(iii)的MybTF核酸编码的相同的MybTF蛋白，但因遗传密码简并性而与上文(i)至(iii)的MybTF核酸不同的外源核酸。

[0498] 或其中通过所述方法获得的产物包含由(i)至(iv)的任一MybTF核酸编码的MybTF蛋白。

[0499] 可以已经培育这种植物的地点产生产物，可以从已经培育有植物的地点取出植物和/或其部分以产生产物。一般而言，将植物培育，从植物取下所需的可收获部分，如果可行的话，以重复循环进行，并且从植物的可收获部分产生产物。培育植物的步骤可以每次在实施本发明的方法时仅进行仅一次，同时允许产物产生步骤重复多次，例如，通过反复取下本发明植物的可收获部分并且如果需要进一步加工这些部分以获得产物。还可以重复培育本发明植物的步骤并且贮藏植物或可收获部分直至随后对积累的植物或植物部分一次性进行产物的产生。另外，培育植物的步骤和产生产物步骤可以在时间上重叠地、甚至很大程度上同时地或依次地进行。通常，植物在产生产物之前的一些时间培育。

[0500] 在一个实施方案中，由本发明方法产生的产物是植物产物，如但不限于食品、饲料、食品补充物、饲料补充物、纤维、化妆品和/或药物。将食品视为用于营养和/或用于补充营养的组合物。将动物饲料并且尤其动物饲料补充物视为食品。

[0501] 在另一个实施方案中，用于生产的本发明方法用产生农产品，如但不限于植物提取物、蛋白质、氨基酸、碳水化合物、脂肪、油、聚合物、维生素等。

[0502] 植物产物可能很大程度由一种或多种农产品组成。

[0503] 用于育种的方法/用于改善植物的方法改/产生植物品种的方法

[0504] 使用已知植物育种方法，可以使本发明的转基因植物与相似的转基因植物或与缺少本发明核酸的转基因植物或非转基因植物杂交，以制备种子。进一步，本发明的转基因植物细胞或植物可以包括和/或杂交至包含一种或多种外源核酸的另一个转基因植物，因此在植物和/或其后代中产生转基因的“堆叠”。种子随后种植以获得包含MybTF核酸的杂交的能育转基因植物。杂交的能育转基因植物可以具有经雌性亲本或经雄性亲本遗传的特定表达盒。第二种植物可以是近交植物。杂交的能育转基因植物可以是杂种。在本发明中也包

括这些杂交的能育转基因植物中任意者的种子。本发明的种子可以从能育转基因植物收获并用来培育出本发明的转化植物的后代世代,包括包含外源核酸的杂交植物系。

[0505] 因此,本发明的一个实施方案是一种用于繁育抗真菌植物的方法,所述方法包括步骤

[0506] (a) 将本文所述的转基因植物或通过本文所述方法可获得的植物与第二植物杂交;

[0507] (b) 获得因(a)中所述杂交步骤产生的一粒种子或多粒种子;

[0508] (c) 种植所述种子或多粒种子并将所述种子或多粒种子培育成植物;并且

[0509] (d) 从所述植物选择表达MybTF蛋白的植物,所述MybTF蛋白优选地由核酸编码,所述核酸包含

[0510] (i) 与SEQ ID NO:2、3、1、6、4、8、9-24、25、27、29、31、33、35、37、39、41、43、45、47、49、51、53或55具有至少70%同一性的外源核酸、其功能性片段、其直向同源物或旁系同源物、或其剪接变体;

[0511] (ii) 编码蛋白质的外源核酸、或其功能性片段、其直向同源物或旁系同源物,所述蛋白质包含与SEQ ID NO:7、5、26、28、30、32、34、36、38、40、42、44、46、48、50、52、54或56具有至少70%序列同一性的氨基酸序列;优选地相对于对照植物,编码的蛋白质赋予增强的真菌抗性;

[0512] (iii) 外源核酸,其能够与根据(i)或(ii)的任一个核酸的互补序列在严格条件下杂交;优选地编码MybTF蛋白;优选地其中所述核酸分子编码与SEQ ID NO:7或5中所述的多肽具有基本上相同特性的多肽;优选地相对于对照植物,编码的蛋白质赋予增强的真菌抗性;和/或由以下核酸编码

[0513] (iv) 编码与上文(i)至(iii)的核酸编码的相同的MybTF蛋白,但因遗传密码简并性而与上文(i)至(iii)的核酸不同的外源核酸。

[0514] 另一个优选实施方案是一种用于改善植物的方法,所述方法包括

[0515] (a) 通过本发明的任何方法获得转基因植物;

[0516] (b) 在一个植物细胞中将与(a)的植物的至少一个植物细胞的遗传物质与至少一个细胞的遗传物质组合,所述至少一个细胞在一个或多个基因方面不同于(a)的植物的植物细胞,或使(a)的转基因植物与第二植物杂交;

[0517] (c) 从至少一株植物获得种子,所述至少一株植物从(b)的一个植物细胞或步骤(b)杂交的植物产生;

[0518] d) 种植所述种子并将种子培育成植物;并且

[0519] (e) 从所述植物选择表达编码MybTF蛋白的核酸的植物;并且任选地

[0520] (f) 从表达编码MybTF蛋白的核酸的植物产生繁殖材料。

[0521] 转基因植物可以通过如上文所述的已知方法(例如,通过筛选由随MybTF基因一起共转移的植物可表达基因编码的一种或多种标志物的存在或筛选MybTF核酸本身)选择。

[0522] 根据本发明,引入的MybTF核酸可以在植物细胞中稳定地维持,如果它并入非染色体的自主性复制子或整合至植物染色体中。无论是否存在于染色体外非复制型或复制型载体构建体或整合入染色体的载体构建体内,外源MybTF核酸均优选地位于植物表达盒中。植物表达盒优选地包含能够在植物细胞中驱动基因表达的调节序列,其中所述调节序列是功

能连接的,从而每种序列可以实现其功能,如通过多腺苷酸化信号终止转录。优选的多腺苷酸化信号是从根癌农杆菌t-DNA如Ti质粒pTiACH5 (Gielen等人,1984,EMBO J.3:835)的称作章鱼碱合酶的基因3或其功能性等同物起源的那些多腺苷酸化信号,而在植物中有功能活性的全部其它终止子也是合适的。由于植物基因表达极经常地在转录水平上不受限制,故植物表达盒优选地包含其它功能连接的序列,如翻译增强子,如过量驱动序列,其含有来自烟草花叶病毒的增加多肽/RNA比率的5' 非翻译性前导序列 (GaIne等人,1987, Nucl.Acids Research15:8693-8711)。植物表达载体的例子包括以下文献中详述的那些: Becker,D.等人,1992,New plant binary vectors with selectable markers located proximal to the left border,Plant Mol.Biol.20:1195-1197;Bevan,M.W.,1984, Binary Agrobacterium vectors for plant transformation,Nucl.Acid.Res.12:8711-8721;和Vectors for Gene Transfer in Higher Plants;引自:Transgenic Plants,第1卷,Engineering and Utilization,Kung和R.Wu编著,Academic Press,1993,S.15-38。

实施例

[0523] 以下实施例不意在显示本发明要求保护的范围,反而意在说明某些实施例。对于所列举方法,本领域普通技术人员能想到的变型均落入本发明的范围内。

[0524] 实施例1:一般方法

[0525] 可以例如按已知的方式,使用亚磷酸胺法 (Voet,Voet,第2版,Wiley PressNew York,第896-897页)影响寡核苷酸的化学合成。为本发明目的所实施的克隆步骤例如限制性切割、琼脂糖凝胶电泳、纯化DNA片段、转移核酸至硝化纤维素和尼龙膜、连接DNA片段、转化大肠杆菌细胞、细菌培养、噬菌体增殖和重组DNA的序列分析,如Sambrook等人,Cold Spring Harbor Laboratory Press (1989),ISBN 0-87969-309-6所述实施。重组DNA分子的测序用MWG-Licor激光荧光DNA测序仪,按照Sanger法 (Sanger等人, Proc.Natl.Acad.Sci.USA 74,5463 (1977))实施。

[0526] 实施例2:过量表达载体构建体的克隆

[0527] 通过DNA合成生成本申请中提到的MybTF基因的基因组DNA序列和优化cDNA (Geneart,雷根斯堡,德国)。

[0528] MybTF DNA (如SEQ ID NO:1中所示)以如此方式合成,从而PacI限制性位点位于起始ATG之前并且AscI限制性位点在终止密码子下游。将合成的DNA利用限制性酶PacI和AscI (NEB Biolabs)消化并以如此方式连接于PacI/AscI消化的Gateway pENTRY-B载体 (Invitrogen Life Technologies,Carlsbad,加利福尼亚州,美国),从而全长片段以有义方向位于欧芹遍在蛋白启动子和根癌农杆菌衍生的章鱼碱合酶终止子 (t-OCS) 之间。PcUbi启动子调节欧芹 (Petroselinum crispum)ubi4-2基因 (登录号X64345)的组成型表达 (Kawalleck等人,1993Plant Molecular Biology 21 (4):673-684)。

[0529] 为了获得双元植物转化载体,根据制造商的方案,通过使用空pENTRY-A载体、上述pENTRY-B载体中的PcUbi启动子::MybTF::OCS-终止子和空pENTRY-C,实施三重LR反应 (Gateway系统,Invitrogen Life Technologies,Carlsbad,加利福尼亚州,美国)。作为目标,使用双元pDEST载体,其组成如下: (1)用于细菌选择的壮观霉素/链霉素抗性盒, (2)用于在农杆菌中复制的pVS1复制起点, (3)用于大肠杆菌中稳定维持的ColE1复制起点,和 (4)

在右边界和左边界之间PcUbi-启动子控制下的AHAS选择盒(参见图2)。将重组反应转化入大肠杆菌(DH5α),微量制备并通过特异性限制酶切消化筛选。对来自每种载体构建体的阳性克隆测序并提交用于大豆转化。

[0530] 实施例3:大豆转化

[0531] 将表达载体构建体(参见实施例2)转化入大豆。

[0532] 3.1大豆种子消毒和萌发

[0533] 实际上,任何大豆品种的任何种子均可以用于本发明的方法中。多种大豆栽培品种(包括Jack、Williams82、Jake、Stoddard和Resnik)适于大豆转化。将大豆种子在密室中用氯气消毒,其中通过在具有紧密合适的盖子的干燥器中逐滴添加3.5ml 12N HCl至100ml漂白剂(5.25%次氯酸钠)中,产生所述氯气。在密室中24小时至48小时后,取出种子并且将大约18粒至20粒种子铺在100mm皮式培养皿中含有或不含5μM 6-苄基-氨基嘌呤(BAP)的固态GM培养基上。籽苗在无BAP的情况下更为延长,并且根发育,尤其次生根和侧根形成。通过形成更短和更矮壮的籽苗,BAP增强籽苗。

[0534] 在25℃于光照(>100μEinstein/m²s)下培育的7日龄籽苗用于三个外植体类型的外植体材料。此时,种皮裂开并且上胚轴连同单身复叶已经长出到至少子叶的长度。上胚轴应当是至少0.5cm以避免子叶-茎节组织(由于大豆栽培品种和种子批可能在发育的时间方面变动,所以对萌发阶段的描述比特定萌发时间更精确)。

[0535] 关于整株籽苗接种,参见方法A(实施例3.3.1和3.3.2)或关于叶外植体接种,参见方法B(实施例3.3.3)。

[0536] 对于方法C(参见例子3.3.4),从每株籽苗移除下胚轴和一个半子叶或者两片子叶的一部分。随后将籽苗置于增殖培养基上2周至4周。籽苗产生几个分枝以从中获得外植体。大部分外植体源自从顶芽长出的小植物。优选地使用这些外植体作为靶组织。

[0537] 3.2-农杆菌培养物的培育和制备

[0538] 通过以下方式制备农杆菌培养物:将携带所需双元载体的农杆菌(例如,根癌农杆菌或发根农杆菌(A.rhizogenes))(例如H.Klee、R.Horsch和S.Rogers, 1987Agrobacterium-Mediated Plant Transformation and its further Applications to Plant Biology;Annual Review of Plant Physiology第38卷:467-486)划线到固态YEP生长培养基(YEP培养基:10g酵母提取物,10g Bacto蛋白胨,5g NaCl,调节pH至7.0,并用H₂O补足终体积到1升,对于YEP琼脂平板,添加20g琼脂,高压灭菌)上并在25℃孵育直至菌落出现(约2日)。取决于Ti或Ri质粒上存在的选择标记基因、双元载体和细菌染色体,将不同的选择化合物用于YEP固态和液态培养基中的根癌农杆菌和发根农杆菌选择。多种农杆菌菌株可以用于该转化方法。

[0539] 在大约两天后,(以无菌牙签)挑取单菌落并接种到有抗生素的50ml液态YEP并以175转/分钟(25℃)振摇直至实现0.8-1.0之间的OD₆₀₀(大约2天)。制备用于转化的工作甘油贮藏物(15%)并将1ml农杆菌母液等分入1.5ml微量离心管中,随后贮存在-80℃。

[0540] 外植体接种之前当日,将200ml YEP用5μl至3ml农杆菌工作贮藏物于500ml锥形烧瓶中接种。将烧瓶在25℃振摇过夜直至OD₆₀₀在0.8和1.0之间。在制备大豆外植体之前,通过在20℃以5,500x g离心10分钟,沉淀农杆菌。将沉淀物重悬于液态CCM中至所需的密度(OD₆₀₀0.5-0.8)并在使用之前置于室温至少30分钟。

[0541] 3.3-外植体制备物和共培育(接种)

[0542] 3.3.1方法A:转化当日制备外植体。

[0543] 此时的籽苗具有从至少0.5cm的伸长的上胚轴,但是通常在0.5cm和2cm之间。已经成功地使用伸长至多4cm长度的上胚轴。随后在i) 具有或没有一些根的情况下,ii) 具有部分、一片或两片子叶的情况下制备外植体,移除全部预先形成的叶,包括顶端分生组织,并且使用锐利解剖刀,以数次切割弄伤位于第一组叶处的节。

[0544] 这种在节处的切口不仅诱导农杆菌感染,还分散叶腋分生组织细胞并损伤预先形成的苗。在弄伤和制备后,将外植体放置于皮式培养皿并随后与液态CCM/农杆菌混合物共培育30分钟。随后将外植体从液态培养基取出并铺在含有固态共培育培养基的15x 100mm培养板上的无菌滤纸顶部。如此放置受伤的靶组织,从而它们与培养基直接接触。

[0545] 3.3.2改进方法A:上胚轴外植体制备

[0546] 使用从4至8日龄籽苗制备的大豆上胚轴段作为再生和转化的外植体。大豆栽培品种L00106CN、93-41131和Jack的种子在具有或没有细胞分裂素的1/10MS盐或组成相似的培养基中萌发4日至8日。通过从茎段移除子叶节和茎节制备上胚轴外植体。将上胚轴切成2至5段。特别优选与包含叶腋分生组织的初生节或较高节连接的段。

[0547] 将这些外植体用于农杆菌感染。将携带具有目的基因(GOI)和AHAS、bar或dsdA选择标记基因的质粒的农杆菌AGL1在含适宜抗生素的LB培养基中培养过夜,收获并重悬于含乙酰丁香酮的接种培养基中。将新鲜制备的上胚轴段浸泡在农杆菌悬液中30至60分钟并随后将外植体在无菌滤纸上蘸干。将接种的外植体随后在含L-半胱氨酸和TTD及用于增加T-DNA递送的其他化学品如乙酰丁香酮的共培育培养基上培养2至4日。随后将感染的上胚轴外植体置于含选择剂如灭草烟(imazapyr)(用于AHAS基因)、草铵膦(glufosinate)(用于bar基因)或D-丝氨酸(用于dsdA基因)的苗诱导培养基上。再生的苗在含选择剂的伸长培养基上继代培养。

[0548] 为了再生转基因植物,将这些段随后在含细胞分裂素如BAP、TDZ和/或激动素用于诱导苗的培养基上培养。在4至8周后,将培养的组织转移至含较低浓度细胞分裂素用于苗伸长的培养基上。将伸长的苗转移至含植物生长激素用于生根和植物发育的培养基。再生多株苗。

[0549] 回收显示强烈cDNA表达的多个稳定转化的节段。从上胚轴外植体再生大豆植物。展示了高效T-DNA递送和稳定转化的节段。

[0550] 3.3.3方法B:叶外植体

[0551] 为了制备叶外植体,从下胚轴取下子叶。将子叶彼此分离并移除上胚轴。通过在托叶基部小心切割从上胚轴取下由叶片、叶柄和托叶组成的初生叶,从而外植体上包含叶腋分生组织。为了损伤外植体以及刺激苗的从头形成,移除任何预先形成的苗并且用锋利解剖刀切割托叶之间的区域3至5次。

[0552] 在外植体制备后立即将外植体完全浸没入或损伤的叶柄末端浸入农杆菌悬液中。在接种后,将外植体在无菌滤纸上蘸干以移走过多农杆菌培养物并且放置外植体,以损伤侧接触覆盖固态CCM培养基的7cm圆形Whatman纸(见上文)。这种滤纸防止根癌农杆菌在大豆外植体上过度生长。用Parafilm™“M”(American National Can,Chicago,Ill.,美国)包裹五块平板并且在25℃在暗处或亮处孵育三至五天。

[0553] 3.3.4方法C:增殖的叶腋分生组织

[0554] 为了制备增殖的叶腋分生组织外植体,使用增殖的3-4周龄小植物。叶腋分生组织外植体可以从第一至第四节制备。可以从每株籽苗获得平均三个至四个外植体。通过切割节间上腋生节下方0.5至1.0cm并从外植体移走叶柄和叶,从小植物制备外植体。其中存在叶腋分生组织的尖端用解剖刀切割以诱导苗的从头生长和允许农杆菌接近靶细胞。因此,0.5cm外植体包含茎和芽。

[0555] 一旦切割,将外植体立即置于农杆菌悬液中20至30分钟。在接种后,将外植体在无菌滤纸上蘸干以移走过多农杆菌培养物,随后取决于农杆菌菌株,将外植体放置几乎完全浸没于固态CCM中或置于覆盖固态CCM的7cm圆形滤纸顶部。这种滤纸防止农杆菌在大豆外植体上过度生长。用Parafilm™“M”(American National Can,Chicago,Ill.,美国)包裹平板并且在25℃在暗处孵育2至3天。

[0556] 3.4-苗诱导

[0557] 在暗处在25℃共培育3至5天后,将外植体在液态SIM培养基中清洗(以移走过多农杆菌)(SIM,参见Olhoft等人,2007A novel *Agrobacterium rhizogenes*-mediated transformation method of soy using primary-node explants from seedlings *In Vitro Cell.Dev.Biol.Plant* (2007) 43:536-549;以移走过多农杆菌)或Modwash培养基(1X B5主要盐,1X B5次要盐,1X MSIII铁,3%蔗糖,1X B5维生素,30mM MES,350mg/L特美汀™pH 5.6,W0 2005/121345)并在无菌滤纸上蘸干(以防止损伤,特别是在叶片上的损伤),之后安置在固态SIM培养基上。大约5个外植体(方法A)或10至20个(方法B和C)外植体如此安置,从而靶组织与培养基直接接触。在头两周期间,外植体可以在具有或没有选择培养基的情况下培养。优选地,将外植体转移到不含选择剂的SIM上1周。

[0558] 对于叶外植体(方法B),外植体应当如此置于培养基中,从而它垂直于培养基表面,同时叶柄埋入培养基且叶片伸出培养基。

[0559] 对于增殖的叶腋分生组织(方法C),外植体如此置于培养基中,从而它平行于培养基表面(向基),同时外植体部分地嵌入培养基中。

[0560] 用Scotch 394透气胶带(3M,St.Paul,Minn.,美国)包裹平板并且置于生长箱中2周,在18小时光照/6小时黑暗周期在70-100μE/m²s时温度平均为25℃。外植体保留在含有或者不含有选择剂的SIM培养基上直至苗的从头生长在目标区域出现(例如,上胚轴上方第一节处的叶腋分生组织)。可以在这个时间期间向新鲜培养基转移。约1周后,将外植体从含有或不含选择剂的SIM转移至含选择剂的SIM。在这个时间,在多种SIM(方法B)中叶外植体的叶柄基部处、对籽苗外植体而言在初生节(方法A)处并且对增殖的外植体而言在腋生茎节(方法C)处存在明显的苗的从头发育。

[0561] 优选地,移除转化之前形成的全部苗直至共培育后2周以刺激来自分生组织的新生长。这有助于减少原代转化体中的嵌合现象并增加转基因分生组织细胞的扩增。在这段时间期间,可以将或不将外植体切割成更小的片(即,通过切割上胚轴,使节从外植体脱离)。

[0562] 3.5-苗伸长

[0563] 在SIM培养基(优选地含选择剂)上2周至4周(或直至一簇苗形成)后,将外植体转移至刺激苗原基的苗伸长的SEM培养基(苗伸长培养基,参见Olhoft等人,2007A novel

Agrobacterium rhizogenes-mediated transformation method of soy using primary-node explants from seedlings. *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant* (2007) 43:536-549)。这种培养基可以含有或不含有选择剂。

[0564] 每2周至3周后,将外植体在仔细移除死亡组织后转移至新鲜的SEM培养基(优选地含有选择剂)。外植体应当聚拢在一起并且不分散成小片并或多或少地保留健康。将外植体继续转移直至外植体死亡或苗伸长。取出伸长>3cm的苗并置于RM培养基中约1周(方法A和B),或约2至4周,这取决于栽培品种(方法C)在何时开始形成根。在外植体有根的情况下,将它们直接转移至土壤中。将生根的苗转移至土壤并在生长箱中硬化2至3周,之后转移至温室。使用这种方法获得的再生的植物是能育的并且平均每株植物产生500粒种子。

[0565] 与根癌农杆菌共培育5日后,目的基因(GOI)瞬时表达在籽苗叶腋分生组织外植体上、尤其外植体制备期间弄伤的区域内扩散(方法A)。将外植体置于不含选择剂的苗诱导培养基中,以观察初生节怎样对苗诱导和再生作出反应。因此迄今,大于70%的外植体在这个区域形成新苗。GOI表达在SIM上14日后稳定,暗示T-DNA整合入大豆基因组中。此外,初步实验导致形成表达cDNA的苗,所述苗在SIM上3周后形成。

[0566] 对于方法C,使用增殖的叶腋分生组织方案时,大豆小植物的平均再生时间是从外植体接种起14周。因此,这种方法具有产生能育、健康大豆植物的快速再生时间。

[0567] 实施例4:病原体测定法

[0568] 4.1.植物的生长

[0569] 将每个事件10株T₁植物盆栽并在植物室中培育3-4周(16小时白天-8小时夜晚节律在16°C和22°C温度以及75%湿度)直至前2片具三叶的叶充分展开。

[0570] 4.2接种

[0571] 植物用豆薯层锈菌孢子接种。

[0572] 为了获得接种用的适宜孢子材料,在接种前2-3天取得15-20天前已经被锈菌感染的大豆叶并转移至琼脂平板(H₂O中的1%琼脂)。将叶以其上侧面在琼脂上的方式放置,这允许真菌生长透过组织并产生非常幼龄的孢子。对于接种溶液,将孢子从叶震落并添加至Tween-H₂O溶液。在光学显微镜下借助Thoma计数板进行孢子计数。为了接种植物,将孢子悬液加入到压缩空气推动的喷雾瓶并均匀施加到植物或叶上直至叶表面充分润湿。对于宏观测定法,我们使用孢子密度1-5x 10⁵个孢子/ml。对于显微术,使用>5x 10⁵个孢子/ml的密度。接种的植物置于平均22°C和>90%空气湿度的温室密室中24小时。在平均25°C和70%空气湿度的密室中进行后续栽培。

[0573] 实施例5:显微镜筛选:

[0574] 为了评价病原体发育,将植物的接种叶在感染后48小时用苯胺蓝染色。

[0575] 苯胺蓝染色起到检测荧光物质的作用。在宿主相互作用和非宿主相互作用中防御反应期间,物质如苯酚、胼胝质或木质素积累或产生并且在乳突中局部或在完整细胞中掺入细胞壁处(超敏反应,HR)。形成与苯胺蓝结合的复合物,例如在胼胝质情况下这导致黄色荧光。将叶材料转移至含有脱色液II(乙醇/乙酸6/1)的falcon管或皿中并在90°C的水浴中孵育10-15分钟。此后立即移除脱色液II,并将叶用水洗涤2次。对于染色,将叶在染色液II(0.05%苯胺蓝=甲基蓝,0.067M磷酸氢二钾)中孵育1.5-2小时并此后立即通过显微术分析。

[0576] 通过显微术评价(计数)不同的相互作用类型。使用Olympus UV显微镜B X 61(入射光)和UV长光程滤光片(激发:375/15,分光器:405LP)。在苯胺蓝染色后,孢子在UV光下显示蓝色。可以借助绿/黄染色在真菌附着胞下方识别乳突。超敏反应(HR)以完整细胞荧光为特征。

[0577] 实施例6:评价对大豆锈菌的敏感性

[0578] 通过估计叶背侧(离轴侧)上患病面积(被正在形成孢子的锈菌覆盖的面积)评定大豆锈菌病的进展情况。另外,考虑叶的黄化(关于方案,参见图1)。

[0579] 总计,表达MybTF蛋白的15株T₀大豆植物用豆薯层锈菌孢子接种。在接种后14日评定大豆对所接种大豆植物的豆薯层锈菌的宏观疾病症状。

[0580] 将全部叶上显示真菌菌落或强烈黄化/褐变的叶面积的百分数的平均数视为患病叶面积。平行于非转基因对照植物,总计评价表达MybTF(通过RT-PCR检查表达)的15个大豆T₀植物。使用与转基因植物平行培育的非转基因大豆植物作为对照。与野生型植物相比在图4中显示表达重组MybTF蛋白的植物的患病叶面积的平均数。与非转基因对照植物相比,在全部事件和生成的植物范围内,MybTF过量表达减少患病叶面积平均72.3%。该数据清楚显示,植物内表达MybTF表达载体构建体(参见图2)导致与非转基因对照相比转基因植物的较低疾病评分。因此,MybTF核酸(如SEQ ID NO:1中所示)在大豆中的表达显著地($p < 0.001$)增加大豆对大豆锈菌的抗性。

[0581] 实施例7:玉米表达盒的结构

[0582] 编码MYB-TF优化cDNA的核酸序列(如SEQ ID NO:2和SEQ ID NO:3中所示)以如此方式合成,从而AscI限制性位点位于起始ATG之前并且PstI限制性位点在终止密码子下游。将合成的cDNA利用限制性酶AscI和PstI(NEB Biolabs)消化并以如此方式连接于AscI/PstI消化的双元植物转化载体(描述见下文),从而全长Myb-TFcDNA以有义方向位于SCBV254启动子(甘蔗杆状病毒启动子片段ScBV-254)下游和t-nos终止子(来自根癌农杆菌的胭脂碱合酶的3'UTR)上游。来自稻Met1基因的内含子还克隆在该启动子和Myb-TF cDNA序列之间。

[0583] 作为主链,使用一种双元植物转化载体,其组成如下:(1)用于细菌选择的卡那霉素抗性盒,(2)农杆菌中的pVS1复制起点,(3)用于大肠杆菌中稳定维持的ColE1复制起点,和(4)在右边界和左边界之间ZmAHAS-启动子控制下作为选择标记的ZmAHAS基因。

[0584] 可以在文献中找到对双元植物转化载体的组分的综合描述。植物双元载体的例子是pBi-nAR(Höfgen和Willmitzer 1990,Plant Sci.66:221-230)、pSUN300或pSUN2-GW载体和pPZP载体(Hajdukiewicz等人,Plant Molecular Biology 25:989-994,1994)。

[0585] 使用标准条件,将含有Myb-TFcDNA表达盒的重组双元植物转化载体转化至Top10细胞(Invitrogen)中。将转化的细胞在含有50 μ g/ml卡那霉素的LB琼脂上在37 $^{\circ}$ C培育过夜选择。使用QIA离心柱微量制备试剂盒(Qiagen),遵循制造商的说明书提取质粒DNA。根据标准分子生物学技术进行后续克隆和限制性作图的分析(Sambrook等人,1989,“Molecular Cloning:A Laboratory Manual,”第2版,Cold Spring Harbor Laboratory Press,Cold Spring Harbor,NY)。

[0586] 实施例8:玉米转化

[0587] 将携带含有目的基因(见上文)和突变玉米AHAS基因的质粒的农杆菌细胞在补充

有适宜抗生素的YP培养基中培育1-2天。采集一个接种环的农杆菌细胞并悬浮在1.8ml M-LS-002培养基 (LS-inf) 中。将培养物以1,200转/分钟振摇时孵育5分钟-3小时。在授粉后8-11天收获玉米穗轴。将穗轴在20%Clorox溶液中消毒5分钟,随后用70%乙醇喷洒并且随后用无菌水彻底清洗。将大小0.8-2.0mm的不成熟胚剖取至含有在LS-inf溶液内含有农杆菌细胞的管中。

[0588] 通过从日本烟草农杆菌介导植物转化方法改进的方案(美国专利号5,591,616;5,731,179;6,653,529;和美国专利申请公开号2009/0249514),将构建体转化至不成熟的胚中。两种类型的质粒载体用于转化。一个类型的质粒在边界的左侧和右侧的每侧上仅具有一个T-DNA边界,并且选择标记基因和目的基因在左T-DNA边界和右T-DNA边界之间。另一个类型是所谓“双T-DNA构建体”,如日本烟草美国专利号5,731,179中所述。在两种DNA构建体中,选择标记基因位于一组T-DNA边界之间并且目的基因包含在第二组T-DNA边界之间。可以使用两种质粒载体的任一种。将质粒载体电穿孔至农杆菌中。

[0589] 通过颠倒该管几次实施胚的农杆菌感染。将混合物倾倒入含有共培育培养基(M-LS-011)的平板表面上的滤纸圆片上。将液态农杆菌溶液移除并且在显微镜下检查胚并使胚以盾片侧向上方式放置。将胚在暗处在22℃培养2-4天,并转移至不含选择剂的M-MS-101培养基并且孵育4至7天。随后将胚转移至含0.75μM咪草烟的M-LS-202培养基并在27℃培育3周以选择转化的愈伤组织细胞。

[0590] 通过转移抗性愈伤组织至补充有0.75μM咪草烟的M-LS-504培养基并在光照下在26℃生长2至3周,诱导植物再生。随后将再生的苗转移至含M-MS-618培养基(0.5μM咪草烟)的生根箱。将带根的小植物转移至土壤较少的盆栽混合物并在生长箱中培育1周,随后移栽到较大盆并在温室中维持直至成熟。

[0591] 转基因玉米植物的产生还例如在美国专利号5,591,616和6,653,529;美国专利申请公开号2009/0249514和W0/2006136596中描述,所述文献因而通过引用的方式完整并入。可以使用农杆菌转化法进行玉米的转化,如美国专利号5,591,616;5,731,179;美国专利申请公开号2002/0104132等中所述。玉米(*Zea Mays* L.)的转化也可以用Ishida等人(Nature Biotech., 1996, 14:745-750)描述的方法的改良形式进行。近交系A188(明尼苏达大学)或以A188作为亲本的杂种是用于转化的供体材料的良好来源(Fromm等人, Biotech, 1990, 8:833),不过其他基因型也可以成功地使用。从授粉后(DAP)大约11日的玉米植物收获穗,此时不成熟胚的长度是约1至1.2mm。将不成熟的胚与含有“超级二元载体”的根癌农杆菌共培育,并且通过器官发生回收转基因植物。在W0 94/00977和W0 95/06722中描述了超级二元载体系统。载体如所述那样构建。使用多种选择标记基因,包括编码突变乙酰羟酸合酶(AHAS)的玉米基因(美国专利号6,025,541)。类似地,多种启动子用来调节性状基因以提供对基因转录的组成型、发育性、诱导型、组织或环境性调节。可以利用切碎的胚并可以将它们在愈伤组织诱导培养基上培育,随后在含有咪唑啉酮作为选择剂的玉米再生培养基上培育。将皮式培养皿在25℃于光照下培养2-3周,或直至苗发育。将绿色苗从每个胚转移至玉米生根培养基并在25℃培养2-3周,直至根发育。将生根的苗移栽至温室中的土壤。从显示耐受咪唑啉酮除草剂并对转基因PCR阳性的植物产生T1种子。

[0592] 实施例9:镰孢霉和炭疽菌(*Colletotrichum*)抗性筛选

[0593] 将组成型SCBV254启动子(甘蔗杆状病毒启动子片段ScBV-254)控制下表达Myb-TF

cDNA (SEQ ID NO:2和SEQ ID NO:3)的转基因玉米植物在温室或植物室中标准生长条件下于受控环境(20-25℃,60-90%湿度)中培育。

[0594] 在转基因玉米植物进入生殖阶段不久后,使用镰孢霉或禾生炭疽菌孢子的真菌悬液(PBS溶液中 10^5 个孢子),靠近茎秆基部接种这些转基因玉米植物。将植物在处于20-25℃和60-90%湿度孵育2-4周。

[0595] 为了评定茎腐病,将茎秆劈开并通过观察真菌在茎秆向上生长时的特征性褐色至黑色,评定疾病进展情况。通过赋予目视评分实施疾病定级。每个实验评定超过10株转基因植物(和作为对照的野生型植物)的患病叶面积。为了分析,将非转基因母本植物的患病叶面积的平均数设定成100%以计算转基因系的相对患病叶面积。

[0596] Myb-TF基因的表达将导致玉米增强的镰孢霉和禾生炭疽菌抗性。

序列表

<110> 巴斯夫植物科学有限公司

<120>表达 MybTF 的抗真菌性植物

<130> PF 74753

<150> EP 13158321.3

<151> 2013-03-08

<160> 56

<170> BiSSAP 1.2

<210> 1

<211> 1187

<212> DNA

<213> 拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*)

[0001] <220>

<221> 来源

<222> 1..1187

<223> /生物="拟南芥"
/注释="MybTF 基因的核苷酸序列"
/mol_类型="未指定 DNA"

<400> 1

atgaagatgg atttttcatg tttccaagaa tacccttttg agtttcattg cagaggaaca 60

acatttaatg ggtttagaga aaacaatgca gtgtctgaaa cagtagaaga gttctgtaat 120

aaaagaagga tgcagaagaa gagtgatgat ttgaaaacta agaagaagaa gaaacagagt 180

gtttctaggg tttgtagtag aggacattgg aggatctctg aagatactca gcttatggag 240

cttgtttcgg tttacggtcc tcaaaactgg aaccacattg cagagagtat gcaaggaaga 300

acaggtaacg acaaaaattg aaatctttaa tcttccctta gctaattccg gaacatgaaa 360

cttacaatgt tttttcttgc ttcttttgtt tttgtcttaa aggaaagagc tgcagattga 420

ggtggtttta ccagtttagat ccgaggatta acaagagagc tttcagtgat gaagaagaag 480

	agagactact tgctgctcat agagcttttg gtaacaaatg ggctatgatt gctaagcttt	540
	tcaatggaag aacagataat gccttgaaga atcattggca tgttctcatg gcaaggaaga	600
	tgagacagca atcaagttct tacgtccaaa gattcaatgg ttctgctcat gaatctaaca	660
	cagatcacaa aatcttcaat ctttctcctg gtttgtctct tcttacctta cacatatgca	720
	ttgagtttaa ctctgttatt gtaatgagat actttcgata tttatcactc aggaacaatg	780
	aacttatggg ttggtcacaa aagtagtcag attgcaagtt tggtagtct ttaagtttca	840
	tggttctgtg tgttcttgca ggtaatgtag atgatgatga agatgtgaat ctgaaaaagt	900
	gcagctggga aatgctaaaa gagggaaacta ctaacctgaa agctcagtat ctccaagaag	960
	aatatagttc ttcacgcatg ccgatgcagg gtccacatca tcactactca accttcctg	1020
	cagattcctt ggcactgaca ctgcatgtct ccatccagga accatcatca tcatcgatcat	1080
	tatcactgcc atcatcatca acaactggag aacatacaat ggtgaccaga tattttgaaa	1140
[0002]	ccattaaacc tccagcattt atagattttc taggagttgg tcactaa	1187

<210> 2

<211> 708

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<222> 1..708

<223> /生物="人工序列"

/注释="为了在大豆中优化表达, 其是密码子优化的"

/mol_类型="未指定 DNA"

<400> 2

atgaagatgg acttttagctg ctttcaagag tacccttcg agtttctactg taggggcaact 60

acctttaacg gcttttagaga gaacaacgcc gtttagcgaga ctgtggaaga gttctgtaac 120

aagcgtagga tgcagaagaa gtcagacgac ctttaagacta agaagaagaa gaaacagtca 180

	gttagtaggg tgtgctctag gggccattgg aggattagtg aggatactca gctcatggaa	240
	ctcgtttcag tttacggacc tcagaactgg aatcatattg ccgagtctat gcaaggtagg	300
	accggtaaaga gttgtaggct tcgttggttt aatcagctcg accctaggat taacaagagg	360
	gccttttagtg acgaagagga agagaggctt cttgctgctc acagggtttt cggtacaag	420
	tgggctatga tcgctaagct ctttaacggt aggaccgata acgcccttaa gaatcactgg	480
	cacgtgctca tggttaggaa gatgaggcaa cagagttcta gctacgttca gaggtttaac	540
	ggctcagctc acgagtctaa caccgatcac aagatcttta accttagccc aggccttagc	600
	ctcctaacc cttcatatctg tatcgagttt aactcagtga tcgtgatgag atactttaga	660
	taccttagcc ttaggaacaa cgagctgatg gtgtgggtcac agaagtga	708
[0003]	<210> 3	
	<211> 918	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<222> 1..918	
	<223> /生物="人工序列"	
	/注释="为了在大豆中优化表达, 其是密码子优化的"	
	/mol_类型="未指定 DNA"	
	<400> 3	
	atgaagatgg acttttagctg ctttcaagag tacccttcg agtttactg taggggact	60
	acctttaacg gcttttagaga gaacaacgcc gttagcgaga ctgtggaaga gttctgtaac	120
	aagcgtagga tgcagaagaa gtcagacgac cttagacta agaagaagaa gaaacagtca	180
	gttagtaggg tgtgctctag gggccactgg cgtattagtg aggatactca gctaatggaa	240
	ctagtttcag tctacggccc tcagaactgg aatcatatag ccgagtctat gcagggtagg	300
	accggtaaagt cttgtaggct tcgttggttt aatcagctag accctaggat taacaagcgc	360

gccttttagtg acgaagagga agagagacta ctagccgctc acagggcttt cggtacaag	420
tgggctatga tagctaagct ctttaacggt aggaccgata acgcccttaa gaatcactgg	480
cacgtgctaa tggctaggaa gatgaggcag cagagttcta gctacgttca gcgctttaac	540
ggatcagctc acgagtctaa caccgatcac aagatcttta accttagccc cggtaacgtg	600
gacgacgacg aggacgttaa ccttaaaaag tgcagttggg agatgcttaa agagggcact	660
actaacctta aggctcagta cttcaagaa gagtactcta gctctaggat gcctatgcag	720
ggacctcacc accactactc taccttccca gctgatagcc tagctctaac ctttcacgtt	780
agtattcaag agcctagcag ttctagtagc cttagcctac ctagcagttc aactaccggt	840
gagcacacta tggtcactag atacttcgag actattaagc cccagcctt tatagacttt	900
ctaggcgttg gtcactaa	918

[0004]

<210> 4

<211> 918

<212> DNA

<213> 拟南芥

<220>

<221> 来源

<222> 1..918

<223> /生物="拟南芥"

/注释=" MybTF 基因的第二 CDS (CDS2)序列的核苷酸序列 (At3g29020.2) "

/mol_类型="未指定 DNA"

<400> 4

atgaagatgg atttttcatg ttccaagaa tacccttttg agtttcattg cagaggaaca 60

acatttaatg ggtttagaga aaacaatgca gtgtctgaaa cagtagaaga gttctgtaat 120

aaaagaagga tgcagaagaa gagtgatgat ttgaagacta agaagaagaa gaaacagagt 180

gtttctaggg ttgtagtag aggacattgg aggatctctg aagatactca gcttatggag 240

cttgtttcgg tttaacgtcc tcaaaactgg aaccacattg cagagagtat gcaaggaaga 300

```

acaggaaaga gctgcagatt gaggtggttt aaccagttag atccgaggat taacaagaga      360

gctttcagtg atgaagaaga agagagacta cttgctgctc atagagcttt tggtaacaaa      420

tgggctatga ttgctaagct tttcaatgga agaacagata atgccttgaa gaatcattgg      480

catgttctca tggcaaggaa gatgagacag caatcaagtt cttacgtcca aagattcaat      540

ggttctgctc atgaatctaa cacagatcac aaaatcttca atctttctcc tggtaatgta      600

gatgatgatg aagatgtgaa tctgaaaaag tgcagctggg aaatgctaaa agagggaact      660

actaacctga aagctcagta tctccaagaa gaatatagtt cttcacgcat gccgatgcag      720

gggccacatc atcactactc aaccttcctt gcagattcct tggcactgac actgcatgtc      780

tccatccagg aacctcatc atcatcgtca ttatcactgc catcatcatc aacaactgga      840

gaacatacaa tggtgaccag atattttgag accattaaac ctccagcatt tatagatttt      900

ctaggagtgg gtcactaa                                     918

```

[0005]

<210> 5

<211> 305

<212> PRT

<213> 拟南芥

<220>

<223> 衍生自 CDS2 核苷酸序列的 MybTF 蛋白质的氨基酸序列(

<400> 5

Met Lys Met Asp Phe Ser Cys Phe Gln Glu Tyr Pro Phe Glu Phe His

1 5 10 15

Cys Arg Gly Thr Thr Phe Asn Gly Phe Arg Glu Asn Asn Ala Val Ser

20 25 30

Glu Thr Val Glu Glu Phe Cys Asn Lys Arg Arg Met Gln Lys Lys Ser

35 40 45

Asp Asp Leu Lys Thr Lys Lys Lys Lys Gln Ser Val Ser Arg Val

50 55 60

Cys Ser Arg Gly His Trp Arg Ile Ser Glu Asp Thr Gln Leu Met Glu

65 70 75 80

Leu Val Ser Val Tyr Gly Pro Gln Asn Trp Asn His Ile Ala Glu Ser

85 90 95

```

Met Gln Gly Arg Thr Gly Lys Ser Cys Arg Leu Arg Trp Phe Asn Gln
      100              105              110
Leu Asp Pro Arg Ile Asn Lys Arg Ala Phe Ser Asp Glu Glu Glu Glu
      115              120              125
Arg Leu Leu Ala Ala His Arg Ala Phe Gly Asn Lys Trp Ala Met Ile
      130              135              140
Ala Lys Leu Phe Asn Gly Arg Thr Asp Asn Ala Leu Lys Asn His Trp
      145              150              155              160
His Val Leu Met Ala Arg Lys Met Arg Gln Gln Ser Ser Ser Tyr Val
      165              170              175
Gln Arg Phe Asn Gly Ser Ala His Glu Ser Asn Thr Asp His Lys Ile
      180              185              190
Phe Asn Leu Ser Pro Gly Asn Val Asp Asp Asp Glu Asp Val Asn Leu
      195              200              205
Lys Lys Cys Ser Trp Glu Met Leu Lys Glu Gly Thr Thr Asn Leu Lys
      210              215              220
Ala Gln Tyr Leu Gln Glu Glu Tyr Ser Ser Ser Arg Met Pro Met Gln
      225              230              235              240
Gly Pro His His His Tyr Ser Thr Phe Pro Ala Asp Ser Leu Ala Leu
      245              250              255
Thr Leu His Val Ser Ile Gln Glu Pro Ser Ser Ser Ser Ser Leu Ser
[0006]      260              265              270
Leu Pro Ser Ser Ser Thr Thr Gly Glu His Thr Met Val Thr Arg Tyr
      275              280              285
Phe Glu Thr Ile Lys Pro Pro Ala Phe Ile Asp Phe Leu Gly Val Gly
      290              295              300
His
      305

```

<210> 6

<211> 702

<212> DNA

<213> 拟南芥

<220>

<221> 来源

<222> 1..702

<223> /生物="拟南芥"

/注释=" MybTF 基因的第一 CDS (CDS1)序列的核苷酸序列 (At3g29020.1) "

/mol_类型="未指定 DNA"

<400> 6

atggattttt catgtttcca agaataccct tttgagtttc attgcagagg aacaacattt

60


```

aatgggttta gagaaaacaa tgcagtgtct gaaacagtag aagagttctg taataaaaga      120

aggatgcaga agaagagtga tgatttgaag actaagaaga agaagaaaca gagtgtttct      180

agggtttgta gtagaggaca ttggaggatc tctgaagata ctcagcttat ggagcttggt      240

tcggtttacg gtcctcaaaa ctggaaccac attgcagaga gtatgcaagg aagaacagga      300

aagagctgca gattgaggtg gtttaaccag ttagatccga ggattaacaa gagagctttc      360

agtgatgaag aagaagagag actacttgct gctcatagag cttttggtaa caaatgggct      420

atgattgcta agcttttcaa tggaagaaca gataatgcct tgaagaatca ttggcatggt      480

ctcatggcaa ggaagatgag acagcaatca agttcttacg tccaaagatt caatggttct      540

gctcatgaat ctaacacaga tcacaaaatc ttcaatcttt ctcctggttt gtctcttctt      600

accttacaca tatgcattga gtttaactct gttattgtaa tgagatactt tcgatattta      660

tcactcagga acaatgaact tatggtttgg tctcaaaagt ag                          702

```

[0007]

<210> 7

<211> 233

<212> PRT

<213> 拟南芥

<220>

<223> 衍生自 CDS1 核苷酸序列的 MybTF 蛋白质

<400> 7

```

Met Asp Phe Ser Cys Phe Gln Glu Tyr Pro Phe Glu Phe His Cys Arg
1           5           10           15
Gly Thr Thr Phe Asn Gly Phe Arg Glu Asn Asn Ala Val Ser Glu Thr
          20           25           30
Val Glu Glu Phe Cys Asn Lys Arg Arg Met Gln Lys Lys Ser Asp Asp
          35           40           45
Leu Lys Thr Lys Lys Lys Lys Gln Ser Val Ser Arg Val Cys Ser
          50           55           60
Arg Gly His Trp Arg Ile Ser Glu Asp Thr Gln Leu Met Glu Leu Val
65           70           75           80
Ser Val Tyr Gly Pro Gln Asn Trp Asn His Ile Ala Glu Ser Met Gln
          85           90           95

```

Gly Arg Thr Gly Lys Ser Cys Arg Leu Arg Trp Phe Asn Gln Leu Asp
 100 105 110
 Pro Arg Ile Asn Lys Arg Ala Phe Ser Asp Glu Glu Glu Glu Arg Leu
 115 120 125
 Leu Ala Ala His Arg Ala Phe Gly Asn Lys Trp Ala Met Ile Ala Lys
 130 135 140
 Leu Phe Asn Gly Arg Thr Asp Asn Ala Leu Lys Asn His Trp His Val
 145 150 155 160
 Leu Met Ala Arg Lys Met Arg Gln Gln Ser Ser Ser Tyr Val Gln Arg
 165 170 175
 Phe Asn Gly Ser Ala His Glu Ser Asn Thr Asp His Lys Ile Phe Asn
 180 185 190
 Leu Ser Pro Gly Leu Ser Leu Leu Thr Leu His Ile Cys Ile Glu Phe
 195 200 205
 Asn Ser Val Ile Val Met Arg Tyr Phe Arg Tyr Leu Ser Leu Arg Asn
 210 215 220
 Asn Glu Leu Met Val Trp Ser Gln Lys
 225 230

[0008] <210> 8

<211> 1340

<212> DNA

<213> 拟南芥

<220>

<221> 来源

<222> 1..1340

<223> /生物="拟南芥"

/注释="全长基因组 MybTF 序列的核苷酸序列 (TAIR 登陆号 4010724011)"

/mol_类型="未指定 DNA"

<400> 8

gtatatatga gacattagtt atagaagaga gactaacatg aagatggatt tttcatgttt 60

ccaagaatac ctttttgagt ttcattgcag aggaacaaca tttaatgggt ttagagaaaa 120

caatgcagtg tctgaaacag tagaagagtt ctgtaataaa agaaggatgc agaagaagag 180

tgatgatttg aagactaaga agaagaagaa acagagtgtt tctagggttt gtagtagagg 240

acattggagg atctctgaag atactcagct tatggagctt gtttcggttt acggtectca 300

aaactggaac cacattgcag agagtatgca aggaagaaca ggtaacgaca aaaattgaaa 360

tctttaatct tcccttagct aattccggaa catgaaactt acaatgtttt ttcttgcttc	420
tttgtgtttt gtcttaaagg aaagagctgc agattgaggt ggtttaacca gttagatccg	480
aggattaaca agagagcttt cagtgatgaa gaagaagaga gactacttgc tgctcataga	540
gcttttggtt acaaatgggc tatgattgct aagcttttca atggaagaac agataatgcc	600
ttgaagaatc attggcatgt tctcatggca aggaagatga gacagcaatc aagttcttac	660
gtccaaagat tcaatggttc tgctcatgaa tctaacacag atcacaaaat cttcaatctt	720
tctcctgggt tgtctcttct taccctacac atatgcattg agtttaactc tgttattgta	780
atgagatact ttcgatattt atcactcagg aacaatgaac ttatggtttg gtctcaaaag	840
tagtcagatt gcaagtttgg tgagtcttta agtttcattg ttctgtgtgt tcttgtaggt	900
aatgtagatg atgatgaaga tgtgaatctg aaaaagtgca gctgggaaat gctaaaagag	960
ggaactacta acctgaaagc tcagtatctc caagaagaat atagttcttc acgcatgccg	1020
[0009] atgcagggtc cacatcatca ctactcaacc ttccctgcag attccttggc actgacactg	1080
catgtctcca tccaggaacc atcatcatca tcgtcattat cactgccatc atcatcaaca	1140
actggagaac atacaatggt gaccagatat tttagacca ttaaaccctc agcatttata	1200
gattttctag gagtttgtca ctaaagctct aacatttaga gtgggaacta atcaagaagt	1260
tgcttactcc tgctattatt atcaaagtct ctgacttttc ttttgtagc cattaacatg	1320
acaagctaaa gacatcaagt	1340

<210> 9

<211> 708

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<222> 1..708

<223> /生物="人工序列"

/注释=" MybTF 的核苷酸序列, 变体 1"

/mol_类型="未指定 DNA"

<400> 9

atgaaaatgg atttcagttg tttccaggaa tatecttttg aattccattg ccgagggacg	60
acattcaatg gattccggga aaataatgcg gtatcggaac cggtggagga attttgcaat	120
aaaagacgaa tgcaaaaaaa atctgatgat ctaaaaacga aaaaaaaaaa gaagcaaagt	180
gtcagccgag tttgttcccg gggacactgg cgcatacttg aagacacgca attgatggag	240
ctagtctctg tctatggacc acaaaattgg aaccacatcg cggaatccat gcagggacga	300
acagggaat cctgccggtc cagatggttc aaccaattgg atccacgtat caacaaacgt	360
gcgttctctg atgaggaaga ggaacgtctc ttagcagcgc atcgggcctt tgggaataaa	420
tgggcaatga ttgcaaaatt attcaatggg cgtactgaca atgcgttgaa aaaccactgg	480
catgtgttga tggcgcgtaa aatgagacag caatcctcgt cttatgtcca acggttcaat	540
ggatccgcac atgaatcgaa tacggacatc aaaatattca atttatctcc tgggttgtcg	600
cttttgacgc tacacatttg catagaattc aattcggtta ttgtcatgag atatttcagg	660
tatctgtctt tacgcaataa tgaaatgatg gtatggtctc aaaaatag	708

[0010]

<210> 10

<211> 708

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<222> 1..708

<223> /生物="人工序列"

/注释="MybTF 的核苷酸序列, 变体 2"

/mol_类型="未指定 DNA"

<400> 10

atgaaaatgg atttctctg tttccaggaa tatecttttg agttccattg cagggaacc	60
---	----

actttcaatg ggttccgaga aaataacgct gtctcagaaa cgtcgaaga attttgtaat	120
aaacgcagaa tgcaaaagaa atctgacgat ctcaaaacaa aaaagaagaa aaaacaatcc	180
gtatcccag tatgtccag agggcattgg cgaataagt aagatactca gttgatggag	240
ttagtgagcg tatatggacc tcagaattgg aaccacatcg cggaatcaat gcaggggaga	300
acgggaaaaa gctgccggt acgctggttc aatcagttgg atcctcgtat taataaaagg	360
gccttcagcg atgaggaaga ggaacgactc ctggctgcgc atcgggcatt cgaaataag	420
tgggcaatga ttgccaagtt gttcaacggt cggacggaca atgcccttaa aaaccattgg	480
cacgttctaa tggcgaggaa aatgcggcag caaagttcca gttatgtcca acgtttcaat	540
ggctccgcgc atgaatccaa tacagaccat aaaatattca atctatctcc aggcctgtct	600
ctattaacac tacacatatg cattgaattc aactccgtca tagttatgcg ttattttagg	660
tatttgtctt tacgcaataa tgaaatgatg gtatggagcc agaaatga	708

[0011]

<210> 11
 <211> 708
 <212> DNA
 <213> 人工序列

 <220>
 <221> 来源
 <222> 1..708
 <223> /生物="人工序列"
 /注释="MybTF 的核苷酸序列, 变体 3"
 /mol_类型="未指定 DNA"

<400> 11	
atgaagatgg atttcagttg tttccaggag tatccctttg aatttcattg tagagggact	60
acctttaacg ggttccgcga aaacaatgcc gtttccgaaa ccgtggagga gttttgtaat	120
aaacgtagaa tgcaaaaaaa aagcgacgat cttagacca aaaaaaaaaa gaagcagtc	180
gtgagccgcg tgtgttcaag gggccactgg cgtatcagtg aggacactca attaatggag	240

```

ctcgtatccg tatacggccc gcaaaattgg aatcatattg cagagtccat gcaggggaga      300

accggaaagt catgccgtct taggtggttc aaccaactag atcctcgaat aaataaacgg      360

gccttcagtg atgaggaaga ggaacggcta cttgctgccc acagggtttt tggaaataaa      420

tgggccatga ttgcaaagct cttcaatggc aggaccgaca atgcgttaaa aaaccattgg      480

catgtgctca tggtcggaa aatgagacaa caaagtagta gctatgttca gcgttcaat      540

ggcagtgtc atgaatcaaa cacggaccac aaaattttca attgtctcc tggectctct      600

ttactaacct tacacatttg tatcgaattc aatagcgtga tcgtcatgcg gtacttccgc      660

taccttagcc tcaggaacaa cgagctgatg gtttgggtcac aaaaatga      708

```

<210> 12

<211> 708

<212> DNA

<213> 人工序列

[0012]

<220>

<221> 来源

<222> 1..708

<223> /生物="人工序列"

/注释="MybTF 的核苷酸序列, 变体 4"

/mol_类型="未指定 DNA"

<400> 12

```

atgaaaatgg atttctcatg ctttcaggag tacccttcg aattccactg cagaggcacc      60

acattcaatg ggttcagaga gaacaacgcc gtctcggaga ctgtagaaga gttctgtaat      120

aaacggcgca tgcagaaaaa atcagacgat cttaagacca aaaagaagaa aaaacaatca      180

gttagtaggg ttgcagcag ggggcactgg cggattagtg aggatacgca gctgatggag      240

ctcgtctcgg tatatgttcc aaaaaactgg aaccatattg cggagtctat gcaggggcgg      300

acaggcaaga gttgtaggct tcgttggttt aatcaactcg atcctcgc at aaacaagcgg      360

gctttttcgg atgaagaaga ggagaggctt ctagctgtc accgggcctt cggtataaaa      420

```

	tgggcgatga tcgcgaagct cttcaatggt cgtaccgaca atgccctgaa gaatcattgg	480
	catgtgctca tggctcgtaa gatgaggcag cagagttcta gctacgtaca gcgcttcaat	540
	gggtcggtc acgagtccaa caccgatcat aaaatcttta accttagccc cgggctgagc	600
	ttattaacac tccatatttg tattgaattc aatagtgtga tcgtgatgag gtactttaga	660
	tacctgagtt tacggaataa cgagatgatg gtgtggtcac agaagtga	708
	<210> 13	
	<211> 708	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<222> 1..708	
	<223> /生物="人工序列"	
	/注释="MybTF 的核苷酸序列, 变体 5"	
[0013]	/mol_类型="未指定 DNA"	
	<400> 13	
	atgaagatgg actttagctg cttccaagaa tacccttcg aatttactg caggggtact	60
	acgttcaacg gctttagaga aaacaacgca gttagcgaaa ctgtggagga gttctgcaac	120
	aaacgtagga tgcagaagaa gtcagatgac ttgaaaacta aaaagaaaaa gaagcaaagc	180
	gttagtaggg tgtgttctag ggggcattgg aggatttccg aagatactca gctgatggag	240
	ctcgttagcg tttacggccc tcagaactgg aaccacattg ccgagtctat gcagggtagg	300
	accggaagt cctgtaggct tcgttggttt aatcagctcg accctaggat taacaagcgg	360
	gcttttagtg acgaggagga ggagaggctt ctagctgctc atcgggcttt cggtacaag	420
	tgggctatga tcgctaaatt attcaacggt cgtaccgata acgcccttaa gaaccattgg	480
	cacgtgctca tggcacgcaa gatgaggcag cagagttcta gctatgttca gaggtttaac	540
	ggctcagctc acgagtctaa cacagacat aagattttta atctgtcacc aggccttagt	600

	ctactaacct tacatatatg tattgagttt aatagcgtga tagtgatgag atattttaga	660
	taccttagcc taaggaacaa cgaactgatg gtctgggtcac aaaagtga	708
	<210> 14	
	<211> 708	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<222> 1..708	
	<223> /生物="人工序列"	
	/注释="MybTF 的核苷酸序列, 变体 6"	
	/mol_类型="未指定 DNA"	
	<400> 14	
	atgaagatgg acttttcctg ctttcaagag tacccttcg agtttcactg taggggcact	60
	acctttaacg gcttcagaga gaataacgca gttagcgaga ctgtagagga gttctgtaat	120
[0014]	aagcgtcgta tgcagaagaa gtcagatgac ctcaagacta agaagaagaa aaaacaaagt	180
	gtgagtaggg tgtgctctag gggccattgg aggatcagtg aggatacgca gctcatggag	240
	cttgtttcag ttacggacc tcaaaactgg aaccatatcg ccgaatctat gcaaggtagg	300
	accgtaaga gttgtaggct tcgttggttc aatcagctag acccgcgat caacaagagg	360
	gccttagtg acgaagagga agagaggett ttagctgctc acagggcatt tggtataaag	420
	tgggctatga tcgccaagtt gtttaacggt aggacggaca acgcgttaa gaatcactgg	480
	cacgtgctca tggcaaggaa gatgaggcaa caaagttctt catatgtcca gcgttttaat	540
	ggcagtgtc acgaatctaa caccgatcac aagatcttca accttagccc cgggcttagc	600
	ctcctaacc ttcacatctg tategagttc aacagcgtca tcgtgatgag atattttcgc	660
	taccttagcc ttaggaataa cgagctgatg gtgtgggtcac aaaaatga	708
	<210> 15	

<211> 708
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 来源
 <222> 1..708
 <223> /生物="人工序列"
 /注释="MybTF 的核苷酸序列, 变体 7"
 /mol_类型="未指定 DNA"

<400> 15
 atgaagatgg attttagctg ttccaagag tacccttcg agtttactg caggggcact 60
 accttcaacg gcttttagaga gaacaacgcc gtttagcgaga ctgtggaaga gttctgtaac 120
 aagcgtagga tgcagaaaaa gtcggacgac ctcaagacta aaaagaagaa gaaacagtca 180
 gtttagtaggg tgtgctcgag aggccattgg aggattagtg aggacacgca gctcatggaa 240
 ctcgtttcag tgtacggacc tcagaattgg aaccatattg cagagtctat gcaaggtagg 300
 [0015] actggtaaaa gttgcaggct tcgttggttt aaccagctcg atcctcgtat taacaagagg 360
 gccttttagtg acgaagagga agagaggett cttgctgctc acagggcttt cggaataag 420
 tgggctatga tcgctaagct cttaacggt aggaccgata acgctcttaa gaaccactgg 480
 cacgtactca tggctaggaa gatgaggcaa cagagttcta gctacgttca gaggtttaat 540
 ggctcggtc acgaatctaa cacggatcac aagatcttta acttgagccc aggccttagc 600
 ctctaacc tgcatactg tatcgagttt aactcagtga tcgtgatgag atactttaga 660
 taccttagcc ttaggaacaa cgaactgatg gtgtggtcgc agaagtga 708

<210> 16
 <211> 708
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 来源

<222> 1..708

<223> /生物="人工序列"

/注释="MybTF 的核苷酸序列, 变体 8"

/mol_类型="未指定 DNA"

<400> 16

atgaagatgg acttcagctg ctttcaagag tacccttcg agtttactg taggggcact 60

acctttaacg gcttcagaga gaacaacgcc gtttagcgaag ctgtggaaga gttctgtaac 120

aagcgtagga tgcagaagaa atcagacgac ctttaagacta agaagaagaa gaagcagtca 180

gttagtaggg tgtgctctag gggccattgg aggattagtg aggatactca gctgatggaa 240

ctcgtttcag tgtacggacc tcagaactgg aatcacattg ccgagtctat gcaaggtagg 300

accggtaagt cgtgtaggct tcgttggttt aatcagctcg accctcgat taacaagagg 360

gccttagtg acgaagagga agagaggctt ctagcagctc acagggcttt cggtacaag 420

tgggctatga tcgctaagct ctttaatggt aggaccgata atgcccttaa aaatcactgg 480

[0016]

catgtgctca tggctaggaa gatgaggcaa cagagttcta gctacgttca gcgctttaac 540

ggctcagctc acgagtctaa caccgatcac aagatcttta acctttctcc cggccttagc 600

ctcctaacc ttcatatctg tatcgagttt aattcagtga ttgtgatgag atactttaga 660

tacctaagcc ttaggaacaa cgagctgatg gtgtggtcac agaagtga 708

<210> 17

<211> 918

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<222> 1..918

<223> /生物="人工序列"

/注释="MybTF 的核苷酸序列, 变体 9"

/mol_类型="未指定 DNA"

<400> 17

	atgaaaatgg atttctcctg tttccaggaa tatccatttg aattccattg cagagggacc	60
	actttcaatg gcttcagaga aaataatgca gtatcagaaa ccgttgagga attttgcaat	120
	aaacgaagaa tgcaaaaaaa atccgatgat ctgaaaacca aaaaaaaaaa aaagcaatca	180
	gtgagccgcg tctgttctcg aggacattgg agaataagcg aagacacaca actcatggag	240
	ctggttaagcg tatatggacc gcaaaattgg aaccatattg ctgaatccat gcaaggcaga	300
	acaggcaaaa gttgccgtct gagatggttc aatcaattgg atccacgcat aaataaaagg	360
	gcgttcagcg atgaggaaga ggaaaggctt ctcgtgccc acagagcgtt tggcaataaa	420
	tgggcgatga ttgccaaatt gttcaatggc agaacggaca atgcattgaa aaaccattgg	480
	catgtcttaa tgccccgtaa aatgaggcaa caatcctcat cttatgtcca acgtttcaat	540
	ggcagcgcac atgaatccaa tacagaccat aaaatcttca atctatcgcc tggcaatggt	600
	gatgatgatg aagatgtaaa tctaaagaaa tgttcctggg aaatgctgaa ggaaggtaaa	660
[0017]	acgaatctaa aggccaata tctccaggag gaatatagtt ccagtcgaat gccaatgcaa	720
	ggccccgcatc atcattatlc cacttttccc gcggatagtt tggctcttac attacatgta	780
	tccatacagg aacctcttc gagctctcc ctgtcattac cgtcttcaag caccacaggg	840
	gaacatacga tggttacgag ttattttgaa acaataaaac cgccccggtt cattgatttc	900
	ttaggtgtgg ggcattag	918

<210> 18

<211> 918

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<222> 1..918

<223> /生物="人工序列"

/注释="MybTF 的核苷酸序列, 变体 10"

/mol_类型="未指定 DNA"

<400> 18	
atgaaaatgg acttcagttg tttccaagaa tatcctttcg aattccattg caggggcacc	60
acgtttaatg gcttcagaga gaataatgcg gtaagtgaaa ccgtcgagga attttgcaat	120
aaaagaagaa tgcaaaaaaa gagcgacgat ttaaaaacaa aaaagaaaaa aaagcaaagc	180
gtcagtcgtg tctgtagtcg cggacattgg cgtatctccg aagatacgca actcatggag	240
ctcgtctccg tgtatgggcc gcaaaattgg aaccatattg ccgaaagcat gcaaggacgt	300
accgggaaat cttgcagatt gcggtgggtc aaccagctcg atcctagaat aaataaacga	360
gccttctctg acgaggaaga ggaacgccta cttgcagcgc atagagcggt cggaataaaa	420
tggcgcatga ttgcgaagct ttttaatggg aggaccgata acgccttaaa aaatcattgg	480
catgtcttaa tggcgaggaa aatgcgtcaa caatcatcta gctatgtcca acggtttaat	540
ggttcggcgc atgaatcgaa tacagaccat aaaatattca atttgtcccc tggcaacgta	600
[0018] gatgatgatg aggatgttaa tctcaagaaa tgcagttggg agatgctaaa ggaaggacg	660
accaatttaa aagctcaata tttgcaagag gagtatagta gctcacgcat gcccattgca	720
ggccccacc accattattc gacgtttcca gcggatagtt tagcccttac attgcatgta	780
tccatacagg agcccagtag ctctctagtt ctctcgtgc cctctctctt aaccacggga	840
gaacatacca tggttacgcg ttattttgaa acgatcaagc ccccggtttt cattgatttc	900
ctgggagtcg gtcattaa	918
<210> 19	
<211> 918	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<221> 来源	
<222> 1..918	
<223> /生物="人工序列"	

/注释="MybTF 的核苷酸序列, 变体 11"

/mol_类型="未指定 DNA"

<400> 19

atgaaaatgg atttcagctg tttccaggaa taccctttg aatttcactg taggggcact	60
acgtttaatg gcttcagaga aaataatgct gtttcggaga ccgtagaaga attttgcaat	120
aaacgccgga tgcaaaagaa aagtgatgac ttgaaaacga agaagaaaaa aaagcaatca	180
gtttcccgcg tgtgttcaag ggggcactgg cgaatcagtg aagacactca gctaattggag	240
ttagtttcag tctatgggcc gcaaaactgg aaccatatag ctgagtcgat gcaaggtcgt	300
acagggaagt catgtcgact tagatggttc aaccagttgg atcctcgcat caacaagcgt	360
gcgttttagtg atgaggagga ggaacgtcta ctagccgcc atcgagcgtt tggaaacaag	420
tgggctatga tcgcgaagtt attcaatgga cggactgaca acgcccttaa aaaccattgg	480
catgtattaa tggcaaggaa aatgcgtcaa cagtcttcta gctacgttca gagattcaac	540
ggatcagccc acgaatcaaa tacagacat aaaattttta acctatgcc tgggaatgta	600
gatgatgacg aagatgttaa cctcaaaaaa tgttcatggg agatgctaaa agaaggacg	660
acaaatttaa aagcccagta tttacaagaa gaatatagtt cctctcgat gccaatgcaa	720
ggccctcacc accactacag tacatttcca gcagactcct tggctttgac tctacacgtg	780
tccatacagg aaccgtcctc ttcttcaage cttagectac ctagcagttc aaccaccggg	840
gaacatacca tggtgacaag atattttgaa accataaaac cacctgcatt catagatttc	900
ctaggcgtgg gtcactaa	918

[0019]

<210> 20

<211> 918

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<222> 1..918

<223> /生物="人工序列"

/注释="MybTF 的核苷酸序列, 变体 12"

/mol_类型="未指定 DNA"

<400> 20

atgaaaatgg acttttagctg ctttcaagag tacccatttg aatttcactg tcggggcact 60

acgtttaacg gcttcagaga gaataacgcg gtttccgaga ctgtggagga gttctgcaac 120

aaacgtagga tgcaaaagaa gtcggacgac ctaaagacga aaaagaagaa aaaacaatca 180

gtcagtaggg tctgtagtcg aggccactgg aggattagtg aagacacaca gctaattggag 240

ctggatatcag tctacgggcc tcaaaattgg aaccacatag ccgagagtat gcaaggtagg 300

actggtaagt cttgtaggct taggtggttc aaccaacttg acccgcgat taacaagcgc 360

gccttcagcg atgaagagga agaaagactg ttggctgctc ataggcggtt cggaacaag 420

tgggccatga tagctaagct cttcaatgga aggaccgaca acgccttaaa gaatcactgg 480

[0020]

catgtgttaa tggcacgtaa gatgaggcaa caaagttctt cgtacgtgca gaggttcaac 540

ggtagtgcac acgagtcgaa caccgaccac aagatattca atcttagtcc cggaaatgtg 600

gatgatgacg aggatgttaa cctaaagaaa tgctcatggg aaatgcttaa ggagggtaca 660

actaatctta aggctcagta ctttcaggag gaatactcca gttctcgcat gcccatgcaa 720

ggtcctcacc atcactactc tacgtttcca gcagattcgt tagccttgac gctacatgtt 780

agtatacaag aaccttcac tcttagtagt ctttctctcc ctagcagttc aacgacgggt 840

gagcatacga tggtcactcg gtatttcgag acgataaaac cgccagcctt catagacttc 900

ttaggggtag gtcactaa 918

<210> 21

<211> 918

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<222> 1..918

<223> /生物="人工序列"

/注释="MybTF 的核苷酸序列, 变体 13"

/mol_类型="未指定 DNA"

<400> 21

atgaagatgg acttttagctg ctttcaagag tatccattcg agtttctactg ccgggggacg 60

actttcaacg ggtttagaga aaataacgcc gtttagcgaga ctgtagaaga gttctgtaat 120

aagcgtagga tgcagaagaa gtcggacgac ctgaaaacga aaaagaagaa gaaacagtca 180

gtttcgcggg tgtgttcaag ggggcactgg cggatcagtg aggatactca gttaatggag 240

ttagtttcag tctacggccc tcagaactgg aatcatattg ccgagtcaat gcagggtcgc 300

accggcaagt cttgtaggct tcgctggttt aaccagttag accctaggat taataagcgc 360

gccttcagtg acgaagagga agagagactc ttagccgcgc acagggttt cggtacaag 420

[0021]

tgggcaatga ttgctaaact ctttaacggg aggactgata atgcccttaa gaatcattgg 480

catgtgctaa tggctagaaa gatgaggcaa cagagtctta gctatgtaca acggttcaac 540

ggttcagcgc acgagtccaa cacagatcat aaaatcttca acctttcgcc cggcaatgtg 600

gacgacgacg aggatgttaa cctgaagaag tgctcctggg agatgctgaa agagggcact 660

acgaacctta aggctcagta tetccaagaa gagtactcta gctctaggat gcctatgcaa 720

ggacctcacc accactattc taccttccca gccgatagcc tagctetaac cctacacgtc 780

tccattcaag agccttcag ttcttcaagc ctttccctac ctagcagtag cactaccggt 840

gaacacacta tggtcacgag atacttcgaa accattaagc caccagcctt tatagacttc 900

cttggcgtag gtcactga 918

<210> 22

<211> 918

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<222> 1..918

<223> /生物="人工序列"

/注释="MybTF 的核苷酸序列, 变体 14"

/mol_类型="未指定 DNA"

<400> 22

atgaagatgg attttagctg ctttcaagag taccctttg aattccactg tcgtggcact 60

acctttaacg ggtttagaga gaacaacgcc gtgtctgaga ctgtggaaga gttctgtaac 120

aagcgtagga tgcagaagaa gtcagatgac cttaaaacta agaaaaagaa gaagcagtca 180

gttagtcgtg tgtgcagtag gggccactgg agaattagtg aggatactca actaatggag 240

ctagtctcag tctacggccc tcaaaactgg aatcacatag ccgagtcctat gcagggacgt 300

accggtagt cttgcaggct tcgttggttc aatcaattgg accctaggat taataagcgc 360

[0022]

gccttttagtg acgaagagga agagagactt ctacgagctc atcgagcttt cggtataaag 420

tgggctatga tagctaagct ctttaatggc cgcaccgaca atgcccttaa aaatcactgg 480

catgtcctaa tggctaggaa gatgcgtcag cagagctcta gctacgttca gcgcttcaac 540

ggaagcgcac atgagtctaa caccgatcat aagatcttta accctagccc cggtaacgtg 600

gacgacgatg aggatgttaa ccttaaaaag tgtagttggg agatgcttaa agagggcact 660

actaacctta aggetcaata tcttcaggag gaatattcta gctcgcggat gccgatgcag 720

ggaccgcacc accattactc taccttccca gctgattctc tagctctcac gctacacgtg 780

tcaattcaag agcctagcag ttctagtagc ttaagcctac cttctctctc aactacaggt 840

gagcacacta tggtcactag atatttcgag actattaagc cccccgcctt tatagacttt 900

ttgggcgttg gtcactaa 918

<210> 23

<211> 918		
<212> DNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<221> 来源		
<222> 1..918		
<223> /生物="人工序列"		
/注释="MybTF 的核苷酸序列, 变体 15"		
/mol_类型="未指定 DNA"		
<400> 23		
atgaagatgg acttttagctg ctttcaagag taccccttcg agtttctactg taggggcaact	60	
acctttaacg gcttttagaga gaacaatgcc gtttcagaga ctgtggagga gttctgtaac	120	
aaacgtagga tgcaaaagaa gtccgacgac cttaaaacta agaagaagaa gaagcagtca	180	
gttagtaggg tgtgctctag gggccattgg cgtatttctg aggataccca gctaattggaa	240	
ctagtttcag tctacggccc gcagaactgg aatcatattg ccgaatctat gcagggtagg	300	
[0023] accggtaagt cttgtcgtct tcgttggttt aaccagctag accctaggat aaacaagcgc	360	
gccttcagtg acgaggagga agagagacta ctagccgccc atcgggcttt cggtacaag	420	
tgggcgatga tagctaagct ctttaacggt aggaccgata acgcccttaa gaatcactgg	480	
catgtgctaa tggcaaggaa gatgaggcaa cagagttcta gctatgttca gcgctttaac	540	
ggatcagctc acgagtctaa caccgatcac aagatcttta accttagccc cggtaatgtg	600	
gacgacgacg aggacgtgaa ctttaaaaag tgcagttggg agatgcttaa agaaggcact	660	
actaacctta aggetcaata cttacaagaa gagtattctt cgtctaggat gcctatgcag	720	
ggacctcacc accactattc taccttccca gctgatagcc tagctctaac ccttcacgtt	780	
agtattcaag agcctagctc ctcgagtagc ctgtccctac cttccagttc aactaccggt	840	
gaacacacta tggtcactag atacttcgaa acgattaaac cccagcctt tattgatttt	900	
ctaggcgttg gtcactaa	918	

<210> 24		
<211> 918		
<212> DNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<221> 来源		
<222> 1..918		
<223> /生物="人工序列"		
/注释="MybTF 的核苷酸序列, 变体 16"		
/mol_类型="未指定 DNA"		
<400> 24		
atgaagatgg actttagctg ctttcaagag tacccatttg agttccactg taggggcact	60	
accttcaacg gctttagaga gaacaacgcc gtttagcgaga ctgtggaaga attctgtaat	120	
aagcggagga tgcagaagaa gtcagacgac ctttaagacca agaagaagaa gaaacagtca	180	
gttagtaggg tgtgctctag gggtcactgg cgtataagtg aagatactca gctaattgaa	240	
[0024] ctagtttcag tctacggccc tcagaactgg aatcatatag cagagtctat gcaaggtagg	300	
accggtaagt ctgttaggct tcgttggttt aatcagctcg accctaggat taacaagcgc	360	
gcctttagtg acgaagagga agagagacta ctagccgctc acagagcttt cggtacaag	420	
tgggctatga tagctaagct ctttaacggt aggaccgata acgcccttaa gaatcactgg	480	
catgttctaa tggcgaggaa gatgaggcag cagagttcta gctacgttca gcgctttaac	540	
ggatctgctc acgagtctaa cacagaccac aagatcttta accttagccc cggtaatgtg	600	
gacgacgacg aggacgttaa tcttaaaaag tgcagttggg agatgcttaa agagggcact	660	
actaacctta aggctcagta ctttcaagaa gagtactcta gctctaggat gcctatgcaa	720	
ggaccgcacc accactactc tacgttccca gctgatagcc tagctctaac ctttcacgtt	780	
agtattcaag agcctagcag ttctagtagc ctgagcctac ctagcagttc aactaccggt	840	
gagcacacta tggtcactag atacttcgag actattaagc cccagcctt tatagatttt	900	

	ctaggcgttg gtcactaa	918
	<210> 25	
	<211> 699	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<222> 1..699	
	<223> /生物="人工序列"	
	/注释="MybTF 的核苷酸序列, 变体 17"	
	/mol_类型="未指定 DNA"	
	<400> 25	
	atggactggt gcagcttcaa cgagtggccc ttcgagtacc acagcagaat cacctgctgg	60
	aacatgtaca gagacaacca ggccctgacc gactgcgccg aggagttcag ccagagaaga	120
	cacatgaaca gaaagaccga cgagatcaag acccacagaa gaagaaagca gagcgccagc	180
[0025]	agagtgtgca gcagaggcca ctggagaatc agcgaggaca cccagctgat ggagctggtg	240
	agcgtgtacg gccccagaa ctggaaccac atcgccgaga gcatgcaggg cagaaccggc	300
	aagagctgca gactgagatg gttcaaccag ctggacccca gaatcaacaa gagagccttc	360
	agcgacgagg aggaggagag actgctggcc gccacagag ccttcggcaa caagtgggcc	420
	atgatgccca agctgttcaa cggcagaacc gacaacgcc tgaagaacca ctggcacgtg	480
	ctgatggcca gaaagatgag acagcagagc agcagctgga tcaacaagta ccagatcagc	540
	gccaaaggaca gcaacaccga gcacaagggc ttccagctga gcccattgat caccgccctg	600
	tgcgtgaagc tgtgcgtgga ctccagagc gccgccgtgg ccagattctt caagttcctg	660
	agcgtgagaa accaggagct gatcatgtac agcaacaga	699
	<210> 26	
	<211> 233	
	<212> PRT	

<213> 人工序列

<220>

<223> MybTF 的氨基酸序列, 变体 17

<400> 26

Met Asp Trp Cys Ser Phe Asn Glu Trp Pro Phe Glu Tyr His Ser Arg
1 5 10 15
Ile Thr Cys Trp Asn Met Tyr Arg Asp Asn Gln Ala Leu Thr Asp Cys
20 25 30
Ala Glu Glu Phe Ser Gln Arg Arg His Met Asn Arg Lys Thr Asp Glu
35 40 45
Ile Lys Thr His Arg Arg Arg Lys Gln Ser Ala Ser Arg Val Cys Ser
50 55 60
Arg Gly His Trp Arg Ile Ser Glu Asp Thr Gln Leu Met Glu Leu Val
65 70 75 80
Ser Val Tyr Gly Pro Gln Asn Trp Asn His Ile Ala Glu Ser Met Gln
85 90 95
Gly Arg Thr Gly Lys Ser Cys Arg Leu Arg Trp Phe Asn Gln Leu Asp
100 105 110
Pro Arg Ile Asn Lys Arg Ala Phe Ser Asp Glu Glu Glu Glu Arg Leu
115 120 125
[0026] Leu Ala Ala His Arg Ala Phe Gly Asn Lys Trp Ala Met Ile Ala Lys
130 135 140
Leu Phe Asn Gly Arg Thr Asp Asn Ala Leu Lys Asn His Trp His Val
145 150 155 160
Leu Met Ala Arg Lys Met Arg Gln Gln Ser Ser Ser Trp Ile Asn Lys
165 170 175
Tyr Gln Ile Ser Ala Lys Asp Ser Asn Thr Glu His Lys Gly Phe Gln
180 185 190
Leu Ser Pro Met Ile Thr Ala Leu Cys Val Lys Leu Cys Val Asp Phe
195 200 205
Gln Ser Ala Ala Val Ala Arg Phe Phe Lys Phe Leu Ser Val Arg Asn
210 215 220
Gln Glu Leu Ile Met Tyr Ser Asn Arg
225 230

<210> 27

<211> 699

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<222> 1..699

<223> /生物="人工序列"

/注释="MybTF 的核苷酸序列, 变体 18"

/mol_类型="未指定 DNA"

<400> 27

atggacttca gcacctggca ggagtggccc ttcgagtacc acagcaaggg caccagctgg	60
aacggctaca gagaccagaa catcatgtgc gacaccgtgg acgactactg caacaagaga	120
cacgcccaga agaagaccga ggaggccaga acccacaaga agaagcacca gagcgccagc	180
agagtgtgca gcagaggcca ctggagaatc agcgaggaca cccagctgat ggagctgggtg	240
agcgtgtacg gccccagaa ctggaaccac atcgccgaga gcatgcaggg cagaaccggc	300
aagagctgca gactgagatg gttcaaccag ctggacccca gaatcaacaa gagagccttc	360
agcgacgagg aggaggagag actgctggcc gccacagag ccttcggcaa caagtgggcc	420
atgatcgcca agctgttcaa cggcagaacc gacaacgccc tgaagaacca ctggcacgtg	480
[0027] ctgatggcca gaaagatgag acagcagagc agctgctacg tgaacagatt caacctgagc	540
gccaaggaga gccagaccga cagacacatg tggaacgcca cccccctgct gtgcggcatc	600
agcctgaagg ccagcatcga ctacaactgc gtgatcatca tcagatggtt cagattcctg	660
agcctgcacc agaacgacct gatggtgtgg agcaacaga	699

<210> 28

<211> 233

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> MybTF 的氨基酸序列, 变体 18

<400> 28

Met	Asp	Phe	Ser	Thr	Trp	Gln	Glu	Trp	Pro	Phe	Glu	Tyr	His	Ser	Lys
1				5				10						15	
Gly	Thr	Ser	Trp	Asn	Gly	Tyr	Arg	Asp	Gln	Asn	Ile	Met	Cys	Asp	Thr
				20				25						30	

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

[0028]

<210> 29

<211> 699

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<222> 1..699

<223> /生物="人工序列"

/注释="MybTF 的核苷酸序列, 变体 19"

/mol_类型="未指定 DNA"

<400> 29

atggactaca ccacctggaa cgactggccc tgggactacc actgccacgg caccaccttc 60

aacatgttcc acgagaacaa cgccgtgacc gaggatgttg aggagttctg ccagcaccac 120

```

agaatgcaga agaagagcga ggagctgaag accagaagaa agcacaagaa cagcgtgagc      180

agagtgtgca gcagaggcca ctggagaatc agcgaggaca cccagctgat ggagctggtg      240

agcgtgtacg gccccagaa ctggaaccac atcgccgaga gcatgcaggg cagaaccggc      300

aagagctgca gactgagatg gttcaaccag ctggacccca gaatcaacaa gagagccttc      360

agcgacgagg aggaggagag actgctggcc gccacagag ccttcggcaa caagtgggcc      420

atgatcgcca agctgttcaa cggcagaacc gacaacgccc tgaagaacca ctggcacgtg      480

ctgatggcca gaaagatgag acagcagagc agcagctacg tgcagagatt caacggctgc      540

atgcacgaga ccaactgcga caagaaggcc tggaacctga gccccgtgct gaccctgctg      600

accggcaagg gcagcatcga ctccagagc gtgatcgcca tgagattctt caagtacctg      660

agcctgagaa accaggagct ggtgctgtac agccagaag      699

```

[0029]

<210> 30
 <211> 233
 <212> PRT
 <213> 人工序列

 <220>
 <223> MybTF 的氨基酸序列, 变体 19

<400> 30
 Met Asp Tyr Thr Thr Trp Asn Asp Trp Pro Trp Asp Tyr His Cys His
 1 5 10 15
 Gly Thr Thr Phe Asn Met Phe His Glu Asn Asn Ala Val Thr Glu Cys
 20 25 30
 Val Glu Glu Phe Cys Gln His His Arg Met Gln Lys Lys Ser Glu Glu
 35 40 45
 Leu Lys Thr Arg Arg Lys His Lys Asn Ser Val Ser Arg Val Cys Ser
 50 55 60
 Arg Gly His Trp Arg Ile Ser Glu Asp Thr Gln Leu Met Glu Leu Val
 65 70 75 80
 Ser Val Tyr Gly Pro Gln Asn Trp Asn His Ile Ala Glu Ser Met Gln
 85 90 95
 Gly Arg Thr Gly Lys Ser Cys Arg Leu Arg Trp Phe Asn Gln Leu Asp
 100 105 110

Pro Arg Ile Asn Lys Arg Ala Phe Ser Asp Glu Glu Glu Glu Arg Leu
 115 120 125
 Leu Ala Ala His Arg Ala Phe Gly Asn Lys Trp Ala Met Ile Ala Lys
 130 135 140
 Leu Phe Asn Gly Arg Thr Asp Asn Ala Leu Lys Asn His Trp His Val
 145 150 155 160
 Leu Met Ala Arg Lys Met Arg Gln Gln Ser Ser Ser Tyr Val Gln Arg
 165 170 175
 Phe Asn Gly Cys Met His Glu Thr Asn Cys Asp Lys Lys Ala Trp Asn
 180 185 190
 Leu Ser Pro Val Leu Thr Leu Leu Thr Gly Lys Gly Ser Ile Asp Phe
 195 200 205
 Gln Ser Val Ile Ala Met Arg Phe Phe Lys Tyr Leu Ser Leu Arg Asn
 210 215 220
 Gln Glu Leu Val Leu Tyr Ser Gln Lys
 225 230

<210> 31

<211> 699

<212> DNA

<213> 人工序列

[0030]

<220>

<221> 来源

<222> 1..699

<223> /生物="人工序列"

/注释="MybTF 的核苷酸序列, 变体 20"

/mol_类型="未指定 DNA"

<400> 31

atggactaca gcaccttcca ggactacccc ttcgagtcca agtgcagagg caccaccttc 60

cagggctaca gagagcagaa cgccgtgagc gagagcgtgg aggagtctctg caacaagaga 120

agaatgcagc acaagagcga ggacctgaga accaagcaca gaagaaagaa cagcgtgagc 180

agagtgtgca gcagaggcca ctggagaatc agcgaggaca cccagctgat ggagctggtg 240

agcgtgtacg gccccagaa ctggaaccac atcgccgaga gcatgcaggg cagaaccggc 300

aagagctgca gactgagatg gttcaaccag ctggacccca gaatcaacaa gagagccttc 360

agcgacgagg aggaggagag actgctggcc gccacagag ccttcggcaa caagtgggcc 420

atgatcgcca agctgttcaa cggcagaacc gacaacgccc tgaagaacca ctggcacgtg 480

ctgatggcca gaaagatgag acagcagagc agctgctacg gcaacagatt caacatgacc 540

atccacgaga gcaacagcga cagaaagatc tacaacctga gccccggcct gtgcctgctg 600

agcctgcaca tcaccatcga gtggcagtgc gtgatcgtga tgagatactt cagatgggcc 660

accctgagaa acaacgagct gctggtgttc agccagaag 699

<210> 32

<211> 233

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> MybTF 的氨基酸序列, 变体 20

<400> 32

[0031]

Met Asp Tyr Ser Thr Phe Gln Asp Tyr Pro Phe Glu Phe Lys Cys Arg
1 5 10 15
Gly Thr Thr Phe Gln Gly Tyr Arg Glu Gln Asn Ala Val Ser Glu Ser
20 25 30
Val Glu Glu Phe Cys Asn Lys Arg Arg Met Gln His Lys Ser Glu Asp
35 40 45
Leu Arg Thr Lys His Arg Arg Lys Asn Ser Val Ser Arg Val Cys Ser
50 55 60
Arg Gly His Trp Arg Ile Ser Glu Asp Thr Gln Leu Met Glu Leu Val
65 70 75 80
Ser Val Tyr Gly Pro Gln Asn Trp Asn His Ile Ala Glu Ser Met Gln
85 90 95
Gly Arg Thr Gly Lys Ser Cys Arg Leu Arg Trp Phe Asn Gln Leu Asp
100 105 110
Pro Arg Ile Asn Lys Arg Ala Phe Ser Asp Glu Glu Glu Glu Arg Leu
115 120 125
Leu Ala Ala His Arg Ala Phe Gly Asn Lys Trp Ala Met Ile Ala Lys
130 135 140
Leu Phe Asn Gly Arg Thr Asp Asn Ala Leu Lys Asn His Trp His Val
145 150 155 160
Leu Met Ala Arg Lys Met Arg Gln Gln Ser Ser Cys Tyr Gly Asn Arg
165 170 175
Phe Asn Met Thr Ile His Glu Ser Asn Ser Asp Arg Lys Ile Tyr Asn
180 185 190

Leu Ser Pro Gly Leu Cys Leu Leu Ser Leu His Ile Thr Ile Glu Trp
 195 200 205
 Gln Cys Val Ile Val Met Arg Tyr Phe Arg Trp Ala Thr Leu Arg Asn
 210 215 220
 Asn Glu Leu Leu Val Phe Ser Gln Lys
 225 230

<210> 33

<211> 699

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<222> 1..699

<223> /生物="人工序列"

/注释="MybTF 的核苷酸序列, 变体 21"

/mol_类型="未指定 DNA"

<400> 33

[0032]

atggacttca gctgctggaa cgagtacccc ttcgagttca gatgcagaat caccagcttc 60
 aacgcctgga gagagcagca ggccgtgagc gacaccgtgg aggagtcttg caacaagaga 120
 cacatgaaca agaagtgcga cgacctgaag accaagaaga agaagaagca gagcgtgagc 180
 agagtgtgca gcagaggcca ctggagaatc agcgaggaca cccagctgat ggagctggtg 240
 agcgtgtacg gccccagaa ctggaaccac atcgccgaga gcatgcaggg cagaaccggc 300
 aagagctgca gactgagatg gttcaaccag ctggacccca gaatcaacaa gagagccttc 360
 agcgacgagg aggaggagag actgctggcc gccacagag ccttcggcaa caagtgggcc 420
 atgatcgcca agctgttcaa cggcagaacc gacaacgccc tgaagaacca ctggcacgtg 480
 ctgatggcca gaaagatgag acagcagagc agcagctacg tgcagagatt caacgtgagc 540
 ctgcacgaga gccagaccga gcacagaatc ttcaacggca gccccggcct gagcctgctg 600
 tgccctgcaca tctgcatcga gttcaacacc gtgatcgtga tgagatactt ccactacctg 660
 agcctgagaa acaacgagat catggtgtgg agccagaag 699

<210> 34
 <211> 233
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> MybTF 的氨基酸序列, 变体 21

<400> 34
 Met Asp Phe Ser Cys Trp Asn Glu Tyr Pro Phe Glu Phe Arg Cys Arg
 1 5 10 15
 Ile Thr Ser Phe Asn Ala Trp Arg Glu Gln Gln Ala Val Ser Asp Thr
 20 25 30
 Val Glu Glu Phe Cys Asn Lys Arg His Met Asn Lys Lys Cys Asp Asp
 35 40 45
 Leu Lys Thr Lys Lys Lys Lys Lys Gln Ser Val Ser Arg Val Cys Ser
 50 55 60
 Arg Gly His Trp Arg Ile Ser Glu Asp Thr Gln Leu Met Glu Leu Val
 65 70 75 80
 Ser Val Tyr Gly Pro Gln Asn Trp Asn His Ile Ala Glu Ser Met Gln
 85 90 95
 [0033] Gly Arg Thr Gly Lys Ser Cys Arg Leu Arg Trp Phe Asn Gln Leu Asp
 100 105 110
 Pro Arg Ile Asn Lys Arg Ala Phe Ser Asp Glu Glu Glu Glu Arg Leu
 115 120 125
 Leu Ala Ala His Arg Ala Phe Gly Asn Lys Trp Ala Met Ile Ala Lys
 130 135 140
 Leu Phe Asn Gly Arg Thr Asp Asn Ala Leu Lys Asn His Trp His Val
 145 150 155 160
 Leu Met Ala Arg Lys Met Arg Gln Gln Ser Ser Ser Tyr Val Gln Arg
 165 170 175
 Phe Asn Val Ser Leu His Glu Ser Gln Thr Glu His Arg Ile Phe Asn
 180 185 190
 Gly Ser Pro Gly Leu Ser Leu Leu Cys Leu His Ile Cys Ile Glu Phe
 195 200 205
 Asn Thr Val Ile Val Met Arg Tyr Phe His Tyr Leu Ser Leu Arg Asn
 210 215 220
 Asn Glu Ile Met Val Trp Ser Gln Lys
 225 230

<210> 35
 <211> 699
 <212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<222> 1..699

<223> /生物="人工序列"

/注释="MybTF 的核苷酸序列, 变体 22"

/mol_类型="未指定 DNA"

<400> 35

atggacttct gctgctacca ggagtggccc ttcgagttca gatgcagagg caccaccttc 60

aacggcttca gagagaacaa cctggtgagc gacaccggcg aggagtcttg caacaagaga 120

agaatgcaga agagaagcga cgacctgaga agcaagaaga agaagaagca gagcgtgagc 180

agagtgtgca gcagaggcca ctggagaatc agcgaggaca cccagctgat ggagctggtg 240

agcgtgtacg gccccagaa ctggaaccac atcgccgaga gcatgcaggg cagaaccggc 300

aagagctgca gactgagatg gttcaaccag ctggaccca gaatcaacaa gagagccttc 360

[0034]

agcgacgagg aggaggagag actgctggcc gccacagag ccttcggcaa caagtgggcc 420

atgatcgcca agctgttcaa cggcagaacc gacaacgcc tgaagaacca ctggcacgtg 480

ctgatggcca gaaagatgag acagcagagc agcagctacg tgcagagatt caacggcagc 540

gccacagaga gcaacaccga ccacaagatc ttcaacgcca gccccggcct gagcggcctg 600

accctgcacc tgtgcatcga gttcaacagc gtgatcgtga tgagattctg gagatacctg 660

agcctgagac agcaggagat gatggtgtgg agccagaag 699

<210> 36

<211> 233

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> MybTF 的氨基酸序列, 变体 22

<400> 36

Met Asp Phe Cys Cys Tyr Gln Glu Trp Pro Phe Glu Phe Arg Cys Arg
 1 5 10 15
 Gly Thr Thr Phe Asn Gly Phe Arg Glu Asn Asn Leu Val Ser Asp Thr
 20 25 30
 Gly Glu Glu Phe Cys Asn Lys Arg Arg Met Gln Lys Arg Ser Asp Asp
 35 40 45
 Leu Arg Ser Lys Lys Lys Lys Lys Gln Ser Val Ser Arg Val Cys Ser
 50 55 60
 Arg Gly His Trp Arg Ile Ser Glu Asp Thr Gln Leu Met Glu Leu Val
 65 70 75 80
 Ser Val Tyr Gly Pro Gln Asn Trp Asn His Ile Ala Glu Ser Met Gln
 85 90 95
 Gly Arg Thr Gly Lys Ser Cys Arg Leu Arg Trp Phe Asn Gln Leu Asp
 100 105 110
 Pro Arg Ile Asn Lys Arg Ala Phe Ser Asp Glu Glu Glu Glu Arg Leu
 115 120 125
 Leu Ala Ala His Arg Ala Phe Gly Asn Lys Trp Ala Met Ile Ala Lys
 130 135 140
 Leu Phe Asn Gly Arg Thr Asp Asn Ala Leu Lys Asn His Trp His Val
 145 150 155 160
 Leu Met Ala Arg Lys Met Arg Gln Gln Ser Ser Ser Tyr Val Gln Arg
 165 170 175
 Phe Asn Gly Ser Ala His Glu Ser Asn Thr Asp His Lys Ile Phe Asn
 180 185 190
 Ala Ser Pro Gly Leu Ser Gly Leu Thr Leu His Leu Cys Ile Glu Phe
 195 200 205
 Asn Ser Val Ile Val Met Arg Phe Trp Arg Tyr Leu Ser Leu Arg Gln
 210 215 220
 Gln Glu Met Met Val Trp Ser Gln Lys
 225 230

[0035]

<210> 37

<211> 699

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<222> 1..699

<223> /生物="人工序列"

/注释="MybTF 的核苷酸序列, 变体 23"

/mol_类型="未指定 DNA"

<400> 37

	atggacttca gctgcttcca ggagtacccc ttcgagttcc acaccaaggg caccaccttc	60
	aacggcttca gagagaacaa cgccggcacc gagaccgtgg aggagttctg caacaagaga	120
	agactgcaga agaagagcga cgacctgaag accaagaaga agaagaagca gagcgtgagc	180
	agagtgtgca gcagaggcca ctggagaatc agcgaggaca cccagctgat ggagctggtg	240
	agcgtgtacg gccccagaa ctggaaccac atcgccgaga gcatgcaggg cagaaccggc	300
	aagagctgca gactgagatg gttcaaccag ctggacccca gaatcaacaa gagagccttc	360
	agcgacgagg aggaggagag actgctggcc gccacagag ccttcggcaa caagtgggcc	420
	atgatcgcca agctgttcaa cggcagaacc gacaacgccc tgaagaacca ctggcacgtg	480
	ctgatggcca gaaagatgag acagcagagc agcagctacg tgaacagatt ccagggcagc	540
	gccacgaga gcaacaccga ccacaagatc tggaacctga gccccggcct gaggctgctg	600
	accctgcaca tctgcatcga gttcaactgc gtgatcgtga tgagatactt cagatacctg	660
[0036]	tgcttgagaa acaacgacct gatggtgtgg agccagaag	699

<210> 38

<211> 233

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> MybTF 的氨基酸序列, 变体 23

<400> 38

Met	Asp	Phe	Ser	Cys	Phe	Gln	Glu	Tyr	Pro	Phe	Glu	Phe	His	Thr	Lys
1				5					10					15	
Gly	Thr	Thr	Phe	Asn	Gly	Phe	Arg	Glu	Asn	Asn	Ala	Gly	Thr	Glu	Thr
				20				25						30	
Val	Glu	Glu	Phe	Cys	Asn	Lys	Arg	Arg	Leu	Gln	Lys	Lys	Ser	Asp	Asp
				35				40						45	
Leu	Lys	Thr	Lys	Lys	Lys	Lys	Lys	Gln	Ser	Val	Ser	Arg	Val	Cys	Ser
				50				55						60	
Arg	Gly	His	Trp	Arg	Ile	Ser	Glu	Asp	Thr	Gln	Leu	Met	Glu	Leu	Val
65				70						75				80	

Ser Val Tyr Gly Pro Gln Asn Trp Asn His Ile Ala Glu Ser Met Gln
 85 90 95
 Gly Arg Thr Gly Lys Ser Cys Arg Leu Arg Trp Phe Asn Gln Leu Asp
 100 105 110
 Pro Arg Ile Asn Lys Arg Ala Phe Ser Asp Glu Glu Glu Glu Arg Leu
 115 120 125
 Leu Ala Ala His Arg Ala Phe Gly Asn Lys Trp Ala Met Ile Ala Lys
 130 135 140
 Leu Phe Asn Gly Arg Thr Asp Asn Ala Leu Lys Asn His Trp His Val
 145 150 155 160
 Leu Met Ala Arg Lys Met Arg Gln Gln Ser Ser Ser Tyr Val Asn Arg
 165 170 175
 Phe Gln Gly Ser Ala His Glu Ser Asn Thr Asp His Lys Ile Trp Asn
 180 185 190
 Leu Ser Pro Gly Leu Ser Leu Leu Thr Leu His Ile Cys Ile Glu Phe
 195 200 205
 Asn Cys Val Ile Val Met Arg Tyr Phe Arg Tyr Leu Cys Leu Arg Asn
 210 215 220
 Asn Asp Leu Met Val Trp Ser Gln Lys
 225 230

[0037]

<210> 39

<211> 699

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<222> 1..699

<223> /生物="人工序列"

/注释="MybTF 的核苷酸序列, 变体 24"

/mol_类型="未指定 DNA"

<400> 39

atggacttca gctgcttcca ggagtacccc ttcgagttcc actgcagagg caccaccttc 60

aacggcttca gagacaacaa cgccgtgagc gagagcgtgg aggagttctg caacaagaga 120

agaatgcaga agaagagcga cgacctgaag accaagaaga agcacaagca gaccgtgagc 180

agagtgtgca gcagaggcca ctggagaatc agcgaggaca cccagctgat ggagctggtg 240

agcgtgtacg gccccagaa ctggaaccac atcgccgaga gcatgcaggg cagaaccggc 300

aagagctgca gactgagatg gttcaaccag ctggacccca gaatcaaca gagagccttc 360

agcgacgagg aggaggagag actgctggcc gccacagag ccttcggcaa caagtgggcc 420

atgatcgcca agctgttcaa cggcagaacc gacaacgcc tgaagaacca ctggcacgtg 480

ctgatggcca gaaagatgag acagcagagc agcagctacg tgcagagatt caacggcagc 540

gccacagaga gcaacaccga ccacaagatc ttcaacctgt gccccggcct gacgctgctg 600

accctgcaca tctgcatcga gttcaacagc gtgatcgtga tgagatactg gagatacctg 660

agcctgagaa acaacgagct gatggtgtgg agccagaag 699

<210> 40

<211> 233

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> MybTF 的氨基酸序列, 变体 24

[0038]

<400> 40

Met Asp Phe Ser Cys Phe Gln Glu Tyr Pro Phe Glu Phe His Cys Arg
1 5 10 15

Gly Thr Thr Phe Asn Gly Phe Arg Asp Asn Asn Ala Val Ser Glu Ser
20 25 30

Val Glu Glu Phe Cys Asn Lys Arg Arg Met Gln Lys Lys Ser Asp Asp
35 40 45

Leu Lys Thr Lys Lys Lys His Lys Gln Thr Val Ser Arg Val Cys Ser
50 55 60

Arg Gly His Trp Arg Ile Ser Glu Asp Thr Gln Leu Met Glu Leu Val
65 70 75 80

Ser Val Tyr Gly Pro Gln Asn Trp Asn His Ile Ala Glu Ser Met Gln
85 90 95

Gly Arg Thr Gly Lys Ser Cys Arg Leu Arg Trp Phe Asn Gln Leu Asp
100 105 110

Pro Arg Ile Asn Lys Arg Ala Phe Ser Asp Glu Glu Glu Arg Leu
115 120 125

Leu Ala Ala His Arg Ala Phe Gly Asn Lys Trp Ala Met Ile Ala Lys
130 135 140

Leu Phe Asn Gly Arg Thr Asp Asn Ala Leu Lys Asn His Trp His Val
145 150 155 160

Leu Met Ala Arg Lys Met Arg Gln Gln Ser Ser Ser Tyr Val Gln Arg
 165 170 175
 Phe Asn Gly Ser Ala His Glu Ser Asn Thr Asp His Lys Ile Phe Asn
 180 185 190
 Leu Cys Pro Gly Leu Ser Leu Leu Thr Leu His Ile Cys Ile Glu Phe
 195 200 205
 Asn Ser Val Ile Val Met Arg Tyr Trp Arg Tyr Leu Ser Leu Arg Asn
 210 215 220
 Asn Glu Leu Met Val Trp Ser Gln Lys
 225 230

<210> 41

<211> 915

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<222> 1..915

<223> /生物="人工序列"

/注释="MybTF 的核苷酸序列, 变体 25"

[0039]

/mol_类型="未指定 DNA"

<400> 41

atgagaggcg actggtgcag ctacaacgac ttcccctggg agttcaagac ccacatgagc	60
acctggaaca tgtggagaga gaacaacgcc gtgtgcgaga ccgtggagga ctactgccag	120
aagcaccaca tcaacaagaa gtgcgaggac atcaagaccc acaagaagca caagaacagc	180
gtgagcagag tgtgcagcag aggccactgg agaatcagcg aggacacca gctgatggag	240
ctggtgagcg tgtacggccc ccagaactgg aaccacatcg ccgagagcat gcagggcaga	300
accggcaaga gctgcagact gagatggttc aaccagctgg accccagaat caacaagaga	360
gccttcagcg acgaggagga ggagagactg ctggccgccc acagagcctt cggcaacaag	420
tgggcatga tcgccaagct gttcaacggc agaaccgaca acgccctgaa gaaccactgg	480
cacgtgctga tggccagaaa gatgagacag cagagcagca gctacgtgca gagattcaac	540
ggcaccgcca gagagagcaa caccgagcac aagatcttca acctgagccc cgccaacgtg	600

gaggacgagg aggacggcca gatgcaccac accaccttcg acatcgtgag agacggcacc 660

agcaacctga aggccaacta cctgcaggag gactacacct gcacccacgc cccctgcag 720

ggccccaaga agaagttcag cagctggccc gccgagtgcc tggatgatcac cgccacatc 780

agcatcaacg accccagctg cagcagcagc atcagcctgc cctgctgctg caccaccggc 840

gagaagacca tgctgtgcag atacttcgac accatcaagc ccccatgtt cctggactgg 900

ctgggcctgg gcaga 915

<210> 42

<211> 305

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> MybTF 的氨基酸序列, 变体 25

[0040]

<400> 42

Met Arg Gly Asp Trp Cys Ser Tyr Asn Asp Phe Pro Trp Glu Phe Lys
1 5 10 15

Thr His Met Ser Thr Trp Asn Met Trp Arg Glu Asn Asn Ala Val Cys
20 25 30

Glu Thr Val Glu Asp Tyr Cys Gln Lys His His Ile Asn Lys Lys Cys
35 40 45

Glu Asp Ile Lys Thr His Lys Lys His Lys Asn Ser Val Ser Arg Val
50 55 60

Cys Ser Arg Gly His Trp Arg Ile Ser Glu Asp Thr Gln Leu Met Glu
65 70 75 80

Leu Val Ser Val Tyr Gly Pro Gln Asn Trp Asn His Ile Ala Glu Ser
85 90 95

Met Gln Gly Arg Thr Gly Lys Ser Cys Arg Leu Arg Trp Phe Asn Gln
100 105 110

Leu Asp Pro Arg Ile Asn Lys Arg Ala Phe Ser Asp Glu Glu Glu Glu
115 120 125

Arg Leu Leu Ala Ala His Arg Ala Phe Gly Asn Lys Trp Ala Met Ile
130 135 140

Ala Lys Leu Phe Asn Gly Arg Thr Asp Asn Ala Leu Lys Asn His Trp
145 150 155 160

His Val Leu Met Ala Arg Lys Met Arg Gln Gln Ser Ser Ser Tyr Val
165 170 175

Gln Arg Phe Asn Gly Thr Ala Arg Glu Ser Asn Thr Glu His Lys Ile
 180 185 190
 Phe Asn Leu Ser Pro Ala Asn Val Glu Asp Glu Glu Asp Gly Gln Met
 195 200 205
 His His Thr Thr Phe Asp Ile Val Arg Asp Gly Thr Ser Asn Leu Lys
 210 215 220
 Ala Asn Tyr Leu Gln Glu Glu Tyr Thr Cys Thr His Ala Pro Leu Gln
 225 230 235 240
 Gly Pro Lys Lys Lys Phe Ser Ser Trp Pro Ala Glu Cys Leu Val Ile
 245 250 255
 Thr Ala His Ile Ser Ile Asn Asp Pro Ser Cys Ser Ser Ser Ile Ser
 260 265 270
 Leu Pro Cys Cys Cys Thr Thr Gly Glu Lys Thr Met Leu Cys Arg Tyr
 275 280 285
 Phe Asp Thr Ile Lys Pro Pro Met Phe Leu Asp Trp Leu Gly Leu Gly
 290 295 300
 Arg
 305

[0041]

<210> 43

<211> 915

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<222> 1..915

<223> /生物="人工序列"

/注释="MybTF 的核苷酸序列, 变体 26"

/mol_类型="未指定 DNA"

<400> 43

atgaagatgg acttctgcag ctacaacgag tggcccttcg agttcaagag ccacggcagc 60

acctacaacg cctggaagga caacaacgcc gtgtgcgact gcgtggagga cttctgcaac 120

aagcacaagc tgcagaagag aagcgacgac gccaagacca agaagaagca caagaacagc 180

gtgagcagag tgtgcagcag aggccactgg agaatcagcg aggacacca gctgatggag 240

ctggtgagcg tgtacggccc ccagaactgg aaccacatcg ccgagagcat gcagggcaga 300

accggcaaga gctgcagact gagatggttc aaccagctgg accccagaat caacaagaga 360

gccttcagcg acgaggagga ggagagactg ctggccgccc acagagcctt cggcaacaag 420

tgggccaatga tcgccaagct gttcaacggc agaaccgaca acgccctgaa gaaccactgg 480

cacgtgctga tggccagaaa gatgagacag cagagcagca gctacgtgca gagattcaac 540

ggcacctgc acgacaccaa caccgaccac cacgtgttcc agggcagccc cggcaacgtg 600

gaggacgacg acgacgtgaa cgtgagaaag tgctgctggg agatcatcaa ggagggcagc 660

accagctga gagcccagtg ggcccaggac gagtacagca gcaccaaggg ccccatgcag 720

ggccccaca gaaagtacag ctgcttcccc atcgagagca tggccctgag cctgcacgtg 780

accctgcagg accccagcag caccagcacc ggcaccctgc ccagcacctg caccaccgtg 840

gagcacagca tggtagagcag atacttcgag accatcaagc cccccctgtt catcgactac 900

gtgggcgtgg gccac 915

[0042]

<210> 44

<211> 305

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> MybTF 的氨基酸序列, 变体 26

<400> 44

Met Lys Met Asp Phe Cys Ser Tyr Asn Glu Trp Pro Phe Glu Phe Lys
1 5 10 15

Ser His Gly Ser Thr Tyr Asn Ala Trp Lys Asp Asn Asn Ala Val Cys
20 25 30

Asp Cys Val Glu Asp Phe Cys Asn Lys His Lys Leu Gln Lys Arg Ser
35 40 45

Asp Asp Ala Lys Thr Lys Lys Lys His Lys Asn Ser Val Ser Arg Val
50 55 60

Cys Ser Arg Gly His Trp Arg Ile Ser Glu Asp Thr Gln Leu Met Glu
65 70 75 80

Leu Val Ser Val Tyr Gly Pro Gln Asn Trp Asn His Ile Ala Glu Ser
85 90 95

Met Gln Gly Arg Thr Gly Lys Ser Cys Arg Leu Arg Trp Phe Asn Gln
100 105 110

Leu Asp Pro Arg Ile Asn Lys Arg Ala Phe Ser Asp Glu Glu Glu Glu
 115 120 125
 Arg Leu Leu Ala Ala His Arg Ala Phe Gly Asn Lys Trp Ala Met Ile
 130 135 140
 Ala Lys Leu Phe Asn Gly Arg Thr Asp Asn Ala Leu Lys Asn His Trp
 145 150 155 160
 His Val Leu Met Ala Arg Lys Met Arg Gln Gln Ser Ser Ser Tyr Val
 165 170 175
 Gln Arg Phe Asn Gly Thr Leu His Asp Thr Asn Thr Asp His His Val
 180 185 190
 Phe Gln Gly Ser Pro Gly Asn Val Glu Asp Asp Asp Asp Val Asn Val
 195 200 205
 Arg Lys Cys Cys Trp Glu Ile Ile Lys Glu Gly Ser Thr Gln Leu Arg
 210 215 220
 Ala Gln Trp Ala Gln Asp Glu Tyr Ser Ser Thr Lys Gly Pro Met Gln
 225 230 235 240
 Gly Pro His Arg Lys Tyr Ser Cys Phe Pro Ile Glu Ser Met Ala Leu
 245 250 255
 Ser Leu His Val Thr Leu Gln Asp Pro Ser Ser Thr Ser Thr Gly Thr
 260 265 270
 Leu Pro Ser Thr Cys Thr Thr Val Glu His Ser Met Val Ser Arg Tyr
 275 280 285
 Phe Glu Thr Ile Lys Pro Pro Leu Phe Ile Asp Tyr Val Gly Val Gly
 290 295 300
 His
 305

[0043]

<210> 45

<211> 915

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<222> 1..915

<223> /生物="人工序列"

/注释="MybTF 的核苷酸序列, 变体 27"

/mol_类型="未指定 DNA"

<400> 45

atgaagatgg actggagctg cttcaacgag ttcccttcg actacagaac cagactgtgc 60

accttcaacg ccttcagaga gcagaacgcc gtgagcgaga gcgtggagga ctggtgcaac 120

aagagaagaa tgcagcacca caccgaggac gtgagaacca agagaaagag aaagcagagc	180
gtgagcagag tgtgcagcag aggccactgg agaatcagcg aggacaccca gctgatggag	240
ctgggtgagcg tgtacggccc ccagaactgg aaccacatcg ccgagagcat gcagggcaga	300
accggcaaga gctgcagact gagatggttc aaccagctgg accccagaat caacaagaga	360
gccttcagcg acgaggagga ggagagactg ctggccgccc acagagcctt cggcaacaag	420
tgggccatga tcgccaagct gttcaacggc agaaccgaca acgccctgaa gaaccactgg	480
cacgtgctga tggccagaaa gatgagacag cagagcagca gctacgtgca gagattcaac	540
ggcagcgcgc acgagagcaa ctgcgagcac agagccttca acctgagccc cctgaacgtg	600
gaggaggacg acgacggcca gatgaagaag tgcagctggg agatgctgaa ggacggcacc	660
accaggcca agctgcagtt cctgaacgag gactacagct gcagcagagt gcccgcaccg	720
ggccccaca gacactggag caccttcccc gccgacagcg ccgccgtgac cctgaagggtg	780
agcatcaacg agcccagcac cagcaccagc ctgagcatcc cctgcagcag cagcaccgcc	840
gagcacacca tgggtgaccag attcttcgag accatcaagc ccccgccctt catcgacttc	900
ctgggcgtgg gcaga	915

[0044]

<210> 46

<211> 305

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> MybTF 的氨基酸序列, 变体 27

<400> 46

Met	Lys	Met	Asp	Trp	Ser	Cys	Phe	Asn	Glu	Phe	Pro	Phe	Asp	Tyr	Arg
1			5					10					15		
Thr	Arg	Leu	Cys	Thr	Phe	Asn	Ala	Phe	Arg	Glu	Gln	Asn	Ala	Val	Ser
		20						25					30		
Glu	Ser	Val	Glu	Asp	Trp	Cys	Asn	Lys	Arg	Arg	Met	Gln	His	His	Thr
		35						40					45		

[0045]

Glu Asp Val Arg Thr Lys Arg Lys Arg Lys Gln Ser Val Ser Arg Val
 50 55 60
 Cys Ser Arg Gly His Trp Arg Ile Ser Glu Asp Thr Gln Leu Met Glu
 65 70 75 80
 Leu Val Ser Val Tyr Gly Pro Gln Asn Trp Asn His Ile Ala Glu Ser
 85 90 95
 Met Gln Gly Arg Thr Gly Lys Ser Cys Arg Leu Arg Trp Phe Asn Gln
 100 105 110
 Leu Asp Pro Arg Ile Asn Lys Arg Ala Phe Ser Asp Glu Glu Glu Glu
 115 120 125
 Arg Leu Leu Ala Ala His Arg Ala Phe Gly Asn Lys Trp Ala Met Ile
 130 135 140
 Ala Lys Leu Phe Asn Gly Arg Thr Asp Asn Ala Leu Lys Asn His Trp
 145 150 155 160
 His Val Leu Met Ala Arg Lys Met Arg Gln Gln Ser Ser Ser Tyr Val
 165 170 175
 Gln Arg Phe Asn Gly Ser Ala His Glu Ser Asn Cys Glu His Arg Ala
 180 185 190
 Phe Asn Leu Ser Pro Leu Asn Val Glu Glu Asp Asp Asp Gly Gln Met
 195 200 205
 Lys Lys Cys Ser Trp Glu Met Leu Lys Asp Gly Thr Thr Gln Ala Lys
 210 215 220
 Leu Gln Phe Leu Asn Glu Asp Tyr Ser Cys Ser Arg Val Pro Ala Gln
 225 230 235 240
 Gly Pro His Arg His Trp Ser Thr Phe Pro Ala Asp Ser Ala Ala Val
 245 250 255
 Thr Leu Lys Val Ser Ile Asn Glu Pro Ser Thr Ser Thr Ser Leu Ser
 260 265 270
 Ile Pro Cys Ser Ser Ser Thr Ala Glu His Thr Met Val Thr Arg Phe
 275 280 285
 Phe Glu Thr Ile Lys Pro Pro Ala Phe Ile Asp Phe Leu Gly Val Gly
 290 295 300
 Arg
 305

<210> 47

<211> 915

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<222> 1..915

<223> /生物="人工序列"

/注释="MybTF 的核苷酸序列, 变体 28"

/mol_类型="未指定 DNA"

<400> 47

atgcacatgg acttcagctg cttccaggag ttcccctacg agtggcactg cagagtgacc	60
accttcaacg gcttccacga caacaacgcc gtgagcgaga ccgtggagga gttctgcaac	120
aagagaagaa tgcagaagaa gagcgacgag ctgagaacca agaagaagaa gaagaacagc	180
gtgagcagag tgtgcagcag aggccactgg agaatcagcg aggacacca gctgatggag	240
ctggtgagcg tgtacggccc ccagaactgg aaccacatcg ccgagagcat gcagggcaga	300
accggcaaga gctgcagact gagatggttc aaccagctgg accccagaat caacaagaga	360
gccttcagcg acgaggagga ggagagactg ctggccgccc acagagcctt cggcaacaag	420
tgggcatga tcgccaagct gttcaacggc agaaccgaca acgccctgaa gaacctgag	480
cacgtgctga tggccagaaa gatgagacag cagagcagca gctacgtgca gagattcaac	540
ggcagcgccc acgagagcaa ctgcgacaga cacatcttca acctgacccc cggcaacgtg	600
gaggacgacg aggacgtgaa cctgaagcac tgcagcttcg acatcgtgaa ggagggcacc	660
tgcaacggca aggcccagta cggccaggag gactacagca gctgcagaat gcccatgaac	720
ggccccacc accactacag caccttcccc gccgacacc tggccgccac cggccacgtg	780
tgcatccagg agcccagcag ctgcagcacc gtgagcctgc ccagcagcag caccaccggc	840
gaccacaccg gcgtgaccca ctacttcgag agcatcagac cccccgctt catcgactac	900
ctggccgtgg gcaga	915

[0046]

<210> 48

<211> 305

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> MybTF 的氨基酸序列, 变体 28

<400> 48
 Met His Met Asp Phe Ser Cys Phe Gln Glu Phe Pro Tyr Glu Trp His
 1 5 10 15
 Cys Arg Val Thr Thr Phe Asn Gly Phe His Asp Asn Asn Ala Val Ser
 20 25 30
 Glu Thr Val Glu Glu Phe Cys Asn Lys Arg Arg Met Gln Lys Lys Ser
 35 40 45
 Asp Glu Leu Arg Thr Lys Lys Lys Lys Lys Asn Ser Val Ser Arg Val
 50 55 60
 Cys Ser Arg Gly His Trp Arg Ile Ser Glu Asp Thr Gln Leu Met Glu
 65 70 75 80
 Leu Val Ser Val Tyr Gly Pro Gln Asn Trp Asn His Ile Ala Glu Ser
 85 90 95
 Met Gln Gly Arg Thr Gly Lys Ser Cys Arg Leu Arg Trp Phe Asn Gln
 100 105 110
 Leu Asp Pro Arg Ile Asn Lys Arg Ala Phe Ser Asp Glu Glu Glu Glu
 115 120 125
 Arg Leu Leu Ala Ala His Arg Ala Phe Gly Asn Lys Trp Ala Met Ile
 130 135 140
 Ala Lys Leu Phe Asn Gly Arg Thr Asp Asn Ala Leu Lys Asn His Trp
 145 150 155 160
 [0047] His Val Leu Met Ala Arg Lys Met Arg Gln Gln Ser Ser Ser Tyr Val
 165 170 175
 Gln Arg Phe Asn Gly Ser Ala His Glu Ser Asn Cys Asp Arg His Ile
 180 185 190
 Phe Asn Leu Thr Pro Gly Asn Val Glu Asp Asp Glu Asp Val Asn Leu
 195 200 205
 Lys His Cys Ser Phe Asp Ile Val Lys Glu Gly Thr Cys Asn Gly Lys
 210 215 220
 Ala Gln Tyr Gly Gln Glu Asp Tyr Ser Ser Cys Arg Met Pro Met Asn
 225 230 235 240
 Gly Pro His His His Tyr Ser Thr Phe Pro Ala Asp Thr Leu Ala Ala
 245 250 255
 Thr Ala His Val Cys Ile Gln Glu Pro Ser Ser Cys Ser Thr Val Ser
 260 265 270
 Leu Pro Ser Ser Ser Thr Thr Gly Asp His Thr Gly Val Thr His Tyr
 275 280 285
 Phe Glu Ser Ile Arg Pro Pro Ala Phe Ile Asp Tyr Leu Ala Val Gly
 290 295 300
 Arg
 305
 <210> 49

<211> 915		
<212> DNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<221> 来源		
<222> 1..915		
<223> /生物="人工序列"		
/注释="MybTF 的核苷酸序列, 变体 29"		
/mol_类型="未指定 DNA"		
<400> 49		
atgaagatgg actacagctg cttccaggag tacccttcg acttccactg cagagccacc	60	
accttcaacg gcttccacga gaacaacgcc gtgagcgaga ccgtggagga gttctgcaac	120	
cacagaagaa tgcagaagaa gagcgacgac ggccacacca agagaaagaa gagacagagc	180	
gtgagcagag tgtgcagcag aggccactgg agaatcagcg aggacacca gctgatggag	240	
ctgggtgagcg tgtacggccc ccagaactgg aaccacatcg ccgagagcat gcagggcaga	300	
[0048] accggcaaga gctgcagact gagatggttc aaccagctgg accccagaat caacaagaga	360	
gccttcagcg acgaggagga ggagagactg ctggccgccc acagagcctt cggcaacaag	420	
tgggccatga tcgccaagct gttcaacggc agaaccgaca acgccctgaa gaaccactgg	480	
cacgtgctga tggccagaaa gatgagacag cagagcagca gctacgtgca gagattcaac	540	
ggcagcgccc acgagagcaa cagcgaccac aaggtgttca acctgagccc cggcaacgtg	600	
gacgaggacg aggacgtgaa cggcaagaag tgcagctacg agatgctgaa ggagggcagc	660	
accagctgc acgccagta cctgcaggag gactacacca gcagcagaat gcccgccag	720	
ggccccacc accactacac cacctggccc gccgacagcc tggccctgac cctgcacgtg	780	
tgcattccagg agcccagcag cagcagcagc atcagcatcc ccagcaccag caccaccggc	840	
gagcacacca tgctgaccag atacttcgag accgtgaagc cccccgctt catcgacttc	900	
ctgggcgtgg gccac	915	

<210> 50

<211> 305

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> MybTF 的氨基酸序列, 变体 29

<400> 50

Met Lys Met Asp Tyr Ser Cys Phe Gln Glu Tyr Pro Phe Asp Phe His
 1 5 10 15
 Cys Arg Ala Thr Thr Phe Asn Gly Phe His Glu Asn Asn Ala Val Ser
 20 25 30
 Glu Thr Val Glu Glu Phe Cys Asn His Arg Arg Met Gln Lys Lys Ser
 35 40 45
 Asp Asp Gly His Thr Lys Arg Lys Lys Arg Gln Ser Val Ser Arg Val
 50 55 60
 Cys Ser Arg Gly His Trp Arg Ile Ser Glu Asp Thr Gln Leu Met Glu
 65 70 75 80
 Leu Val Ser Val Tyr Gly Pro Gln Asn Trp Asn His Ile Ala Glu Ser
 85 90 95
 [0049] Met Gln Gly Arg Thr Gly Lys Ser Cys Arg Leu Arg Trp Phe Asn Gln
 100 105 110
 Leu Asp Pro Arg Ile Asn Lys Arg Ala Phe Ser Asp Glu Glu Glu Glu
 115 120 125
 Arg Leu Leu Ala Ala His Arg Ala Phe Gly Asn Lys Trp Ala Met Ile
 130 135 140
 Ala Lys Leu Phe Asn Gly Arg Thr Asp Asn Ala Leu Lys Asn His Trp
 145 150 155 160
 His Val Leu Met Ala Arg Lys Met Arg Gln Gln Ser Ser Ser Tyr Val
 165 170 175
 Gln Arg Phe Asn Gly Ser Ala His Glu Ser Asn Ser Asp His Lys Val
 180 185 190
 Phe Asn Leu Ser Pro Gly Asn Val Asp Glu Asp Glu Asp Val Asn Gly
 195 200 205
 Lys Lys Cys Ser Tyr Glu Met Leu Lys Glu Gly Ser Thr Gln Leu His
 210 215 220
 Ala Gln Tyr Leu Gln Glu Asp Tyr Thr Ser Ser Arg Met Pro Ala Gln
 225 230 235 240
 Gly Pro His His His Tyr Thr Thr Trp Pro Ala Asp Ser Leu Ala Leu
 245 250 255
 Thr Leu His Val Cys Ile Gln Glu Pro Ser Ser Ser Ser Ser Ile Ser
 260 265 270

Ile Pro Ser Thr Ser Thr Thr Gly Glu His Thr Met Leu Thr Arg Tyr
 275 280 285
 Phe Glu Thr Val Lys Pro Pro Ala Phe Ile Asp Phe Leu Gly Val Gly
 290 295 300
 His
 305

<210> 51

<211> 915

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<222> 1..915

<223> /生物="人工序列"

/注释="MybTF 的核苷酸序列, 变体 30"

/mol_类型="未指定 DNA"

<400> 51

[0050]

atgaagatgg acttcagctg cttccaggag taccccttcg agttccactg cagaggctgc	60
accttcaacg gcttcagaga gaacaacgcc gtgagcgaca ccgtggagga gttctgccag	120
aagagaaaga tgcagaagaa gtgcgacgac ctgagaacca agaagaagaa gaagcagagc	180
gtgagcagag tgtgcagcag aggccactgg agaatcagcg aggacaccca gctgatggag	240
ctggtgagcg tgtacggccc ccagaactgg aaccacatcg ccgagagcat gcagggcaga	300
accggcaaga gctgcagact gagatggttc aaccagctgg accccagaat caacaagaga	360
gccttcagcg acgaggagga ggagagactg ctggccgccc acagagcctt cggcaacaag	420
tgggccatga tcgccaagct gttcaacggc agaaccgaca acgccctgaa gaaccactgg	480
cacgtgctga tggccagaaa gatgagacag cagagcagca gctacgtgca gagattcaac	540
ggcagcgccc acgagagcaa caccgaccac aagatcttcc agctgagccc cggcaacgtg	600
gacgacgacg aggacgtgca gctgaagaag tgcacctggg agatgctgag agacggcacc	660
accaacctga aggccagta cctgaacgag gagtacacca gcagcagaat gcccatgaac	720

ggccccacc accactacag caccttcccc gccgagagcc tggccatcac cctgcacgtg 780

agcgtgcagg agcccagcac cagcagctgc ctgagcctgc ccagcagcag ctgcaccgcc 840

gagcacaccc tggtgaccag atacttcgag accatcaagc cccccgcctt catcgacttc 900

ctgggcgtgg gcaga 915

<210> 52

<211> 305

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> MybTF 的氨基酸序列, 变体 30

<400> 52

Met Lys Met Asp Phe Ser Cys Phe Gln Glu Tyr Pro Phe Glu Phe His
1 5 10 15

Cys Arg Gly Cys Thr Phe Asn Gly Phe Arg Glu Asn Asn Ala Val Ser
20 25 30

Asp Thr Val Glu Glu Phe Cys Gln Lys Arg Lys Met Gln Lys Lys Cys
35 40 45

Asp Asp Leu Arg Thr Lys Lys Lys Lys Lys Gln Ser Val Ser Arg Val
50 55 60

Cys Ser Arg Gly His Trp Arg Ile Ser Glu Asp Thr Gln Leu Met Glu
65 70 75 80

Leu Val Ser Val Tyr Gly Pro Gln Asn Trp Asn His Ile Ala Glu Ser
85 90 95

Met Gln Gly Arg Thr Gly Lys Ser Cys Arg Leu Arg Trp Phe Asn Gln
100 105 110

Leu Asp Pro Arg Ile Asn Lys Arg Ala Phe Ser Asp Glu Glu Glu Glu
115 120 125

Arg Leu Leu Ala Ala His Arg Ala Phe Gly Asn Lys Trp Ala Met Ile
130 135 140

Ala Lys Leu Phe Asn Gly Arg Thr Asp Asn Ala Leu Lys Asn His Trp
145 150 155 160

His Val Leu Met Ala Arg Lys Met Arg Gln Gln Ser Ser Ser Tyr Val
165 170 175

Gln Arg Phe Asn Gly Ser Ala His Glu Ser Asn Thr Asp His Lys Ile
180 185 190

Phe Gln Leu Ser Pro Gly Asn Val Asp Asp Asp Glu Asp Val Gln Leu
195 200 205

[0051]

Lys Lys Cys Thr Trp Glu Met Leu Arg Asp Gly Thr Thr Asn Leu Lys
 210 215 220
 Ala Gln Tyr Leu Asn Glu Glu Tyr Thr Ser Ser Arg Met Pro Met Asn
 225 230 235 240
 Gly Pro His His His Tyr Ser Thr Phe Pro Ala Glu Ser Leu Ala Ile
 245 250 255
 Thr Leu His Val Ser Val Gln Glu Pro Ser Thr Ser Ser Cys Leu Ser
 260 265 270
 Leu Pro Ser Ser Ser Cys Thr Ala Glu His Thr Leu Val Thr Arg Tyr
 275 280 285
 Phe Glu Thr Ile Lys Pro Pro Ala Phe Ile Asp Phe Leu Gly Val Gly
 290 295 300
 Arg
 305

<210> 53
 <211> 915
 <212> DNA
 <213> 人工序列

[0052] <220>
 <221> 来源
 <222> 1..915
 <223> /生物="人工序列"
 /注释="MybTF 的核苷酸序列, 变体 31"
 /mol_类型="未指定 DNA"

<400> 53
 atgaagatgg agttcagctg cttccaggag ttccccttcg actggcactg caagggcacc 60
 accttcagg gcttcagaga gcagaacgcc gtgagcgaga ccgtggagga gttctgcaac 120
 aagagaagaa tgcagaagaa gagcgacgac ctgaagacca agagaaagaa gaagcagagc 180
 gtgagcagag tgtgcagcag aggccactgg agaatcagcg aggacacca gctgatggag 240
 ctggtgagcg tgtacggccc ccagaactgg aaccacatcg ccgagagcat gcagggcaga 300
 accggcaaga gctgcagact gagatggttc aaccagctgg accccagaat caacaagaga 360
 gccttcagcg acgaggagga ggagagactg ctggccgccc acagagcctt cggcaacaag 420
 tgggccatga tcgccaagct gttcaacggc agaaccgaca acgccctgaa gaaccactgg 480

cacgtgctga tggccagaaa gatgagacag cagagcagca gctacgtgca gagattcaac 540
 ggccagcgccc acgagagcaa caccgacaga agaattcttca acctgagccc cggccagggtg 600
 gacgacgacg aggacgtgaa cctgaagaag tgcagctggg agatgctgaa ggagggcacc 660
 accaacctga aggccagtt cctgcaggag gactacagca gcagcagaat gcccatgcag 720
 ggccccacc accactacag caccttcccc gccgacagcc tggccctgag cctgagagtg 780
 agcatccagg agcccagcag cagcagcagc ctgagcctgc ccagcagctg caccaccggc 840
 gagcacacca tggtgaccag atacttcgag agcatcaagc ccccgccctt catcgacttc 900
 ctgggcgtgg gccac 915

<210> 54

<211> 305

<212> PRT

<213> 人工序列

[0053]

<220>

<223> MybTF 的氨基酸序列, 变体 31

<400> 54

Met Lys Met Glu Phe Ser Cys Phe Gln Glu Phe Pro Phe Asp Trp His
 1 5 10 15
 Cys Lys Gly Thr Thr Phe Gln Gly Phe Arg Glu Gln Asn Ala Val Ser
 20 25 30
 Glu Thr Val Glu Glu Phe Cys Asn Lys Arg Arg Met Gln Lys Lys Ser
 35 40 45
 Asp Asp Leu Lys Thr Lys Arg Lys Lys Lys Gln Ser Val Ser Arg Val
 50 55 60
 Cys Ser Arg Gly His Trp Arg Ile Ser Glu Asp Thr Gln Leu Met Glu
 65 70 75 80
 Leu Val Ser Val Tyr Gly Pro Gln Asn Trp Asn His Ile Ala Glu Ser
 85 90 95
 Met Gln Gly Arg Thr Gly Lys Ser Cys Arg Leu Arg Trp Phe Asn Gln
 100 105 110
 Leu Asp Pro Arg Ile Asn Lys Arg Ala Phe Ser Asp Glu Glu Glu Glu
 115 120 125
 Arg Leu Leu Ala Ala His Arg Ala Phe Gly Asn Lys Trp Ala Met Ile
 130 135 140

Ala Lys Leu Phe Asn Gly Arg Thr Asp Asn Ala Leu Lys Asn His Trp
 145 150 155 160
 His Val Leu Met Ala Arg Lys Met Arg Gln Gln Ser Ser Ser Tyr Val
 165 170 175
 Gln Arg Phe Asn Gly Ser Ala His Glu Ser Asn Thr Asp Arg Arg Ile
 180 185 190
 Phe Asn Leu Ser Pro Gly Gln Val Asp Asp Asp Glu Asp Val Asn Leu
 195 200 205
 Lys Lys Cys Ser Trp Glu Met Leu Lys Glu Gly Thr Thr Asn Leu Lys
 210 215 220
 Ala Gln Phe Leu Gln Glu Glu Tyr Ser Ser Ser Arg Met Pro Met Gln
 225 230 235 240
 Gly Pro His His His Tyr Ser Thr Phe Pro Ala Asp Ser Leu Ala Leu
 245 250 255
 Ser Leu Arg Val Ser Ile Gln Glu Pro Ser Ser Ser Ser Ser Leu Ser
 260 265 270
 Leu Pro Ser Ser Cys Thr Thr Gly Glu His Thr Met Val Thr Arg Tyr
 275 280 285
 Phe Glu Ser Ile Lys Pro Pro Ala Phe Ile Asp Phe Leu Gly Val Gly
 290 295 300

His

[0054] 305

<210> 55

<211> 915

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<222> 1..915

<223> /生物="人工序列"

/注释="MybTF 的核苷酸序列, 变体 32"

/mol_类型="未指定 DNA"

<400> 55

atgaagatgg acttcagctg cttccaggag tacccttcg agttccactg cagaggcacc 60

accttcaacg gctggagaga gaacaacgcc gtgagcgaga ccgtggagga gttcacccag 120

agaagaagaa tgcagaagaa gaccgacgac ctgaagacca agaagaagaa gaagcagagc 180

gtgagcagag tgtgcagcag aggccactgg agaatcagcg aggacacca gctgatggag 240

ctggtgagcg tgtacggccc ccagaactgg aaccacatcg ccgagagcat gcagggcaga	300
accggcaaga gctgcagact gagatggttc aaccagctgg accccagaat caacaagaga	360
gccttcagcg acgaggagga ggagagactg ctggccgccc acagagcctt cggcaacaag	420
tgggcatga tcgccaagct gttcaacggc agaaccgaca acgccctgaa gaaccactgg	480
cacgtgctga tggccagaaa gatgagacag cagagcagca gctacgtgca gagattcaac	540
ggcagcggcc acgagagcaa caccgaccac aagatcttca acctgacccc cggcaacgtg	600
gacgacgacg aggacgtgaa cctgaagaag tgcagctggg agatgctgaa ggagggcacc	660
accaacctga aggccagta cctgcaggac gactacagca gcagcagaat gcccatgcag	720
ggccccacc accactacag caccttcccc gccgacagcc tggccctgac cctgcacgtg	780
agcatccagg agcccagcag caccagcagc ctgagcctgc ccaccagcag caccaccggc	840
gagcacacca tggtgaccag atacttcgag accatcaagc ccccgccctt catcgacttc	900
[0055] ctgggcgtgg gccac	915

<210> 56

<211> 305

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> MybTF 的氨基酸序列, 变体 32

<400> 56

Met	Lys	Met	Asp	Phe	Ser	Cys	Phe	Gln	Glu	Tyr	Pro	Phe	Glu	Phe	His
1			5					10					15		
Cys	Arg	Gly	Thr	Thr	Phe	Asn	Gly	Trp	Arg	Glu	Asn	Asn	Ala	Val	Ser
			20					25					30		
Glu	Thr	Val	Glu	Glu	Phe	Thr	Gln	Arg	Arg	Arg	Met	Gln	Lys	Lys	Thr
		35				40					45				
Asp	Asp	Leu	Lys	Thr	Lys	Lys	Lys	Lys	Lys	Gln	Ser	Val	Ser	Arg	Val
	50				55					60					
Cys	Ser	Arg	Gly	His	Trp	Arg	Ile	Ser	Glu	Asp	Thr	Gln	Leu	Met	Glu
65				70					75					80	

[illegible]

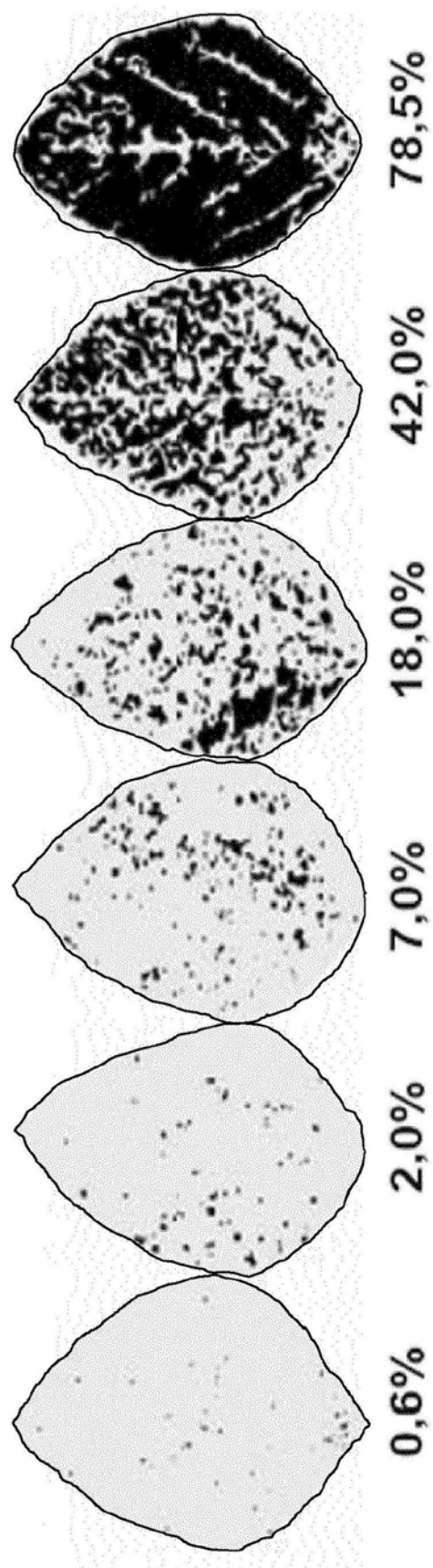


图1

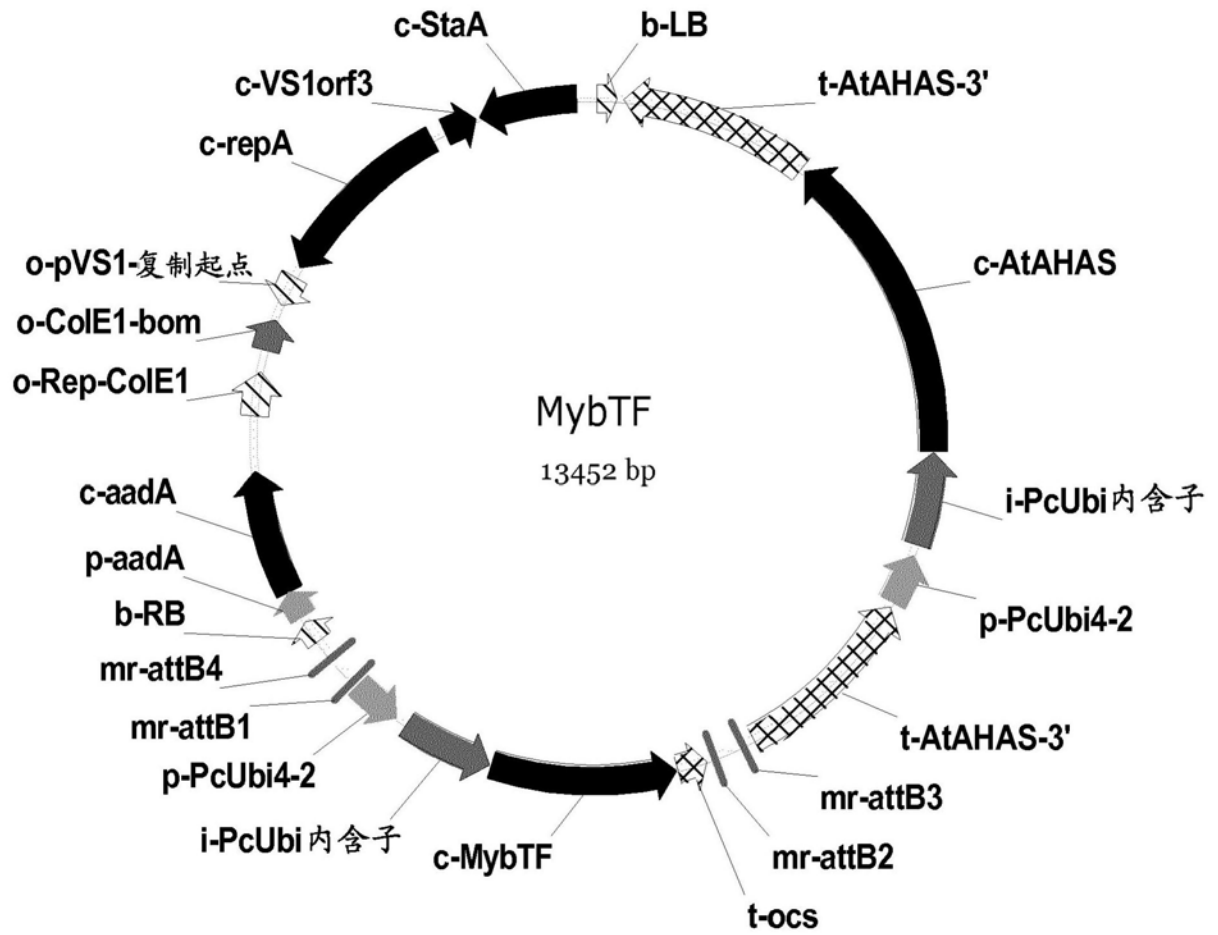


图2

At3g29020-基因组的 MybTF-DNA	(1)	1	GTATATATGAGACATTAGTTATAGAAGAGAGACTAACA	60
	(1)		-----ATGAAGATGGATTTTTCATGTGTTT	
	(1)		-----ATGAAGATGGATTTTTCATGTGTTT	
	(1)		-----ATGGATTTTTCATGTGTTT	
At3g29020.2-CDS				
At3g29020.1-CDS				
At3g29020-基因组的 MybTF-DNA	(61)	61	CCAAGAAATACCCCTTTTGAGTTTCATTGCAGAGGAACAACATTAA	120
	(24)		CCAAGAAATACCCCTTTTGAGTTTCATTGCAGAGGAACAACATTAA	
	(24)		CCAAGAAATACCCCTTTTGAGTTTCATTGCAGAGGAACAACATTAA	
	(18)		CCAAGAAATACCCCTTTTGAGTTTCATTGCAGAGGAACAACATTAA	
At3g29020.2-CDS				
At3g29020.1-CDS				
At3g29020-基因组的 MybTF-DNA	(121)	121	CAATGCAGTGTCTGAACAACAGTAGAAAGAGTTCGTGTAATAAAGAAGGATGCAGAAGAAGAG	180
	(84)		CAATGCAGTGTCTGAACAACAGTAGAAAGAGTTCGTGTAATAAAGAAGGATGCAGAAGAAGAG	
	(84)		CAATGCAGTGTCTGAACAACAGTAGAAAGAGTTCGTGTAATAAAGAAGGATGCAGAAGAAGAG	
	(78)		CAATGCAGTGTCTGAACAACAGTAGAAAGAGTTCGTGTAATAAAGAAGGATGCAGAAGAAGAG	
At3g29020.2-CDS				
At3g29020.1-CDS				
At3g29020-基因组的 MybTF-DNA	(181)	181	TGATGATTTGAAGACTAAGAAGAAGAAAGAAACAGAGTGTTC	240
	(144)		TGATGATTTGAAGAACTAAGAAGAAGAAAGAAACAGAGTGTTC	
	(144)		TGATGATTTGAAGACTAAGAAGAAGAAAGAAACAGAGTGTTC	
	(138)		TGATGATTTGAAGACTAAGAAGAAGAAAGAAACAGAGTGTTC	
At3g29020.2-CDS				
At3g29020.1-CDS				
At3g29020-基因组的 MybTF-DNA	(241)	241	ACATTGGAGGATCTCTGAAGATACCTCAGCTTATGGAGCTTGTTCGGTTTACGGTCCCTCA	300
	(204)		ACATTGGAGGATCTCTGAAGATACCTCAGCTTATGGAGCTTGTTCGGTTTACGGTCCCTCA	
	(204)		ACATTGGAGGATCTCTGAAGATACCTCAGCTTATGGAGCTTGTTCGGTTTACGGTCCCTCA	
	(198)		ACATTGGAGGATCTCTGAAGATACCTCAGCTTATGGAGCTTGTTCGGTTTACGGTCCCTCA	
At3g29020.2-CDS				
At3g29020.1-CDS				
At3g29020-基因组的 MybTF-DNA	(301)	301	AAACTGGAACCAATTCGAGAGAGTATGCAAGGAAGAACAGGTAACGACAAAAATTGAAA	360
	(264)		AAACTGGAACCAATTCGAGAGAGTATGCAAGGAAGAACAGGTAACGACAAAAATTGAAA	
	(264)		AAACTGGAACCAATTCGAGAGAGTATGCAAGGAAGAACAGGTAACGACAAAAATTGAAA	
	(258)		AAACTGGAACCAATTCGAGAGAGTATGCAAGGAAGAACAGGTAACGACAAAAATTGAAA	
At3g29020.2-CDS				
At3g29020.1-CDS				
At3g29020-基因组的 MybTF-DNA	(361)	361	TCCTTAATCTTCCCTTAGCTAATTCGGGAACATGAACCTACAAATGTTTTTCTTGCTTC	420
	(324)		TCCTTAATCTTCCCTTAGCTAATTCGGGAACATGAACCTACAAATGTTTTTCTTGCTTC	
	(305)		-----	
	(299)		-----	

图3

At3g29020-基因组的 MybTF-DNA	(421)	421	TTTGTGTTTTGTCTTAAAGGAAAGAGCTGCAGATTGAGGTGGTTTAAACCAGTTAGATCCG	480
	(384)		TTTGTGTTTTGTCTTAAAGGAAAGAGCTGCAGATTGAGGTGGTTTAAACCAGTTAGATCCG	
	(305)		-----GAAAGAGCTGCAGATTGAGGTGGTTTAAACCAGTTAGATCCG	
	(299)		-----GAAAGAGCTGCAGATTGAGGTGGTTTAAACCAGTTAGATCCG	
At3g29020-基因组的 MybTF-DNA	(481)	481	AGGATTAACAAGAGAGCTTTTCAGTGATGAAGAAAGAGAGAGACTACTTGTGCTCATAGA	540
	(444)		AGGATTAACAAGAGAGCTTTTCAGTGATGAAGAAAGAGAGAGACTACTTGTGCTCATAGA	
	(346)		AGGATTAACAAGAGAGCTTTTCAGTGATGAAGAAAGAGAGAGACTACTTGTGCTCATAGA	
	(340)		AGGATTAACAAGAGAGCTTTTCAGTGATGAAGAAAGAGAGAGACTACTTGTGCTCATAGA	
At3g29020-基因组的 MybTF-DNA	(541)	541	GCTTTTGGTAACAAATGGGCTATGATTGCTAAGCTTTTCAATGGAAACAGATAATGCC	600
	(504)		GCTTTTGGTAACAAATGGGCTATGATTGCTAAGCTTTTCAATGGAAACAGATAATGCC	
	(406)		GCTTTTGGTAACAAATGGGCTATGATTGCTAAGCTTTTCAATGGAAACAGATAATGCC	
	(400)		GCTTTTGGTAACAAATGGGCTATGATTGCTAAGCTTTTCAATGGAAACAGATAATGCC	
At3g29020-基因组的 MybTF-DNA	(601)	601	TTGAAGAATCATTTGGCATGTTCTCATGGCAAGGAAAGATGAGACAGCAATCAAGTTCCTAC	660
	(564)		TTGAAGAATCATTTGGCATGTTCTCATGGCAAGGAAAGATGAGACAGCAATCAAGTTCCTAC	
	(466)		TTGAAGAATCATTTGGCATGTTCTCATGGCAAGGAAAGATGAGACAGCAATCAAGTTCCTAC	
	(460)		TTGAAGAATCATTTGGCATGTTCTCATGGCAAGGAAAGATGAGACAGCAATCAAGTTCCTAC	
At3g29020-基因组的 MybTF-DNA	(661)	661	GTCCAAAGATTCAATGGTTCTGCTCATGAATCTAACACAGATCACAAAATCTTCAATCTTT	720
	(624)		GTCCAAAGATTCAATGGTTCTGCTCATGAATCTAACACAGATCACAAAATCTTCAATCTTT	
	(526)		GTCCAAAGATTCAATGGTTCTGCTCATGAATCTAACACAGATCACAAAATCTTCAATCTTT	
	(520)		GTCCAAAGATTCAATGGTTCTGCTCATGAATCTAACACAGATCACAAAATCTTCAATCTTT	
At3g29020-基因组的 MybTF-DNA	(721)	721	TCCTCCTGGTTTGTCTCTTCTTACCCTTACACATATGCATTGAGTTTAACTCTGTATTGTA	780
	(684)		TCCTCCTGGTTTGTCTCTTCTTACCCTTACACATATGCATTGAGTTTAACTCTGTATTGTA	
	(586)		TCCTCTG-----	
	(580)		TCCTCCTGGTTTGTCTCTTCTTACCCTTACACATATGCATTGAGTTTAACTCTGTATTGTA	
At3g29020-基因组的 MybTF-DNA	(781)	781	ATGAGATACTTTCGATATTTATCATCTCAGGAACAAATGAACCTATGTTTGGTCTCAAAAG	840
	(744)		ATGAGATACTTTCGATATTTATCATCTCAGGAACAAATGAACCTATGTTTGGTCTCAAAAG	
	(593)		-----	
	(640)		ATGAGATACTTTCGATATTTATCATCTCAGGAACAAATGAACCTATGTTTGGTCTCAAAAG	

图3(续)

At3g29020-基因组的 MybTF-DNA	(841)	841	TAGTCAGATTGCAAGTTTGGTGAGTCTTTAAGTTTCATGGTTCTGTGTGTTCTTGCAGGT	900
	(804)		TAGTCAGATTGCAAGTTTGGTGAGTCTTTAAGTTTCATGGTTCTGTGTGTTCTTGCAGGT	
	(593)		-----GT	
	(700)		TAG-----	
At3g29020-基因组的 MybTF-DNA	(901)	901	AATGTAGATGATGATGAAGATGTGAATCTGAAAAAGTGCAGCTGGGAAATGCTAAAGAG	960
	(864)		AATGTAGATGATGATGAAGATGTGAATCTGAAAAAGTGCAGCTGGGAAATGCTAAAGAG	
	(595)		AATGTAGATGATGATGAAGATGTGAATCTGAAAAAGTGCAGCTGGGAAATGCTAAAGAG	
	(703)		-----	
At3g29020-基因组的 MybTF-DNA	(961)	961	GGAACTACTAACTGAAAGCTCAGTATCTCCAAGAGAATATAGTTCTTTCACGCATGCCG	1020
	(924)		GGAACTACTAACTGAAAGCTCAGTATCTCCAAGAGAATATAGTTCTTTCACGCATGCCG	
	(655)		GGAACTACTAACTGAAAGCTCAGTATCTCCAAGAGAATATAGTTCTTTCACGCATGCCG	
	(703)		-----	
At3g29020-基因组的 MybTF-DNA	(1021)	1021	ATGCAGGGTCCACATCATCACTACTCAACCTTCCCTGCAGATTCCCTTGGCAGTGCACATG	1080
	(984)		ATGCAGGGTCCACATCATCACTACTCAACCTTCCCTGCAGATTCCCTTGGCAGTGCACATG	
	(715)		ATGCAGGGTCCACATCATCACTACTCAACCTTCCCTGCAGATTCCCTTGGCAGTGCACATG	
	(703)		-----	
At3g29020-基因组的 MybTF-DNA	(1081)	1081	CATGTCCTCCATCCAGGAACCATCATCATCGTCAATTATCACTGCCCATCATCAACA	1140
	(1044)		CATGTCCTCCATCCAGGAACCATCATCATCGTCAATTATCACTGCCCATCATCAACA	
	(775)		CATGTCCTCCATCCAGGAACCATCATCATCGTCAATTATCACTGCCCATCATCAACA	
	(703)		-----	
At3g29020-基因组的 MybTF-DNA	(1141)	1141	ACTGGAGAACATACAATGGTGACCAGATATTTTGAGACCATTAAACCTCCAGCATTTATA	1200
	(1104)		ACTGGAGAACATACAATGGTGACCAGATATTTTGAAACCATTAACCTCCAGCATTTATA	
	(835)		ACTGGAGAACATACAATGGTGACCAGATATTTTGAGACCATTAAACCTCCAGCATTTATA	
	(703)		-----	
At3g29020-基因组的 MybTF-DNA	(1201)	1201	GATTTCTAGGAGTTGGTCACTAAAGCTCTAACATTTAGAGTGGGAACTAATCAAGAAGT	1260
	(1164)		GATTTCTAGGAGTTGGTCACTAA-----	
	(895)		GATTTCTAGGAGTTGGTCACTAA-----	
	(703)		-----	

图3(续)

At3g29020-基因组的 MybTF-DNA	(1261)	1261	TGCTTACTCCTGTCATTATTATCAAAAGTCTCTGACTTTTCTTTTGTTAGCCATTAAACATG	1320
	(1188)		-----	
	(919)		-----	
	(703)		-----	
At3g29020.2-CDS				
At3g20020.1-CDS				
At3g29020-基因组的 MybTF-DNA	(1321)	1321	ACAAGCTAAAGACATCAAGT	1340
	(1188)		-----	
	(919)		-----	
	(703)		-----	
At3g29020.2-CDS				
At3g20020.1-CDS				

图3 (续)

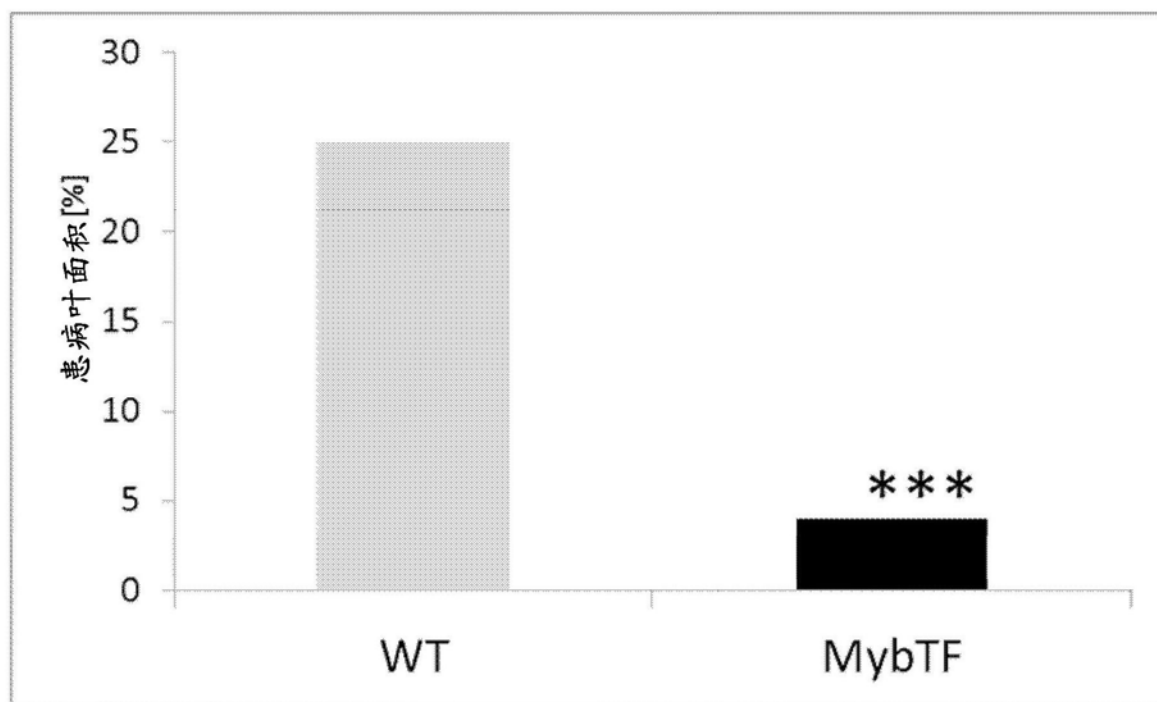


图4

SEQ ID NO:	序列表的描述
1	MybTF基因的核苷酸序列; 拟南芥
2	MybTF基因的优化的编码序列CDS1的核苷酸序列, 其是经密码子优化的用于在大豆中优化表达
3	MybTF基因的优化的编码序列CDS2的核苷酸序列, 其是经密码子优化的用于在大豆中优化表达
4	来源于基因组序列的MybTF基因的第二CDS (CDS2) 序列的核苷酸序列 (At3g29020.2, TAIR 登录号No 4010715313); 拟南芥
5	来源于CDS2核苷酸序列的MybTF蛋白的氨基酸序列
6	来源于基因组序列的MybTF基因的第一CDS (CDS1) 序列的核苷酸序列 (At3g29020.1, 登录号No NM_113823); 拟南芥

图5

7	来源于CDS1核苷酸序列的MybTF蛋白质的氨基酸序列；拟南芥
8	全长基因组 MybTF序列的核苷酸序列(TAIR 登录号 4010724011)
9	核苷酸序列 MybTF, 变体 1
10	核苷酸序列 MybTF, 变体 2
11	核苷酸序列 MybTF, 变体 3
12	核苷酸序列 MybTF, 变体 4
13	核苷酸序列 MybTF, 变体 5
14	核苷酸序列 MybTF, 变体 6
15	核苷酸序列 MybTF, 变体 7
16	核苷酸序列 MybTF, 变体 8
17	核苷酸序列 MybTF, 变体 9
18	核苷酸序列 MybTF, 变体 10
19	核苷酸序列 MybTF, 变体 11
20	核苷酸序列 MybTF, 变体 12
21	核苷酸序列 MybTF, 变体 13
22	核苷酸序列 MybTF, 变体 14
23	核苷酸序列 MybTF, 变体 15
24	核苷酸序列 MybTF, 变体 16
25	核苷酸序列 MybTF, 变体 17
26	氨基酸序列 MybTF, 变体 17
27	核苷酸序列 MybTF, 变体 18
28	氨基酸序列 MybTF, 变体 18
29	核苷酸序列 MybTF, 变体 19
30	氨基酸序列 MybTF, 变体 19
31	核苷酸序列 MybTF, 变体 20
32	氨基酸序列 MybTF, 变体 20
33	核苷酸序列 MybTF, 变体 21
34	氨基酸序列 MybTF, 变体 21
35	核苷酸序列 MybTF, 变体 22
36	氨基酸序列 MybTF, 变体 22
37	核苷酸序列 MybTF, 变体 23
38	氨基酸序列 MybTF, 变体 23
39	核苷酸序列 MybTF, 变体 24
40	氨基酸序列 MybTF, 变体 24
41	核苷酸序列 MybTF, 变体 25
42	氨基酸序列 MybTF, 变体 25

图5(续)

43	核苷酸序列 MybTF, 变体 26
44	氨基酸序列 MybTF, 变体 26
45	核苷酸序列 MybTF, 变体 27
46	氨基酸序列 MybTF, 变体 27
47	核苷酸序列 MybTF, 变体 28
48	氨基酸序列 MybTF, 变体 28
49	核苷酸序列 MybTF, 变体 29
50	氨基酸序列 MybTF, 变体 29
51	核苷酸序列 MybTF, 变体 30
52	氨基酸序列 MybTF, 变体 30
53	核苷酸序列 MybTF, 变体 31
54	氨基酸序列 MybTF, 变体 31
55	核苷酸序列 MybTF, 变体 32
56	氨基酸序列 MybTF, 变体 32

图5 (续)