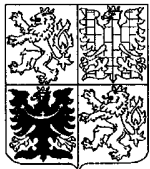


PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

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

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **09.09.1999**
(32) Datum podání prioritní přihlášky: **10.09.1998**
(31) Číslo prioritní přihlášky: **1998/98307337**
(33) Země priority: **EP**
(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **12.09.2001**
(Věstník č. 9/2001)
(86) PCT číslo: **PCT/GB99/03011**
(87) PCT číslo zveřejnění: **WO00/15810**

(21) Číslo dokumentu:

2001 - 759

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl. ⁷:

C 12 N 15/82
C 12 N 9/10
A 23 L 1/0522
A 01 H 5/00

(71) Přihlašovatel:
MONSANTO UK LTD, Trumpington, GB;

(72) Původce:
Goldsbrough Andrew, Histon, GB;
Colliver Steve, Brickhill, Bedford, GB;

(74) Zástupce:
Kania František Ing., Mendlovo nám. 1a, Brno, 60300;

(54) Název přihlášky vynálezu:
Izoformy enzymu pro větvení škrobu II (SBE -
IIA a SBE -IIB) z pšenice

(57) Anotace:
K ovlivnění vlastností škrobu, produkovaného rostlinou,
včetně teploty želatinace škrobu lze použít třídu genů pšenice
SBEII, zvanou SBEII-1. Škrob je využitelný například při
výrobě pečiva.

CZ 2001 - 759 A3

Izoformy enzymu pro větvení škrobu II (SBE-IIA a SBE-IIB) z pšenice

Oblast techniky

Vynález se týká obecně rostlinných kompozic škrobu a zaměřuje se na nukleotidové sekvence; polypeptidy jimi kódované; vektory a hostitelské buňky a hostitelské organismy zahrnující jednu nebo více sekvencí; a na způsob změny jedné nebo více charakteristik rostliny; rostlinu s více změněnými charakteristikami; škrob získaný z této rostliny; a jeho použití.

Dosavadní stav techniky

Hlavní vývoj v oblasti cereálií byl v poslední době primárně zaměřen na funkci podjednotek glutenového proteinu a jejich roli v systémech pečení. Tomu ve velké míře napomohl přebytek přirozené různorodosti odrůd z hlediska podjednotek glutenového proteinu.

Naopak, ačkoli se mouky z komerčně pěstované pšenice liší, obsahují přibližně 75 až 85% škrobu; význam škrobu z hlediska pěstování byl opomenut. To je z velké míry způsobeno obtížností měření rozdílů ve struktuře škrobu. Avšak omezené množství studií, které byly provedeny, prokazuje nedostatek přirozených variací mezi různými odrůdami pšenice. Díky rekombinantní DNA a technologiím genového přenosu je nyní možné vytvořit novou variaci *in planta*, kde je realizovatelným cílem přesně modifikovaná kompozice škrobu v pšenici.

Škrob je hlavním zdrojem uhlíku u rostlin, obsahující 50 % a více sušiny mnoha zásobních částí, například hlíz a semen cereálií. Škrob má široké využití v potravinářství a průmyslu. V mnoha případech je však nezbytné přírodní škrob modifikovat, chemickými nebo fyzikálními způsoby k docílení různých vlastností pro určité aplikace. Produkce škrobů s požadovanými vlastnostmi přímo v rostlině by byla velmi žádoucí, čímž by se odstranila potřeba dalších modifikací. Dosažení tohoto záměru pomocí genetického inženýrství vyžaduje znalost metabolických pochodů biosyntézy škrobu. Zahrnuje charakterizaci genů a kódovaných genových produktů, které katalyzují syntézu škrobu. Znalost regulace biosyntézy škrobu umožňuje „přeprogramování“ biosyntetických pochodů s dosažením škrobu s novými vlastnostmi, které mohou mít nové průmyslové aplikace. Nejvýznamnější vlastnost škrobu je odvozena od schopnosti přirozené granulace ztrátou přirozené struktury a uvolňováním a absorpcí vody za vhodných podmínek, provázená viskozitou a vláknitou strukturou v procesu zvaném želatinace. Želatinace byla definována (W.A. Atwell a kol., 1988) jako „... rozrušení (přetržení) molekulové struktury škrobu projevující se irreverzibilními změnami ve vlastnostech, jako například granulární bobtnání, přirozené

krystalické tání, ztrátou dvojlomu a rozpustnost škrobu. Bod počáteční želatizace a rozmezí, v kterém se objevuje, závisí na koncentraci škrobu, způsobu pozorování, granulovému typu a granulových heterogenitách v místě pozorování“.

Pro úplnou želatinaci škrobu je třeba 14 molekul vody na molekulu bezvodé glukózy, to znamená minimálně 75 % vody. (Donovan, 1979). K želatinaci škrobu většinou dochází zahřátím, ale může k ní též dojít fyzikálním poškozením a některými chaotropními látkami, zejména dimethylsulfoxidem (DMSO), močovinou, chloridem vápenatým, silnou bází a kyselinou.

Různé pochody, ke kterým dochází během želatinace, mohou být sledovány různými metodami včetně dvojlomu, rentgenovou difrakcí, diferenciální skenovací kalorimetrií (DSC), ^{13}C NMR. Bobtnání je možné pozorovat různými metodami, zejména deformovatelností.

Diferenciální skenovací kalorimetrie (DSC) je destruktivní metoda provázená endotermickým dějem zahříváním granulí, obecně založená na měření teploty a endotermické energie (ΔH) vyžadované pro tání nativních krystalů. Teplota želatinace škrobu závisí na obsahu vody vyšším než 75 % (popisovaný jako přebytek vody), ale zvyšuje se při omezeném obsahu vody (Donovan, 1979). Rychlost a rozsah bobtnání granule škrobu je závislá na typu vývoje viskozity vodné suspenze škrobu na zahřívání. Proces bobtnání je proto technologicky nejdůležitější. Viskozita závislá na zahřívání se proto může běžně měřit Brabenderovým amylografem (Brabender je ochranná známka) (Kennedy a Cabalda, 1991) nebo za použití analyzátoru Rapid Visco (Rapid Visco je ochranná známka od Newport Scientific, Australia). Obr. 1 je typickým profilem viskoamylografu pro pšeničný škrob, získaným tímto způsobem, vykazující změny u škrobu během pečení a po něm. Protože granule škrobu bobtnají při příjmu vody, v procesu známém jako slepování, jejich fázový objem se zvyšuje za zvýšení viskozity. Počátek slepování je označen jako A na obr. 1. Pík viskozity, označen jako B na obr. 1 je dosažen při maximálním fázovém objemu. Smyk pak způsobí poškození/fragmentaci nabobtnaných molekul způsobující snížení viskozity. Úplná disperze je indikována při C na obr. č. 1. Toto bylo potvrzeno studií oscilační deformovatelnosti škrobových hmot při různých stavech viskózního profilu (Svegmark a Hermansson, 1990). Průběh viskozity v závislosti na teplotě a pík viskozity je charakteristický pro počátek a respektive průběh bobtnání. Při zchlazení tvoří vyloužené formy amylozy síť v procesu zahrnování znovu spojených molekul nebo jejich návratu do původního stavu, způsobující zvýšení viskozity, jak je uvedeno u D na obr. 1. Zpětná (nebo „set-back“) viskozita je proto určující množství amylozy vyloužené z granul.

Vlastnosti pšeničného škrobu mají široké využití a též využití v nepotravinářských odvětvích (papír, textil, lepidla). V mnoha odvětvích však vlastnosti nejsou optimální a za účelem dosažení požadovaných vlastností se provádějí různé chemické a fyzikální

modifikace. Je možné použít úprav dvou typů vlastností: kontrolované změny želatiny a slepovací teploty; a škrobů, které podléhají méně granulární fragmentaci během slepování než běžné škroby.

V současné době je jediným způsobem změny želatiny a slepovací teploty škrobu použití aditiv, jako například cukrů, polyhydroxysloučenin solí nebo rozsáhlé fyzikální nebo chemické úpravy. Redukce granulární fragmentace během slepování lze dosáhnout rozsáhlou fyzikální úpravou nebo chemicky příčnými vazbami. Tyto postupy jsou nepohodlné a neúčinné. Je proto žádoucí získat rostlinu, produkující škrob, který má tyto výhodné vlastnosti.

Škrob se skládá z dvou hlavních glukózových polysacharidů: amylozy a amylopektinu. Amylóza je obecně lineární polymer obsahující α -1,4 vázané glukózové jednotky, zatímco amylopektin je vysoce rozvětvený polymer obsahující α -1,4 vázanou glukánovou páteř s α -1,6 spojenými glukánovými větvemi. Pšeničný endospermový amylopektin obsahuje přibližně 70 % podílu škrobu, který je v rovnováze s amyložou. Amylopektin se syntetizuje za účasti několika enzymů, včetně rozpustné syntázy škrobu (SSS), enzymů větvicích škrob (SBE), enzymů zbavujících škrob větvení (DBE). Fyzikální vlastnosti škrobu mají silný vliv na relativní přebytek amylozy a amylopektinu, a proto hrají SSS, SBE a DBE klíčovou roli ve stanovení množství i kvality škrobu. Jedním způsobem změny struktury je proto modifikace exprese enzymů zahrnutých v biosyntéze škrobu v endospermu za použití transgenních technik.

SBE katalyzuje tvorbu α -1,6 vazeb za tvorby větvicích bodů v rozrůstající se molekule škrobu pomocí hydrolýzy α -1,4 vazby s následným připojením uvolněného α -1,4 glukánového řetězce ke stejnému nebo jinému glukosylovému řetězci. Touto reakcí též vzniká nový neredukující konec pro další prodlužování původního α -1,4 vázaného glukánového řetězce.

Bylo popsáno mnoho izoform enzymu větvicího škrob, biochemicky, z mnoha vzorků včetně kukuřice (Boyer a Preiss, 1978), rýže (Nakamura a kol., 1992), hrachu (Smith, 1988), brambor (Khoshnoodi a kol., 1993) a pšenice (Morell a kol., 1997). Nedávno byly charakterizovány genomové a cDNA sekvence pro SBE včetně kukuřice (Baba a kol., 1991; Fisher a kol., 1993; Gao a kol., 1997), hrachu (Burton a kol., 1995), brambor (Kossmann a kol., 1991), rýže (Nakamura a Yamanuschi, 1992; Mizuno a kol., 1993), *Arabidopsis* (Fisher a kol., 1996), kasavy (Salehuzzaman a kol. 1992) a pšenice (Rapellin a kol., 1997, Nair a kol., 1997, Rahman a kol., 1997). Pořadí sekvence těchto SBE je vysoce konzervativní z hlediska aminokyselin a tyto SBE je možné rozdělit do dvou různých skupin, obecně známých jako SBEI a SBEII. Analýza dále ukazuje, že mezi druhy je obecně v pořadí

50% homologie mezi dvěma rodinami, SBEI a SBEII, zatímco větší homologie je často mezi dvěma rodinami dvou druhů.

Kukuřice je nezvyklá v tom, že kukuřičná rodina SBEII zahrnuje dva různé členy, známé jako SBEIIa a SBEIIb. Existují rozdílné názory na to, zda enzymy SBEIIa a IIb jsou ve skutečnosti a) kódovány geny dvou různých lokusů a b) zda geny představují různé alely jednoho lokusu. Fisher a kol. (1996) a Gao a kol. (1997) zjistili, že SBEIIa a SBEIIb jsou kódovány různými geny. Nelze však učinit žádný závěr o tom, že obě izoformy existují současně v jednom genotypu kukuřice. DNA klony dvou publikovaných genových sekvencí byly přechistěny z různých genotypů kukuřice a je proto možné, že představují různé alely jednoho lokusu. Závěrem, u kukuřice byly dosud charakterizovány tři různé SBE geny (Baba a kol., 1991; Fisher a kol., 1993; Gao a kol., 1997). SBEI se liší od SBEIIa a SBEIIb ve složení aminokyselin, specifitě k substrátu, kinetických vlastnostech a imunologických reakcích, kdy SBEIIa a SBEIIb jsou v těchto ohledech podobné (Guan a Preiss, 1993; Preiss 1991; Takeda a kol., 1993). Na úrovni aminokyselin vykazuje sekvence přibližně 50% homologii se sekvencemi SBEIIa a SBEIIb, kde SBEIIa a SBEIIb vykazují přibližně 80% vzájemnou homologii.

Před tímto vynálezem byla kukuřice výjimečná obsahem SBEIIa a SBEIIb typů enzymů. Ačkoli má *Arabidopsis* dva členy rodiny SBEII, podtřída u *Arabidopsis* zřejmě nepotvrzuje zjištění u kukuřice: zástupci podtřídy *Arabidopsis* obecně nespádají do kategorií IIa a IIb jako sekvence kukuřice. Geny SBEII *Arabidopsis* mají podobný stupeň homologie s geny kukuřice SBEII, SBEIIa a SBEIIb, ale tyto podobnosti nejsou dostačující k zařazení genů *Arabidopsis* do stejných kategorií SBEIIa a SBEIIb jako kukuřici. Tato fakta vskutku potvrzují domněnku, že SBEII geny *Arabidopsis* nepatří do kategorií IIa a IIb u kukuřice. U ječmene byly částečně charakterizovány dvě formy SBEII. Ačkoli byly nazvány SBEIIa a SBEIIb, bylo publikováno jen velmi omezené množství informací o sekvenci (Sun a kol., 1995) a nebylo možné vyvodit závěr, že tyto formy odpovídají kategoriím IIa a IIb u kukuřice. Ve skutečnosti na základě dostupných informací o sekvenci u ječmene zřejmě obě SBEII sekvence (SBEIIa SBEIIb) vykazují vyšší homologii s kukuřičnou SBEIIa než kukuřičnou SBEIIb.

U všech rostlinných druhů, u kterých byly identifikovány a publikovány sekvence SBEII, včetně brambor, hrachu, rýže, kasavy, pšenice a ječmene, nebyly ve srovnání se skupinami SBEIIa a SBEIIb u kukuřice vytvořeny žádné podtřídy rodiny SBE II.

Studie přechistěných SBEI a SBEII ukazují, že tyto izoformy se liší ve specifitě k substrátu s ohledem na délku řetězce a stupeň větvení. U kukuřice vykazuje SBEI a SBEII odlišné větvicí aktivity *in vitro*, kdy SBEI vykazuje vyšší stupeň větvení substrátu amylózy ve srovnání s SBEII a kdy SBEIIa a IIb vykazují vyšší stupně větvení než SBEI při reakci se

substrátem amylopektinu (Guan a Preiss, 1993). Kukuřičný SBEI navíc výhodně přemísťuje delší glukánové řetězce (s průměrnou délkou řetězce = 24) než SBEII (s průměrnou délkou řetězce = 21 (IIa) a 22 (IIb)) (Takeda a kol., 1993). Obdobná zjištění byla popsána u izoform SBEI a SBEII u pšenice a hrachu (Morell a kol., 1997; Smith, 1988). Mutační studie u kukuřice, rýže a hrachu ukazují, že vysoký počet mutací u amyulózy u každého případu se liší v aktivitě větvičího enzymu analogního ke kukuřičnému SBEII (Martin a Smith, 1995; Morell a kol., 1995). Avšak vazba mezi biochemickými výsledky a genetickými důkazy podporujícími rozdílnosti ve funkcích, zůstává nejasná.

Vynález je založen na nečekaném objevu nové třídy genů SBEII u pšenice, zde uváděných jako SBEII-1. Nové genové sekvence SBEII-1 mají silnou podobnost s genem SBEIIb u kukuřice. Geny pšenice SBEII-1 jsou považovány za funkčně ekvivalentní SBEIIb genu kukuřice a podle toho se usuzuje, že manipulace s kukuřičným genem SBEIIb má vliv na vlastnosti škrobu včetně teploty želatinace škrobu, způsobem podobným manipulaci s kukuřičným genem SBEIIb, jak je popsáno v WO 97/22703.

Shrnuto, ačkoli jsou u kukuřice, *Arabidopsis* a ječmene známy dvě odlišné sekvence genu SBEII, jak se uvádí výše, nebyl dosud důvod očekávat, že by pšenice vykazovala podobné rozdělení genů SBEII, jak je prokázáno u kukuřice. Dva geny SBEII u *Arabidopsis* vykazují rozdílné rozdělení a doposud nebyly dostatečné důkazy pro stanovení, zda dvě sekvence SBEII u ječmene patřily k podtřídě kukuřice. Proto nebyl důvod očekávat, že by pšenice měla dva podobné členy SBEII ve srovnání s kukuřicí. Následně Sun a kol. (1998) publikoval data, která ukazují, že sekvence ječmene jsou skutečně rozděleny podobným způsobem jako sekvence SBEIIa a IIb u kukuřice a sekvence SBEII-2 a SBEII-1 u pšenice, zde uvedené.

Podle vynálezu je použito vysokého stupně sekvenční konzervativnosti mezi několika genovými sekvencemi SBE k navržení oligonukleotidových primerů k sekvencím, které jsou specifické k rodinám SBEI nebo SBEII a použily tyto primery k amplifikaci sekvencí cDNA z vyvíjejícího se endospermu u pšenice.

Když byla tato práce započata, byla publikována jedna dílčí délka SBE cDNA klonu u pšenice (Mousey, 1994). Mnohonásobné sekvenční uspořádání této sekvence SBE s jinými publikovanými sekvencemi SBE z mnoha rostlinných druhů odhalilo mnoho motivů, které byly vysoce konzervativní. Oligonukleotidové primery navržené jako komplementární k těmto motivům se použily ke klonování 3' dílčí délky cDNA klonu SBEII u pšenice. Sekvenční uspořádání sekvencí klonu cDNA ukazuje, že klony lze rozdělit do dvou tříd, které jsou označeny jako SBEII-1 a SBEII-2, vykazující více než 90% podobnost se členy náležícími jedné třídě, ale pouze 60% podobnost mezi třídami. Srovnání mezi

charakteristickými sekvencemi každé třídy dříve charakterizovaných SBEII klonů pšenice, pWBE6 (Mousley, 1994) a SBEII (Nair *a kol.*, 1997) jednoznačně prokazuje, že každá je homologní se třídou SBEII-2. Klonování pšeničné SBEII-1 cDNA je nové.

Podstata vynálezu

Jsou uvedeny nukleotidové sekvence v podstatě kódující sekvenci aminokyselin uvedenou na obr. 10 (SEQ ID No: 2) nebo funkční ekvivalent uvedené nukleotidové sekvence.

Pojem funkční ekvivalent se používá v souvislosti se zahrnutím těch sekvencí, které se liší v nukleotidové sekvenci, jak je uvedeno na obr. 10 (SEQ ID No: 1), ale které díky degeneraci genetického kódu kódují polypeptid se stejnou nebo převážně stejnou aminokyselinovou sekvencí. Pojem je obecně míněn pro aplikaci u sekvencí, které jsou dostatečně homologní se sekvencí podle vynálezu, které mohou hybridizovat s její komplementární částí za přesných hybridizačních podmínek (například podle popisu v Sambrook *a kol.*, 1989, to znamená promytím 0,1x SSC, 0,5% SDS při 68 °C); tyto ekvivalenty s výhodou zaujímají alespoň 86 %, výhodněji 90 % a nejlépe 95 % sekvenční homologie (to znamená sekvenční podobnosti) se sekvencí podle vynálezu. Sekvenční homologie se s výhodou stanoví za pomoci programu „MEGALIGN“ který je součástí softwaru DNASTar (MEGALIGN a DNASTar jsou ochranné známky). Odborníkům v tomto oboru bude zřejmé, že nukleotidové sekvence podle vynálezu mohou mít též vhodné použití, pokud se vyskytují jako antimediatorové sekvence. Část funkční sekvence tak též zahrnuje takové sekvence, které mohou hybridizovat za přesných hybridizačních podmínek se sekvencí podle vynálezu (lépe než se zbytkovou sekvencí). Tyto antimediatorové ekvivalenty s výhodou zaujímají 86 %, výhodněji alespoň 90 % a nejlépe 95 % sekvenční homologie komplementární se sekvencí podle vynálezu.

Z jiného hlediska vynález uvádí nukleotidovou sekvenci v podstatě obsahující sekvence B2 uvedené na obr. 3 (SEQ ID No: 3) nebo její funkční ekvivalent.

Z jiného hlediska vynález uvádí nukleotidovou sekvenci v podstatě obsahující sekvence B4 uvedené na obr. 3 (SEQ ID No: 4) nebo její funkční ekvivalent.

Z jiného hlediska vynález uvádí nukleotidovou sekvenci v podstatě obsahující sekvence B10 uvedené na obr. 3 (SEQ ID No: 5) nebo její funkční ekvivalent.

Z jiného hlediska vynález uvádí nukleotidovou sekvenci v podstatě obsahující sekvence B1 uvedené na obr. 3 (SEQ ID No: 6) nebo její funkční ekvivalent.

Z jiného hlediska vynález uvádí nukleotidovou sekvenci v podstatě obsahující sekvence B6 uvedené na obr. 4 (SEQ ID No: 7) nebo její funkční ekvivalent.

Pojem funkční ekvivalent má z tohoto hlediska stejný obecný význam, jak se uvádí výše, ačkoli ekvivalenty B2, B4, B10 a B6 s výhodou zaujímají alespoň 90 %, výhodněji 95 % sekvenční homologie s odpovídající sekvencí podle vynálezu, zatímco ekvivalenty B1 s výhodou zaujímají 97 % sekvenční homologie se sekvencí podle vynálezu.

Sekvence podle vynálezu jsou součástí genů pšenice SBEII, kde B1 je nová podtřída známé třídy genů SBEII, označovaných jako SBEII-2 s novou podtřídou označovanou jako SBEII-2. Zbývající sekvence všechny patří do zcela nové třídy pšeničných genů SBEII, označovaných jako SBEII-1. Tyto sekvence patří do tří podtříd, uvedených níže.

Nové pšeničné geny SBEII-1 podle vynálezu mají silnou sekvenční homologii s kukuřičným genem SBEIIb. U pšeničných genů SBEII-1 se předpokládají podobné funkční vlastnosti jako u kukuřičného genu SBEIIb. Na základě toho se předpokládá, že genetické manipulace s pšeničným genem SBEII-1 mohou mít vliv na vlastnosti škrobu vytvořeného rostlinou, včetně teploty želatinace a deformační vlastnosti škrobu, způsobem podobným manipulaci s kukuřičným genem SBEIIb popsané ve WO 97/22703. Obsah WO 97/22703 je zde uveden v odkazech.

Vynález též zahrnuje ve svém rozsahu část kterékoli z výše uvedených sekvencí, zahrnující alespoň 500 párů bází s alespoň 90% sekvenční homologií s odpovídající částí sekvence, od které je odvozena.

Ačkoli kódující sekvence nových pšeničných genů SBEII-1 mají silnou sekvenční homologii s kukuřičnými geny SBEIIb, mají mnohem větší odchylky na 3' nepřekládaných koncích těchto sekvencí s maximální 31,8% homologií mezi 3' nepřekládanými sekvencemi pšeničných SBEII-1 a kukuřičných SBEIIb, jak je zřejmé z obr. 8.

Jiné hledisko uvádí nukleotidovou sekvenci v podstatě obsahující sekvence uvedené na obr. 5 (SEQ ID No: 8), obr. 6 (SEQ ID No: 9) nebo obr. 7 (SEQ ID No: 10) nebo její funkční ekvivalent.

Pojem funkční ekvivalent má stejný obecný význam jak se uvádí výše, ale s ekvivalenty s alespoň 32%, s výhodou alespoň 40%, 50%, 60%, 70%, 80% nebo 90% sekvenční homologií se sekvencí odpovídající obr..

Předpokládá se, že tyto 3' nepřekládané sekvence mohou být využitelné jako kódující i antimediatorové při manipulacích za účelem změny vlastností škrobu ovlivněním exprese SBE u rostlin, jak se uvádí níže.

Sekvence mohou obsahovat další nukleotidy na 5' nebo 3' konci. Například, za účelem snadnější exprese sekvence s výhodou zahrnují též ve čtecím rámci startovací kodón ATG a může též kódovat vedoucí sekvenci.

Vynález též uvádí konstrukt nukleové kyseliny zahrnující nukleotidovou sekvenci nebo její část v souladu s vynálezem, s výhodou funkčně spojenou, ve směru kódujícím nebo antimediatorovém k sekvenci promotoru.

V rozsahu vynálezu je aminokyselinová sekvence kódovaná jakoukoli nukleotidovou sekvencí podle vynálezu.

Vynález též uvádí vektory, zejména expresní vektory, zahrnující nukleotidovou sekvenci podle vynálezu. Vektor běžně obsahuje promotor a jeden nebo více regulačních signálů typu, který je dobře znám odborníkům v tomto oboru. Vynález též zahrnuje opatření transformovaných buněk (tento pojem zahrnuje transdukcii a transfekci) vektorem obsahujícím nukleotidovou sekvenci podle vynálezu.

Nukleotidové sekvence podle vynálezu mohou být zavedeny do rostlin, zejména do rostlin pšenice, ale není podmínkou a předpokládá se, že tímto je možné ovlivnit expresi SBE u rostliny a takto ovlivnit vlastnosti škrobu, produkovaného rostlinou. Přesněji, použití antimediatorových sekvencí předpokládá snížení nebo potlačení exprese enzymu. Nedávno bylo dokázáno, že u jiných experimentálních systémů k této „kódující supresi“ může též dojít, (například exprese zavedené sekvence funkčně spojené s kódující může neznámým mechanismem interferovat s expresí nativního genu) jak popisují Matzke & Matzke 1995. Kterákoli z metod uvedených Matzke & Matzke 1995 se může teoreticky použít k ovlivnění exprese homologního genu SBE u hostitelského organismu.

Předpokládá se, že antimediatorové metody jsou většinou operabilní tvorbou antimediatorové mRNA, která hybridizuje s mRNA ve smyslu, zabraňující tak translaci do funkčního polypeptidu pravděpodobně degradací hybridu RNA (například Sheehy *a kol.*, 1988; Van der Krol *a kol.*). Suprese ve smyslu sekvence vyžaduje homologii mezi zaváděnou sekvencí a cílovým genem, ale přesný mechanismus je nejasný. Je však zřejmé, že v souvislosti s antimediatorovou i kódující supresí není důležitá ani celá délka nukleotidové sekvence, ani „nativní“ sekvence. S výhodou „účinná část“ použitá v metodě zahrnuje alespoň jednu třetinu celé délky sekvence, ale jednoduchým pokusem a chybou v jiných částech (kratších nebo delších) je možné zjistit, která je funkční s ohledem na změnu vlastností rostliny.

Z dalšího hlediska vynález proto uvádí způsob změny vlastností rostliny, zahrnující zavedení účinné části sekvence podle vynálezu funkčně spojené s vhodným promotorem aktivním u rostliny do této rostliny z účelem ovlivnění exprese genu přítomného v rostlině. Sekvence je zpravidla napojena v opačné orientaci k promotoru. Rostlinou je s výhodou pšenice. Změněné vlastnosti se s výhodou týkají obsahu škrobu a/nebo obsahu škrobu v rostlině (to znamená množství a/nebo typu škrobu přítomného v rostlině). Způsob změny vlastností též s výhodou zahrnuje zavedení jedné nebo více dalších sekvencí, (které mohou

být kódujícími nebo antimediatorovými sekvencemi) funkčně spojených s jedním promotorem (který zajistí přepis sekvencí v podstatě stejnou dobu), nebo mohou být funkčně spojeny se samostatnými promotory (které mohou být nezbytné pro optimální expresi). Samostatné promotory mohou být vzájemně shodné nebo odlišné. Vhodné promotory jsou obecně známy odborníkům v tomto oboru a obsahují konstitutivní nebo indukibilní typy. Příklady zahrnují promotor CMV 35S (například jednoduchou nebo tandemovou repetici) a promotor ubichitinu. Promotor je s výhodou tkáňově specifický. Promotor s výhodou vyvolá expresi funkčně spojené sekvence na základní úrovni pouze v rostlinné tkáni, kde dochází k převážné syntéze škrobu a/nebo jeho skladování.

Sekvence podle vynálezu a případně jedna nebo více dalších sekvencí může být zavedena do rostliny jednou z mnoha obecně známých technik (například transformací - zprostředkovanou *Agrobacterem*). Sekvence jsou nejúčinnější při změně aktivity SBE u pšenice, ale teoreticky by je bylo možné zavést do jakékoli rostliny. Výhodné příklady zahrnují hrách, rajské jablko, kukuřici, ječmen, sladké brambory a kasavu. Rostlina s výhodou obsahuje přirozený gen kódující molekulu SBE, která vykazuje vysokou homologii se zavedenou sekvencí nukleové kyseliny podle vynálezu.

Z jiného hlediska vynález uvádí rostlinnou buňku nebo rostlinu nebo její mladou rostlinu, která byla změněna způsobem uvedeným výše. Potomstvo změněné rostliny se může získat například vegetativním rozmnožením nebo zkřížením změněné rostliny a uchováním získaných semen. Do rozsahu vynálezu také spadají části změněné rostliny, například zásobní části. Podle vynálezu je takto běžně značeno zrno obsahující změněný škrob, uvedené zrno se získalo ze změněné rostliny nebo jejích mladých rostlin. Zrno získané ze změněné rostliny (nebo jejích mladých rostlin) je užitečnou surovinou zejména v určitých průmyslových aplikacích a pro přípravu a/nebo výrobu potravin a může se například použít do pečiva.

V určitém vztahu k pšenici se zde uvádí pšenice nebo její část, která ve své standardní podobě obsahuje funkční gen SBEII-1, ale která byla změněna tak, že exprese polypeptidu SBEII-1 je buď snížena, zvýšena nebo není funkční v buňkách alespoň některé části rostliny. Rostlina může být změněna způsobem uvedeným výše nebo se může vytřídit po běžném vypěstování rostlin s delecí genu SBEII-1, jehož přítomnost nebo nepřítomnost je možné snadno zjistit kontrolou vzorků rostlin pomocí nukleotidové sondy nebo protilátkami specifickými pro gen pšenice nebo respektive genový produkt.

Podle vynálezu se též uvádí škrob extrahovaný z rostlin změněných způsobem uvedeným výše nebo z potomstva těchto rostlin, škrob má změněné vlastnosti ve srovnání se škrobem extrahovaným ze stejných, ale nezměněných rostlin. Vynález dále uvádí způsob výroby změněného škrobu, zahrnující změnu rostliny způsobem uvedeným výše a

extrakcí jejího škrobu se změněnými vlastnostmi ve srovnání se škrobem extrahovaným z stejných, ale nezměněných rostlin. Předpokládá se, že použití nukleotidových sekvencí podle vynálezu umožní výrobu škrobů, zejména pšeničných škrobů, s mnoha novými vlastnostmi. Je například možné očekávat, že změněné rostliny se sníženou aktivitou SBEII budou produkovat škrob s relativně vyšším obsahem amylózy a nižším obsahem amylopektinu ve srovnání s nezměněnými rostlinami.

Vynález umožňuje následující: rostlinu (zejména pšenici) změněnou způsobem uvedeným výše, obsahující škrob, který po extrakci z rostliny má zvýšenou želatinaci a/nebo nejvyšší teplotu, podle měření DSC ve srovnání se škrobem extrahovaným z podobné, ale nezměněné rostliny; rostlinu (zejména pšenice) změněnou způsobem uvedeným výše, obsahující škrob, který po extrakci z rostliny má zvýšenou teplotu želatinace (obvykle zvýšenou alespoň o 3 °C, o 7 °C, alespoň o 12 °C nebo až o 15 °C až 25 °C) podle měření DSC ve srovnání se škrobem extrahovaným z podobné, ale nezměněné rostliny; rostlinu (zejména pšenici) změněnou způsobem uvedeným výše; zejména snížením exprese polypeptidu SBEII-1, obsahující škrob, který má po extrakci z rostliny vyšší poměr amylóza:amylopektin ve srovnání se škrobem extrahovaným z podobné, ale nezměněné rostliny.

Vynález se přesněji týká škrobu získaného z rostliny změněné podle vynálezu, zejména škrobu se zvýšenou teplotou želatinace. Tento škrob je využitelný například pro pečení s některými výhodami v určitých situacích a vynález též uvádí produkty, zejména pečivo, vyrobené za použití tohoto škrobu. Vynález též uvádí škrob extrahovaný z rostliny změněné způsobem podle vynálezu se zvýšeným poměrem amylóza:amylopektin.

Popis obrázků

Vynález je dále popsán na názorných příkladech s odkazy na schémata, kde:

Obr. 1 je graf viskozity v závislosti na čase, zobrazující profil viskozity amylózy u pšenice během pečení a po něm;

Obr. 2 ukazuje údaje o aminokyselinové sekvenci C terminální části různých známých enzymů pro větvení škrobu (SEQ ID Nos: 12 až 25) získané z databáze evropské laboratoře pro molekulární biologii (EMBL) a nové sekvence pšeničného SBEII-1 podle vynálezu (Osbell-1ALL) (SEQ ID No: 11) z klonu 5A1 se zvýrazněnou konvenční sekvencí.

Obr. 2a je tabulka zbytkové zátěže uvádějící procenta podobnosti a procenta odlišnosti od sekvence uvedené na obr. 2;

Obr. 3 uvádí sekvenci DNA různých rekombinantních klonů (B2, B4, B10, A2, B1, B11) (SEQ ID Nos: 3, 4, 5, 26, 6, 27) obsahující geny enzymu pro větvení škrobu, charakterizující dvě třídy SBE, SBEII-1 a SBE-2, z nichž každá zahrnuje tři podtřídy A, B a C

se zbytkovými sekvencemi odlišujícími se od obvyklé (převažující) zvýrazněné sekvence (SEQ ID Č.: 53);

Obr. 3a je tabulka zbytkové zátěže uvádějící procenta podobnosti a procenta odlišnosti od sekvence uvedené na obr. 3;

Obr. 4 uvádí předpokládanou aminokyselinovou sekvenci klonu B6 (pšenice SBEII-1) (SEQ ID No: 7) a B11 (pšenice SBEII-2) (SEQ ID No: 8) vzhledem k odpovídajícím oblastem SBEIIa (SEQ ID No: 29) kukuřice a aminokyselinové sekvence SBEIIb (SEQ ID Č.: 30), se zbytky odlišujícími se od zvýrazněných sekvencí kukuřice SBEWIIb;

Obr. 4a je tabulka zbytkové zátěže uvádějící procenta podobnosti a procenta odlišnosti od sekvence uvedené na obr. 4;

Obr. 5 uvádí nepřekládanou sekvenci DNA na 3' konci, klonu B2 (SEQ ID No: 8) SBEII-1 pšenice, podtřída A);

Obr. 6 uvádí nepřekládanou sekvenci DNA na 3' konci, klonu B10 (SEQ ID No: 9) SBEII-1 pšenice, podtřída B);

Obr. 7 uvádí nepřekládanou sekvenci DNA na 3' konci, klonu B4 (SEQ ID No: 10) SBEII-1 pšenice, podtřída C);

Obr. 8 uvádí nepřekládanou sekvenci DNA na 3' konci, klonu B10 (SEQ ID No: 9) B2 (SEQ ID No: 8) a B4 (SEQ ID No: 10) a SBEIIb (ZMSBE2b) (SEQ ID No: 31) kukuřice, kde se zbytkové sekvence odlišují od zvýrazněných sekvencí B10;

Obr. 8a je tabulka zbytkové zátěže uvádějící procenta podobnosti a procenta odlišnosti od sekvence uvedené na obr. 8;

Obr. 9a a 9b uvádějí hybridizaci klonu B1 (SBEII-2) a respektive klonu B2 (SBEII-1) s genomovou DNA štěpenou HindIII u pšenice „Chinese Spring“ nullizomních-tetrazomních linií;

Obr. 10 uvádí DNA (SEQ ID No:1) a předpokládanou aminokyselinovou sekvenci (SEQ ID No:2) části SBEII-1 klonu 5A1;

Obr. 11 uvádí aminokyselinovou sekvenci SBEII-1 pšenice podle vynálezu, klonu 5A1 (OsbeII-1ALL)(SEQ ID No:11), SBEI-D2 (SEQ ID No: 32) pšenice, Rahman *a kol.* 1997 (TASBEID2), SBE1 pšenice, Rapellin *a kol.* 1997(SEQ ID No: 33) (TASBEI) a SBEII-2 pšenice, Nair *a kol.* 1997 (SEQ ID No:34) (SBEII-2 pšenice), jejíž zbytkové sekvence přesně odpovídají převažující (obvyklé) sekvenci (SEQ ID No: 54);

Obr. 11a je tabulka zbytkové zátěže uvádějící procenta podobnosti a procenta odlišnosti od sekvence uvedené na obr. 11;

Obr. 12 uvádí Northern blott pšeničných zrn sklizených v různých intervalech po odkvětu a zreagovaných se sondami fragmentů SBEII-1 a SBEII-2;

Obr. 13 je restriční mapa plazmidu pWxGS+;

Obr. 13a uvádí sekvenci (SEQ ID No: 55) promotoru (fragment HindIII-BamH1) u pWxGS+;

Obr. 14 je restrikční mapa plazmidu pSRWXGUS1;

Obr. 15 je restrikční mapa plazmidu pVTWXGUS2;

Obr. 16 je restrikční mapa plazmidu pPBI-97-2;

Obr. 17 je restrikční mapa plazmidu pSR97-26A-;

Obr. 18 je restrikční mapa plazmidu pSR97-29A-;

Obr. 19 je restrikční mapa plazmidu pSR97-50A-;

Obr. 20 je restrikční mapa plazmidu pSR97-53A-;

Obr. 21 je restrikční mapa plazmidu p97-2C;

Obr. 22 je restrikční mapa plazmidu p97-2CWT1;

Obr. 23 je restrikční mapa plazmidu pSC98-1;

Obr. 24 je restrikční mapa plazmidu pSC98-2;

Obr. 25 je restrikční mapa plazmidu pUNI;

Obr. 26 uvádí sekvenci DNA fragmentu NptII Sac1 u pUNI (SEQ ID No: 35) a

Obr. 27 je restrikční mapa plazmidu pUSN99-1;

Obr. 28 je restrikční mapa plazmidu pUSN99-2;

Obr. 29 je částečná restrikční mapa předpokládané sekvence (SEQ ID No: 52) klonovaného fragmentu p97-U3;

Obr. 30 je restrikční mapa plazmidu pPBI96-36;

Obr. 31 je restrikční mapa plazmidu p97-dUG1;

Obr. 32 je restrikční mapa plazmidu p97-2BdUN1;

Obr. 33 je schématické zobrazení komůrky pro bombardování částic (není v měřítku)

Obr. 34 ukazuje histochemickou lokalizaci exprese Ubi-GUS u semena (obr. A), stonku (obr. B), květu (obr. C) a listové tkáně (obr. D) pšenice transformované plazmidem pAHC25;

Obr. 35 je Southern blot 26 mladých rostlin transformantu BW 119, který byl transformován pAHC25.

Obr. 36 ukazuje histochemickou lokalizaci exprese waxy-GUS ve tkáni endospermu dvou nezávislých transgenních linií pšenice (na obr. A a B) transformovaných plazmidem pWxGS+; a

Obr. 37 je Southern blot genomové DNA domnělých primárních transformantů štěpených Sac1 a hybridizovaných s 1 kb sondou Sac1 SBEII-1.

Příklady provedení vynálezu:

Amplifikace a charakterizace dvou tříd cDNA klonů SBEII.

Pro izolaci enzymu pro větvení škrobu z pšenice byla navržena metoda klonování založená na PCR za použití konzervativních oblastí v rámci známých klonovaných genových sekvencí. Enzym pro větvení škrobu byl klonován z mnoha rostlinných druhů a obr. 2 uvádí sekvence aminokyselin, získaných z nukleotidové databáze Evropské laboratoře pro molekulární biologii (EMBL) pro různé známé enzymy pro větvení škrobu, jak je uvedeno níže:

SBEII-2 pro *Triticum aestivum* z pšenice (SEQ ID Č.: 12)

ZM SBE2a (kukuřice) pro *Zea mays* (SEQ ID Č.: 13)

ZM SBE2b (kukuřice) pro *Zea mays* (SEQ ID Č.: 14)

SBEIIa z ječmene (SEQ ID Č.: 15)

SBEIIb z ječmene (SEQ ID Č.: 16)

RICBCE3 (enzym typu SBEII z rýže) pro *Oryza sativa* (SEQ ID Č.: 17)

RICESBE-1/17 (jak je uvedeno výše, včetně tranzitní peptidové sekvence) (SEQ ID Č.: 18)

PSSBEIGEN (SBEI z hrachu, který je v podstatě sekvencí typu SBEII) pro *Pisum sativum* (SEQ ID Č.: 19)

STSBE (typ SBEI z rajského jablka) pro *Solanum tuberosum* (SEQ ID Č.: 20)

TASBEI (SBEI-2 z pšenice) pro *Triticum aestivum* (SEQ ID Č.: 21)

TASBEI D2 (SEQ ID Č.: 22)

ZMSBEI (SBEI z kukuřice) pro *Zea mays* (SEQ ID Č.: 23)

RICBEI (SBEI z rýže) pro *Oryza sativa* (SEQ ID Č.: 24)

PSBEIIGN(SBEII z hrachu, což je v podstatě sekvence typu SBEI) pro *Pisum sativum* (SEQ ID Č.: 25)

Obr. 2 též uvádí novou sekvenci SBEII-1 pšenice podle vynálezu, označenou jako Osbell -1ALL (SEQ ID č. 11)

Sekvence

na obr. 2 a též na obr. 3, 4, 8 a 11 byly připraveny za použití Clustalovy metody s PAM 250 tabulky zbytkové zátěže pro aminokyselinové sekvence a tabulky zbytkové zátěže pro sekvence DNA. Vzdálenosti sekvenčních párů exprimovaných jako % podobnosti uvedeny na obr. 2A a 3A, 4A, 8A a 11A jsou stanoveny podle programu „MEGALIGN“ softwaru DNASTar a odpovídají procentům sekvenční homologie, jak je uvedeno výše.

Sekvence uvedeny na obr. 2 ukazují některé domény, které jsou vysoce konzervativní. Jedna z těchto domén, MDKDMYD (SEQ ID č. 36) byla téměř zcela

konzervativní a předpokládá se, že tato doména by též byla přítomna u genů pro větvení škrobu u pšenice. Tento motiv byl vybrán pro oklignonukleotidový kódující primer (SBEA). 3'RACE PCR byla provedena na endospermu s jedním řetězcem cDNA za použití primerů Ro a SBE A.

Dvě populace PCR produktů o velikosti přibližně 1kb a 1,2 kb byly klonovány do plazmidového vektoru pT7Blue (Novagen). Plazmidová DNA z 36 domnělých rekombinantních klonů byla přečištěna a velikost inzertu byla stanovena restrikční analýzou. Patnáct klonů obsahujících inzerty o velikosti přibližně 1 kb až 1,2 kb bylo vybráno pro sekvenování.

Sekvence získané pomocí programu „MEGALIGN“ DNASTar ukazují, že 15 vybraných klonů lze rozdělit na základě stupně homologie do dvou různých tříd, které byly označeny jako SBEII-1 a SBEII-2. Třídy SBEII-1 a SBEII-2 je možné dále rozdělit do tří podtříd na základě sekvenčních rozdílů (tabulka 1). Předpokládá se, že rozdělení se pravděpodobně rozšíří až na tři podtřídy, protože pšenice obsahuje tři homologní domény.

Tabulka 1

<i>Třída</i>	<i>Podtřída</i>	<i>Číslo klonu</i>
<i>SBEII-1</i>	<i>A</i>	<i>B2, B5, B6, B7, B12</i>
<i>SBEII-1</i>	<i>B</i>	<i>B10</i>
<i>SBEII-1</i>	<i>C</i>	<i>A1, A13, B4</i>
<i>SBEII-2</i>	<i>A</i>	<i>B11,</i>
<i>SBEII-2</i>	<i>B</i>	<i>B1, B9</i>
<i>SBEII-2</i>	<i>C</i>	<i>A2, C5</i>

Srovnání sekvencí tříd SBEII-1 nebo SBEII-2 ukazuje na 90 až 96,8% podobnost. Naopak, sekvenční podobnost mezi charakteristickými sekvencemi tříd SBEII-1 nebo SBEII-2 ukazuje na 58,8 až 60,0% homologii při srovnání jednotlivých oblastí. (Obr. 3 a 3a).

Srovnávaly se navíc charakteristické sekvence tříd SBEII-1 a SBEII-2 s dříve uvedenými klony SBEII u pšenice, pWBE6 (Mousey, 1994) a nedávno publikovaným SBEII

(Nair a kol., 1997). Výsledky ukazují, že dříve izolované klony SBEII jsou velmi homologní (>90 %) se třídou SBEII-2 (data nejsou uvedena). Ani dříve publikované sekvence pšenice zřejmě nevykazují vysokou homologii se sekvencí SBEII-1. Izolace a charakterizace tří forem SBEII-1 (SBEII-1, podtřídy A, B & C) je nová. Podtřída SBEII-2 B je též nová, podtřídy A a C odpovídají sekvencím dříve popsáným - Mousley (1994) a respektive Nair a kol. (1997).

Předpokládané aminokyselinové sekvence z charakteristických klonů B6 a B11 sekvencí SBEII-1 a SBEII-2 z pšenice oproti odpovídajícím oblastem aminokyselinových sekvencí SBEIIa a SBEIIb u kukuřice (Obr. 4 a 4a) ukazují, že SBEII-1 sekvence u pšenice (klon B6) je podobnější sekvenci SBEIIb u kukuřice (88,7%) než sekvenci SBEII-2 u pšenice a SBEIIa sekvenci u kukuřice (82,2 % a 82,6% podobnost) a podobně, že SBEII-2 sekvence u pšenice je podobnější sekvenci SBEIIa u kukuřice (86,9% podobnost) než SBEII-1 sekvenci u pšenice a SBEIIb sekvenci u kukuřice (82,2 % a 81,7% podobnost). Na základě toho se usuzuje, že SBEII-1 u pšenice je vývojově spojena se sekvencí SBEIIb u kukuřice a že odpovídající sekvence pšenice a kukuřice vykazují podobné funkční vlastnosti. Zatímco kódující sekvence klonů B2, B10 a B4 mají silnou sekvenční homologii s SBEIIb genem kukuřice, je větší odlišnost v 3' nepřekládaných oblastech sekvencí. Obr. 5, 6 a 7 ukazují 3' nepřekládané sekvence klonů B2, B10 a respektive B4 a obr. 8 srovnává tyto sekvence s odpovídající sekvencí SBEIIb u kukuřice.

Následují předpoklady a příklady uvedené podrobně.

Rostlinný materiál

Odrůda Rialto *Triticum aestivum* byla vypěstována ve skleníku za přídavného osvětlení a kontroly teploty při udržování 16 hodinové délky dne při 18 ± 1 °C.

Manipulace s rekombinantní DNA a sekvenování

Provedly se standardní postupy přesně podle Sambrook a kol., (1989). Sekvenování DNA se provedlo na automatickém sekvenátoru ABI a sekvence byly analyzovány pomocí softwaru DNASTAR pro Macintosh.

Izolace RNA pro klonování cDNA

RNA se extrahovala z endospermu odrůdy Rialto *Triticum aestivum* za použití RNA izolačního kitu Purescript (Flowgen) přesně podle doporučení výrobce. Jednoduše, tkáň endospermu se zmrazila v tekutém dusíku a 2 minuty nechala usazovat na jemný prášek za použití dismembrenátoru (Braun Biotech International). Usazená tkáň se před extrakcí uchovala v tekutém dusíku. Přibližně 10 mg usazené tkáně se přeneslo do 1,5 ml centrifugační zkumavky a před mícháním překlápěním a umístěním na led po dobu 10 minut se ke tkáni přidalo 1,2 ml lyzačního pufru. Proteiny a DNA precipitovaly z buněčného lyzátu přidavkem 0,4 ml precipitačního roztoku „protein-DNA“, následovalo míchání převrácením a pak centrifugace 13,000 x g při 4 °C po dobu 20 minut. Supernatant se rozdělil do dvou nových 1,5 ml zkumavek z nichž každá obsahovala 600 µl izopropanolu. Precipitát RNA se usadil centrifugací při 13,000 x g při 4 °C během 10 minut, supernatant se odstranil a usazenina se promyla 70% ethanolem převrácením zkumavky. Ethanol se odstranil a usazenina se sušila na vzduchu 15 až 20 minut před resuspendováním RNA v 7,5 ml „RNA hybridizačního roztoku“.

Příprava zásobní cDNA z endospermu pšenice

Zásobní cDNA z endospermu pšenice se připravila z celkové RNA, vyextrahované způsobem uvedeným výše za použití reverzní transkriptázy Superscript™ (Life Technologies) přesně podle doporučení výrobce. Jednoduše, pět mikrogramů RNA, 10 pmol RoRiddT17 [AAGGATCCGTCGACATCGATAATACGACTCACTATAGGGA (T17)] (SEQ ID č. 37) a sterilní destilovaná voda do reakčního objemu 12 µl v 500 µl mikrocentrifugační zkumavce se zahřála na 70 °C po dobu 10 minut před rychlým zchlazením v ledu. Obsah zkumavky se rychle zcentrifugoval před přidavkem 4 µl 5x First Strand Buffer 2µl 0,1 M DDT a 1 µl 10 mM dNTP a po zamíchání se inkuboval 2 minuty při 42 °C. Přidal se 1µl Superscript™ a po zamíchání inkubace pokračovala 1 hodinu. Reakce se zastavila 15 minutovým zahříváním na 70 °C. K reakční směsi se přidalo 150 µl T₁₀E₁ a výsledná zásobní cDNA se použila jako templát pro PCR amplifikaci.

PCR amplifikace sekvencí SBEII ze zásobní cDNA z endospermu.

Sekvence SBEII se amplifikovaly ze zásobní cDNA z endospermu za použití primeru Ro [AAGGATCCGTCGACATC] (SEQ ID č. 38), který je komplementární k Ro oblasti primeru RoRidT17 použitého k syntéze zásobní cDNA a specifického primeru SBEII, SBEA [ATGGACAAGGATATGTATGA] (SEQ ID č. 39). SBEA byl navržen jako homologní k

motivu MDKDMYD (SEQ ID č. 36), který je umístěn přibližně ve vzdálenosti 1 kb od 3' konce kódující sekvence výsledného peptidu. PCR probíhala v 50 μ l reakci, obsahující 5 μ l zásobní cDNA, 25 pmol Ro, 50 pmol SBEA, 5 μ l 5x Taq pufu, 4 μ l 25 mM Mg^{2+} , 0,5 μ l 20 mM dNTP a 1,25 U Taq polymerázy. Všechny složky reakce se smíchaly, kromě Taq polymerázy, před předehtím na 94 °C 7 minut a pak chlazením na 75 °C po dobu 5 minut. Zatímco se reakční směs udržovaly při 75 °C, přidala se Taq polymeráza a po důkladném zamíchání se reakce umístily do termocykléru na (94 °C - 30 sek, 50 °C - 30 sek, 72 °C - 1 min) x 30 cyklů, zakončených 10 minutovou extenzí při 72 °C.

Produkty PCR se přečistily extrakcí směsí fenol/chloroform a chloroformem před ligací s pT7 Blue (Novagen) podle doporučení výrobce. Domnělé klony SBE se na začátku charakterizovaly metodami standardního přečistění plazmidové DNA a restrikcí štěpením. Pro sekvenování se vybraly reprezentativní klony tvořící rozmezí inzertů o různých velikostech.

Chromozomální lokalizace genů SBE u pšenice

Pro stanovení sekvencí SBE chromozomových oblastí se použily nullizomní-tetrazomní linie pšenice Chinese Spring, jak je popsáno v Sears (1966). Ke stanovení lokace chromozomového raménka se použily ditelozomní linie (Sears, 1966). Další ditelosomní linie Betzes ječmene u pšenice jsou popsány v Islam (1983).

Chromozomální lokalizace dvou rodin sekvencí SBEII (SBEII-1, SBEII-2) se stanovily pomocí sondy pšenice nulli-tetra a ditelozomních zásobních linií s inserty přečistěnými na gelu různých klonů. Obr. 9 a zobrazuje hybridizaci získanou se sondou SBEII-2 (klon B1) na DNA štěpené HindIII. Euploidní Chinese Spring dává 3 proužky, z nichž jeden chybí v liniích nullizomních pro chromosomy 2A, 2BN a 2D. Stejný blot reagoval znovu se specifickou sondou SBEII-1 (klon B2). Tím vznikl nový odlišný hybridizační profil (obr. 9b), dokazující specifitu použité sondy. Opět chyběl proužek v každé nullizomní linii pro 2A, 2B a 2D. Stejně složení proužků se získalo za použití SBEII-1 klonů B2 a B4. Genové sekvence 1 a 2 podtřídy SBEII tak spadají do skupiny 2 homologních chromozómů pšenice.

K identifikaci lokace těchto genů na raménku se použily ditelozomní přídatné linie (data nejsou uvedena). Toto dokázalo, že sekvence SBEII-1 a SBEII-2 jsou obě umístěny na dlouhém raménku homologní skupiny 2 chromozómů pšenice. Přídatné linie ječmene se použily pro ověření, zda jsou homologní sekvence přítomny u ječmene. Výsledky dokázaly, že sekvence homologní k sekvencím SBEII-1 a SBEII-2 pšenice jsou umístěny na dlouhém raménku chromozómů 2H ječmene.

Izolace RNA a Northern blot

Zrna pšenice se sklídila ve vhodných intervalech a zmrazila v tekutém dusíku před pomletím na jemný prášek za použití Braunova MikrodismembratoruTM nebo paličky a hmoždíře. Celková RNA se vyizolovala za použití kitu RNA queousTM (Ambion Inc) podle instrukcí výrobce nebo následujícím postupem. Zmrzlý prášek ze zrna se smíchal s 10X objemem 0,2M Tris-HCl pH9, 0,4M NaCl, 25 mM EDTA, 1% SDS, 1% PVPP, 0,25% odpěňovačem A a 0,1 M DTT. Tato směs se extrahovala dvakrát ekvivalentním objemem směsi fenol/chloroform/izoamylalkohol (25:24:1), nukleová kyselina precipitovala z vodné fáze přidavkem 0,8 objemu izopropanolu a výsledná usazenina se rozpustila v H₂O. RNA pak selektivně precipitovala přidavkem 1objemu 4M LiCl, inkubovala se přes noc při 4 °C a výsledná usazenina se rozpustila ve sterilní destilované H₂O. 15 µl celkové RNA se použilo pro elektroforézu na gelu 1% agarózy, 2,21M formaldehydu, 40 mM MOPS pH 7,0, 10 mM octanu sodného, 1 mM EDTA gelu, v 40 mM MOPS pH7, 1 mM EDTA pufru při napětí 1V/cm přes noc. Gely se umístily do roztoku ethidiumbromidu ve vodě o koncentraci 50 ng/ml, odbarvily ve vodě za 2 hodiny, vyhodnotily a vyfotily při UV světle. Gely se pak rychle promyly sterilní destilovanou H₂O, pak blotovaly na HyBond N⁺TM (Amersham International), podle standardních postupů (Sambrook a kol., 1989) přes noc. Bloty se oddělily a vysušily na vzduchu před fixací UV při 312 nm po dobu 2 minut.

Izolace sondy a přečistění

5 až 10 µg plazmidů pUN1 a pSR98-29 se rozštěpilo Sst1 (Life Technologies Ltd) podle výrobních instrukcí a získaly se fragmenty o velikosti přibližně 0,8 kb (NptII) a respektive 1 kb (SBEII-1). 5 až 10 µg plazmidů pVT96-54 se rozštěpilo BamH1a získal se fragment SBEII-2 o velikosti přibližně 1,2 kb. Štěpy se použily k elektroforéze na 1% agarózovém gelu s nízkým bodem tání. Genově specifické fragmenty se prověřily a DNA se přečistila za použití gel purifikačního kitu WizardTM (Promega).

Značení sondy a hybridizace

25 ng odpovídající próby (Waxy promotor kukuřice, NptII, fragment SBEII-1 nebo SBEII-2 z pšenice) se označilo radioaktivně pomocí systému Rediprime 11TM (Amersham International) za použití $\alpha^{32}\text{P}$ dCTP (Amersham International) podle pokynů výrobce. Bloty hybridizovaly přes noc při 65 °C v 0,6M NaCl, 20 mM Pipes, 0,2% gelu, 0,2% Ficoll 400, 0,2% PVP-360, 10 mM Na₄P₂O₇·10H₂O, 0,8% SDS, 0,5 mg/ml denaturované DNA ze spermatu lososa. Promytí po hybridizaci se provádělo v roztoku 30 mM NaCl, 2 mM

$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0,2 mM $\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0,1% SDS 7 minut při laboratorní teplotě a pak 10 minut při 65 °C. Filtry se exponovaly na film Kodak BioMax MR™ (Amersham International) při 70 °C. Bloty se promývaly 10 minut při 90 °C v roztoku 15 mM NaCl, 1 mM $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0,1 mM EDTA nebo do nulového pozadí.

Prodloužení sekvence SBEII-1 od 3' k 5' konci výsledného peptidu

Využilo se sekvenčních odchylek mezi sekvencemi SBEII-1 a SBEII-2 k návrhu SBEII-1 specifického 3' primeru, Sb4. Primer se použil ve spojení s 5' specifickým primerem SBEII k rozšíření nové sekvence SBEII-1 na základě PCR.

K rozšíření SBEII-1 3' sekvence k 5' konci výsledného peptidu se určila druhá konzervativní doména a navrhl se oligonukleotidový kódující primer AGSBEI. Provedla se PCR amplifikace z jednořetězcové zásobní cDNA endospermu za použití páru primerů AGSBEI-Sb4. Oddělení naamplifikovaných produktů elektroforézou na 1% (hmotnost/objem) agarózovém gelu (data nejsou uvedena) ukázalo, že výsledek reakce dává odlišný proužek o velikosti přibližně 2,2 kb. Pravděpodobné 2,2 kb amplifikační produkty se odseparovaly z gelu, spojily s PT7Blue a transformovaly do odpovídajících buněk Novablue *E. coli*. Po inkubaci přes noc se devět domnělých rekombinantních klonů vybralo k další analýze. Screening každého z vybraných klonů za použití vektor specifických primerů ukázal, že klony 5A1, 5A2, 5A5 a 5A9 zabudovaly inzerty předpokládané velikosti. Z těchto klonů byl klon 5A1 (který patří do podtřídy C) vybrán pro sekvenování (obr. 10). Aminokyselinová sekvence z obr. 10 odpovídá sekvenci Osbell-1ALL z obr. 2. Avšak ne celá sekvence předpokládaného otevřeného čtecího rámce zahrnuje nukleotidy 44 až 1823 a kóduje 593 aminokyselin peptidu. Na základě podobností s geny kukuřice se předpokládá, že u této sekvence chybí přibližně 230 aminokyselin z předpokládaného celkového počtu 830 aminokyselin. Na základě toho tak částečná sekvence představuje přibližně 70% kódující sekvence. Mnohočetné sekvenční varianty sekvence SBEII-1 s nedávno publikovanou sekvencí SBEII-2 pšenice (Nair *a kol.*, 1997), SBEI (Rapellin *a kol.*, 1997) a SBEI-D2 (Rahman *a kol.*, 1997) ukazují, že sekvenční podobnost SBEII-1 je 69,6%, 31,2% a 46,7% vzhledem k SBEII-2, SBEI a respektive SBEI-D2 (obr. 11 a 11a). Tato skutečnost dokazuje, že sekvence SBEII-1 se liší od publikovaných sekvencí SBE a potvrzuje analýzu uspořádání 3' sekvence (obr. 3). Zvýšení relativní homologie ve srovnání s výsledkem získaným z 3' sekvence vyplývá ze skutečnosti, že centrální doména SBE je vysoce konzervativní (Burton *a kol.*, 1995; Gao *a kol.*, 1997). Je však zřejmé, že tato klonovaná sekvence SBEII-1 pšenice je významně odlišná od dříve publikované sekvence SBE pšenice a představuje novou sekvenci.

Následují podrobnosti o provedení experimentu.

Sekvence SBEII-1 byly rozšířeny k 5' konci výsledného peptidu amplifikací ze zásobní cDNA endospermu za použití SBEII-1 specifického primeru Sb4 [TTTTCTTCACAACGCCCTGGG] (SEQ ID č. 40) ve spojení s primerem AGSBEI [TGTTTGGGAGATCTTCCTCCC] (SEQ ID č. 41). AGSBEI byl navržen jako homologní k motivu GVWEIFLP (SEQ ID č. 42), který byl konzervativní ve všech známých sekvencích SBE a je umístěn na 5' konci sekvence kódující výsledný peptid. PCR proběhla v 50 μ l reakci obsahující 5 μ l zásobní cDNA, 50 pmol Sb4, 50 pmol SBEA1, 5 μ l 5xTaq pufru, 4 μ l 25 mM Mg^{2+} , 0,5 μ l 20 mM dNTP a 1,25U Taq polymerázy. Všechny složky reakce se smíchaly, před PCR reakcí sestávající z 30 cyklů (94 °C - 45 sek, 55 °C - 30 sek, 72 °C - 1 min 30 sek) a závěrečné 10 minutové extenze při 72 °C. Amplifikační produkty se oddělily elektroforézou na 1% (hmotnost/objem) agarózovém gelu a specifické amplifikační produkty předpokládané velikosti se odseparovaly z gelu. DNA se eluovala z kousků gelu extrakční sady pro gely QUIAGEN podle doporučení výrobce před ligací s pT7 Blue (Novagen). Ligace se prováděla v 10 μ l reakci obsahující 7,5 μ l přečištěného amplifikačního produktu, 1 μ l 10x ligačního pufru, 1 μ l pT7Blue a 0,5 μ l T4 DNA ligázy (Amersham). Reakční složky se dobře promíchaly před inkubací při 4 °C přes noc. Po této inkubaci se polovina ligační reakce použila k transformaci odpovídajících buněk Novablue *E.coli* (Novagen). Transformované buňky se umístily do LB misek obsahujících X-gal (40 μ gml⁻¹), IPTG (0,1 mM), carbenicillin (100 μ gml⁻¹) a tetracyklin (12,5 μ gml⁻¹) před inkubací přes noc při 37 °C. Domnělé rekombinantní klony se původně testovaly na přítomnost insertu pomocí PCR na koloně za použití vektor specifických primerů T7B a U19. Insert pozitivní klony se testovaly pomocí inzert specifického primeru ve spojení s primerem T7B nebo U19 pro určení orientace insertu v mnohonásobném klonovacím místě před sekvenováním.

Analýza Southern blot

Analýza připravených nulli-tetrazonmích a ditelozonmích blotů se prováděla přesně podle popisu v Jack a kol. (1994).

Klony SBEII-1 uvedené výše, se klonovaly do transformačních vektorů pro transformaci pšenice.

Analýza Nothern blot

Nothern bloty se připravily z celkové RNA z vyvíjejících se pšeničných zrn kultivaru Bobwhite. Obr. 12 zobrazuje Nothern blot RNA ze semen pšenice kultivaru Bobwhite vypěstovaných ve skleníku podle popisu a sklizených mezi 5 a 29 dnem po odkvětu. Na blot se použila próba 1 kb Sac1 fragmentu SBEII-1 a následně (po odstranění) blotu se použil 1,2 kb BamH1 fragment SBEII-2, oba fragmenty byly přečistěny a označeny podle popisu. Obr. 12 A ukazuje gel s RNA obarvenou ethidiumbromidem před Nothern blotem. Obr. B ukazuje výsledky po použití sondy SBEII-1 a obr. C ukazuje výsledky po použití sondy SBEII-2. Ze srovnání obr. B a C jsou zřejmé odlišnosti v intenzitách signálů v různých časových okamžicích. Relativně silnější intenzita se vyskytuje zejména u sondy SBEII-2 po 5. dnu než u sondy SBEII-1, potvrzující tu skutečnost, že transkripční profil SBEII-1 a SBEII-2 jsou odlišné, z čehož zřejmě plyne, že dvě genové rodiny (SBEII-1 a SBE-2) se během vývoje semena exprimují odlišně. Velikost sledovaných transkriptů u SBEII-1 a SBEII-2 je přibližně 3,5 kb. Transkript SBEII-2 je však mírně kratší než transkript SBEII-1.

Plazmidové konstrukty

Pro plazmidové konstrukty se použily standardní postupy molekulární biologie (Sambrook a kol., 1989).

pWxGS+ (obr. 13) obsahující fúzi granulovité vazby genu syntázy genu kukuřičného škrobu (Shure a kol. 1983) s promotorem-GUS-Nos získanou jako výsledek Unileverova výzkumu Sue Wesslera (Univerzita v Georgii, Athény, USA) a je možné jej získat z tohoto zdroje na požádání. Promotor pWxGS+ je přibližně 1,5 kb dlouhý a představuje zkrácenou verzi podobného, ale delšího fragmentu promotoru popsaného v Russel & Fromm (1997). Sekvence promotoru (fragment HindIII-BamH1) u pWxGS+ je uvedena na obr. 13A (SEQ ID No: 55).

pSRWXGUS1 (obr. 14) se vytvoří začleněním spojovníku Sac1 [d(pCGAGCTCG)0] (New England Biolabs [NEB] (NEB katalog č. 1044) do oblasti Smal v pWxGS+.

pVTWXGUS2 (obr. 15) se vytvoří začleněním spojovníku BamH1 [d(pCGGGATCCCG)] (SEQ ID No: 43) (katalog NEB č. 1071) do Ecl136II (isoschizomer Sac 1, který dává tupé konce) oblasti pWxGS+.

Spojovník Sac1 se včlenil na místo XbaI (které bylo zarovnáno použitím Klenowova fragmentu + dNTP) B6 klonu SBEII-1 v plazmidu pTBlue za účelem tvorby klonu jako meziprojektu. Sekvence SBE se pak přečistila z tohoto klonu jako produktu jako fragment Sac1 a připojila se na místo Sac1 pSRWXGUS1 nahrazující sekvenci genu GUS za produkce plazmidu pSR96-26 a pSR96-29 představující orientaci proti smyslu a ve smyslu ve směru exprese genu sekvence SBEII-1 promotoru Waxy.

Spojovník BamH1 se včlenil na místě XbaI (které bylo zarovnáno použitím Klenowova fragmentu + dNTP) B11 klonu SBEII-2 v pT7Blue za účelem tvorby klonu jako meziprojektu. Sekvence SBE se pak přečistila z tohoto meziprojektu jako fragment BamH1 a připojila se na místo BamH1 v pVTWXGUS2 nahrazující sekvenci genu GUS za produkce plazmidu pVT96-50 a pVT96-53 představující orientaci proti smyslu a ve smyslu ve směru exprese genu sekvence SBEII-2 promotoru Waxy.

pVT96-54. Spojovník BamH1 se včlenil na místě XbaI (které bylo zarovnáno použitím Klenowova fragmentu + dNTP) B9 klonu SBEII-2 (ekvivalentní klonu B1) v pTBlue za účelem tvorby klonu jako meziprojektu. Sekvence SBEII-2 se pak přečistila z tohoto meziprojektu jako fragment BamH1 a připojila se na místo BamH1 pVTWXGUS2 nahrazující sekvenci genu GUS za produkce plazmidu pVT96-54.

Sekvence Waxy-SBE-NOS v plazmidech pSR-26 a pSR96-29 a pVT96-50 a pVT96-53 se přečistily jako fragmenty HindIII/EcoRI a včlenily do místa EcoRI/HindIII plazmidu pPBI-97-2 (známého též jako p97-2) (obr. 16). Plazmid pPOB-97-2 je popsán v evropské přihlášce vynálezu č. 97305694.8 (publikovaném jako WO 99/06570). Pro odstranění signálního znaku genu pro ampicilinovou rezistenci byly navrženy výsledné plazmidy pSR97-26A-(klon B6 (SBEII-1, podtřída A) v antimediatorové orientaci), pSR97-29A-(klon B6 v antimediatorové orientaci), a pSR97-50A (klon B11 (SBEII-2, podtřída A) v antimediatorové orientaci) a pSR97-53A, (klon B11 v kódující orientaci), jak je uvedeno na obr. 17, 18, 19 a 20.

p97-2C (obr. 21) se vytvořil štěpením mnohočetného spojovníkového místa Ecl136 II do SmaI v plazmidu pPBI97-2 (obr. 16), ligací a výběrem rekombinantů, v kterých se znovu začlenila oblast mnohočetného spojovníkového místa z SmaI do Ecl136 v opačné orientaci.

Sekvence Waxy-NOS v pSRWXGUS1 se přenesly jako fragment HindIII/EcoRI do místa HindIII/EcoRI plazmidu p97-2C za vzniku plazmidu p97-2CWT1 (obr. 22).

pSC98-1 a pSC98-2. Rozšířený 5A1 klon SBEII-1 k 5' konci 5A1 v pTBlue (obsahující SBE sekvenci z oblasti od 43 do 2003 bp na obr. 10) se štěpil EcoRI a XbaI a následně se přerušeni „spojí“ za použití Klenow polymerázy a dNTP. Výsledný tupě zakončený fragment SBE se přečistil na gelu a spojil s p97-2CWT1 (obr. 22), kde se štěpil pomocí Ecl136II a defosforyloval za použití telecí střevní fosfatázy. Výsledné rekombinanty se testovaly restriční analýzou a identifikovaly se klony obsahující orientaci sekvence SBE (s ohledem na waxy promotor). pSC98-1 (obr. 23) je verze antimediatorová a pSC98-2 (obr. 24) je verze kódující. Následným odstraněním genového markeru pro ampicilin se získaly výsledné plazmidy pSC98-1A a pSC98-2A.

Promotor ubiquitinu - NptII selekční konstrukt: pUN1

pUN1 se připravil následovně:

Spojovník Sac1 se včlenil na místo Small plazmidu pAHC25 (Christensen a Quail 1996) za vzniku plazmidu jako meziproduktu. GUS gen se odstranil z meziproduktu plazmidu štěpením pomocí SacI a následně vlastním připojením a identifikací rekombinančních molekul neobsahujících sekvenci GUS se získal plazmid pPBI95-9. pPBI95-9 se štěpil pomocí EcoRI a následně se identifikovaly připojené rekombinanční molekuly neobsahující sekvenci Ubi-BAR. Výsledný plazmid byl označen jako pPBI96-23. Sekvence NptII se naamplifikovala jako PCR produkt za použití primerů AG95-7:5'GATGAGCTCCGTTTCGCATGATTGAACAAGATGG (SEQ ID č.:44) a AG95-8:5'GTCGAGCTCAGAAGAACTCGTCAAGAAGGC (SEQ ID č.: 45), za použití pPBI96-23 (Goldsbrough a kol. 1994) jako templátu pro sekvenci NptII. Amplifikovaný produkt se naklonoval do místa SstI v pBluescript (Stratagene) a sekvenoval. Sekvenování ukázalo, že sekvence NptII byla spíše „mutantní“ forma než standardní typ, jak se očekávalo. „Mutantní“ forma nese záměnu jedné báze, která je „lemována“ unikátními místy NcoI a SphI. Klon Bluescript se štěpil NcoI a SphI pro odstranění oblasti obsahující záměnu jedné báze. Dva oligonukleotidy, (Npt1: CCCGACGGCGAGGATCTCGTCGTGACC (SEQ ID č.:46) a Npt2: CATGGGTCACGACGAGATCCTCGCCGTCGGGCATG) (SEQ ID č.: 47) se vzájemně spojily za tvorby fragmentu NcoI/SphI. Tento se naklonoval do NcoI/SphI štěpeného klonu Bluescript/Npt11 a výsledný klon se sekvenoval pro potvrzení, že gen již není standardní formou.

Sekvence NptII se pak přečistila jako fragment SacI a včlenil do místa SacI v pPBI96-23 za vzniku pUN1 (obr. 25). pUN1 zahrnuje standardní typ promotoru ubichitinu (Ubi promotor), který se též považuje za regulační systém ubichitinu (ve zkratce URS). Orientace sekvence fragmentu NptII v pUN1 byla stanovena restriční analýzou. Sekvence fragmentu NptII SacI je uvedena na obr. 26 (SEQ ID č.: 35). pUSN99-1 a pUSN99-2. Sekvence SBEII-1 (klon B6) se přečistila jako fragment SacI z plazmidu pSR96-26 a včlenila na místo SacI v pPBI96-23 za vzniku plazmidů pUSN99-1 a pUSN99-2 (obr. 27 a 28) představující „sense“ a „antisense“ orientace sekvence SBEII-1.

pPBI97-2BdUN1. pPBI92-2BdUN1 (někdy též označována jako p97-2BdUN1) zahrnuje rekonstituovaný regulační systém ubichitinu (následně označovaný jako modifikovaný promotor ubichitinu nebo modifikovaný regulační systém ubichitinu (mURS)), kterému chybí dva překrývající se „konvenční elementy tepelného šoku“ uváděné v EP 0342926 a US 5614399. Modifikovaný promotor ubichitinu se připravil pomocí PCR amplifikace dvou DNA fragmentů za použití genomové DNA jako templátu a následnou ligací dvou fragmentů za vzniku jednoho fragmentu neobsahujícího známou sekvenci

tepelného šoku (HS). Na místo sekvence HS se včlenila restriční oblast Kpn1. Použité primery byly navrženy podle sekvence publikované Liu a kol. 1995 (EMBL DNA databáze ZMU29159). K odsranění sekvence HS a nahrazení diagnostickým místem Kpn1 se použil promotor ubichitinu a intronová sekvence amplifikovaná jako dva fragmenty za použití kombinace primerů HS1 + Ubi3-3 a HS2 + Ubi5-2, sekvencí, které jsou uvedeny níže. Primery Ubi5-2 a Ubi3-3 jsou homologní k sekvencím publikovaným Liu a kol., 1995. Primery HS1 a HS2 jsou homologní k sekvencím umístěným přímo na 3' a 5' konci dvou překrývajících se oblastí HS v promotoru ubichitinu, jak je popsáno v EP 0342926 a US 5361399. Oba tyto primery mají Kpn1 konec a 5' konec.

Primery

HS1: 5-ATTAGGTACCGGACTTGCTCCGCTGTCGGC-3 (SEQ ID č.: 48)

HS2: 5-TATAGGTACCGAGGCAGCGACAGAGATGCC -3 (SEQ ID č.: 49)

Ubi5-2: 5-AGCTGAATCCGGCGGCATGGC -3 (SEQ ID č.: 50)

Ubi3-3: 5-TGATAGTCTTGCCAGTCAGGG-3 (SEQ ID č.: 51)

Naamplifikované produkty se klonovaly do pGEM TEasy (Promega) za vzniku plazmidů p97-U1 ap97-U2. Celá délka (přibl. 2kb) modifikovaného promotoru ubichitinu se rekonstruovala subklonováním fragmentu Kpn1 -Sac1 z p97-U1 do místa Kpn1/Sac v p97-U2 za vzniku p97-U3. Částečná restriční mapa předpokládané sekvence (SEQ ID No: 52) klonovaného fragmentu v p97-U3 je uvedena na obr. 29. (Modifikovaný promotor ubichitinu (nebo mURS) je předmětem evropské přihlášky vynálezu podané tímto přihlašovatelem stejného data jako tato přihláška pod referenčním číslem C1235,01/M). Modifikovaný promotor ubichitinu se přetransformoval jako fragment PstI z p97-U3 do plazmidu pPBI96-36. Plazmid pBI96-36 (obr. 30) obsahuje reportérovou genovou fúzi GUS-Nos pod kontrolou standardního promotoru ubichitinu (odvozeného od pAHC25) v plazmidové páteři pUC. Promotor nahrazuje standardní typ regulačního systému ubichitinu v pPBI96-36 za vzniku plazmidu p97-dUG1 (obr. 31) jako meziprojektu.

Konstrukce pPBI97-2BdUN1

Sekvence Ubi-Nos v pPBI96-23 byla přenesená jako fragment EcoRI-HindIII do oblastí EcoRI a HindIII v p97-2B (plazmid p97-2B je popsán v evropské patentové přihlášce

číslo 97305694,8 publikované jako WO 99/06570) za vzniku plazmidu p97-2BUbiNos. Modifikovaný promotor ubichitinu se přečistil jako fragment HindIII/SacI z p97-dUG1 (obr. 31) a přenesl do oblastí HindIII a SacI v p97-2BUbiNos, nahrazující standardní typ promotoru ubichitinu za vzniku p97-2BdUbiNos. Sekvence NptII v pUN1 se přečistila jako fragment SacI a přenesla do oblasti SacI v p97-2BdUbiNos za vzniku pPBI97-2BdUN1 (obr. 32). Následným odstraněním markeru pro ampicilinovou rezistenci za použití metody popsané ve WO 99/06570 se získal výsledný plazmid, označený jako p97-2BdUN1A, který se používal pro transformaci u pšenice.

pCaineo

pCaiNeo zahrnuje gen NptII pod kontrolou promotoru CaMV35S a intronu Adh1 u kukuřice. Plazmid popisuje Fromm a kol., 1986.

Transformace pšenice

U transformace pšenice se použily následující plazmidové kombinace („co-bombardments“):

Tabulka 2 Plazmidové kombinace použité upří transformačních pokusech u pšenice

Genové konstrukty škrobu	Výběr markerových konstruktů
	PAHC25
pWXGS+	pUN1
pSR97-26A - antimediatorový	pUN1 nebo p97-2BdUN1
pSR97-29A - kódující	p97-2BdUN1 nebo pCaiNeo
pSC98-1A - antimediatorový	p97-2BdUN1
pUSN -1 - kódující	p97-2BdUN1
pUSN-2 antimediatorový	p97-2BdUN1

pUSN -1 kódující pUSN -2 antimediátorový	pUN1
pSC98-2A -kódující	p97-2BdUN1

Metody zde popsané u transformace pšenice jsou z velké části založeny na metodách popsaných Barcelem a Lazzerim, 1995.

Zárodek rostliny pšenice jarního kultivaru Bobwhite a zimního kultivaru Florida se pěstoval ve skleníku s 16 hodinovou délkou dne s dodatečným osvětlením pro zajištění minimální světelné intenzity $500 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$. Teplota ve skleníku se udržovala při $19^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ během dne a $14^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ přes noc.

Z vyvíjejících se zm se získala nezralá embrya. Semena se sklídila a zárodky se kultivovaly po přibližně 12 dnech po odkvětu, když byly zárodky přibližně 1 mm dlouhé. Semena se nejprve promyla v 70% ethanolu 5 minut a pak se vysterilizovala v 10% čistícím roztoku Domestos bleach (Domestos je ochranná známka) 15 minut a následně 6 krát sterilní destilovanou vodou. Po odstranění páteře zárodku se embrya umístila páteří na agarózový gel (Sigma katalog č. A-3301) připravený za použití media MM1. Obecný postup pro přípravu MM1 je uveden v příloze 1 a návody pro různé složky v příloze 2. Zárodky se před bombardováním uchovávaly v temnu dva dny při $24^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$.

Plazmidy pAHC25, pCAiNeo, pUN1 a p97-2BdUN1 se použily jako selekční markery v kombinaci s genovým konstruktem škrobu, jak je podrobně popsáno v tabulce 2. pAHC25 (Christensen and Quail 1996) obsahuje chimerní Ubi-BAR gen, který provádí selekci transformantů do fosfinotricinu, aktivní složky v herbicidech BASTATM a Bialophos (viz Block, M.de. a kol., 1987). Plazmidy pCAiNeo (Fromm a kol., 1986), pUN1 a p97-2BdUN1 obsahují chimerní fúze promotoru genu NptII a provádí výběr transformantů oproti škále aminoglykozidových antibiotik včetně kanamycinu, neomycinu, geneticinu a paromycinu.

Pro zavedení plazmidů do rostlinných buněk se použilo částečné bombardování. Pro precipitaci plazmidové DNA na povrch $0,6 \mu\text{m}$ zlatých částic (BIO-RAD katalog číslo 165-2262) se použil následující postup: Celkové množství $5 \mu\text{g}$ plazmidové DNA se přidalo do $50 \mu\text{l}$ suspenze částic zlata, sonifikovaných 1 minutu (@ 10 mg/ml) v $1,5 \text{ ml}$ mikrocentrifugační zkumavce. Po rychlém promíchání během tří sekund se přidalo $50 \mu\text{l}$ $0,5\text{M}$ roztoku chloridu vápenatého a $20 \mu\text{l}$ $0,05\text{M}$ roztoku volné báze spermidinu na opačnou stranu víčka mikrocentrifugační zkumavky. Obsah zkumavky se smíchal uzavřením víčka a průnikem chloridu vápenatého a spermidinu na dno zkumavky. Po 3 sekundovém vortexvání se suspenze centrifugovala 5 sekund při $13\,000$ otáčkách za minutu. Supernatant se pak odstranil a pelet se resuspendoval v $150 \mu\text{l}$ absolutního ethanolu. Tento krok vyžadoval setření částic zlata z vnitřní strany zkumavky pomocí špičky

pipety. Následoval další 3 sekundový vortex, vzorek se pak opět centrifugoval a usazenina se rozsuspendovala v celkovém objemu 85 μ l absolutního ethanolu. Částice se krátce zvortexovaly a sonifikovaly 5 sekund ve vodní lázni sonifikátoru Camlab Trisonic T310 pro zajištění dobré disperze. Alikvot 5 μ l zlatých částic pokrytých DNA se umístil doprostřed makronosiče (BIO-RAD katalog č. 115-2335) a sušil se 30 minut. Bombardování částic se provedlo za použití komůrky Biolisite™ PDS-1000/He (BIO-RAD Instruments, Hercules CA), která je schématicky zobrazena na obr. 33, za použití tlaku helia 4478 kPa a 6200 kPa (pojistná membrána: BIO-RAD katalog číslo 165-2327 a 165-2328).

Co se týká obr. 33, zobrazená vakuová komůrka obsahuje plášť 10 vnitřní stěny, který zahrnuje sérii 12 otvorů pro vstup, jako například pro příjem vzorků 14, uvedený na čtvrté úrovni shora pláště. Pojistný disk 16 je nesený v trubici pod tlakem helia 18 blízko horní části zařízení. Nosič 20 v druhé části zařízení 12 shora zařízení nese jednotku 22, která obsahuje zastavovací čidlo a kruhy 24, z nichž 11 kruhů je pod nosičem 20 a 3 až 4 kruhy jsou nad nosičem 20. Makronosič 26 je umístěn v horní části jednotky 22. Přibližná vzdálenost od přerušení disku 16 k makronosiči 26 je 25 mm s přibližnou vzdáleností od makronosiče 26 k zastavujícímu čidlu 7 mm a přibližná vzdálenost od zastavovacího čidla k otvoru pro příjem vzorku 14 je 67 mm. Vzdálenost horní části jednotky 22 je přibližně 21 mm od spodní části zkumavky 18 a spodní jednotka 22 je přibližně 31 mm od horní části vzorku 14.

Nevyvinuté zárodky se bombardovaly mezi 1. a 2. dnem po založení kultury. Pro ozařování se nevyvinuté zárodky seskupily do kruhu o průměru přibližně 1 cm, obsahujícího 20 až 100 embryí, osou do media MM1. Petriho miska (neuvedeno) obsahující tkáň se umístila do komůrky pro příjem vzorku 14, na čtvrtou úroveň shora, jak je znázorněno na obr. 33. Vzduch v komůrce se pak odsál na vakuum 28,5 palců Hg. Makronosič 26 se pak zrychlil vlnami helia za použití membrán, které se protrhly při tlaku He v tlakové zkumavce 18 dosahující 4478 kPa nebo 6200 kPa. Za 1 hodinu po bombardování se bombardovaná embrya umístila do MM1 media v hustotě 10 embryí na 9 cm a uchovávala se nepřetržitě za tmy a při 24°C po dobu 2-3 týdnů. Během této doby se na bombardovaných embryích vytvořil somatický embryonální krunýř. Po 2-3 týdnech se embrya přenesla do zgelovatělého regeneračního média známého jako R medium a inkubovala při 24°C při 16 hodinové délce světla. Obecný návod pro přípravu média R je uveden v příloze 1. Embrya se přenesla na čerstvé misky v 2-3 týdenních intervalech. Složení regeneračního média se lišilo v závislosti na režimu selekce. U transformantů bombardovaných genem BAR se vypustil roztok 3 aminokyselin a pro selekci se použil roztok PPT (fosfinotricin) o koncentraci 1 mg/l až 3 mg/l během tří 2-3 týdenních transferů pro selekci. Pro selekci transformantů se použil gen NptII třemi různými způsoby: 1) Geneticin (GIBCO-BRL

katalogové číslo 10131-019) se včlenil (o koncentraci 50 mg/l) ihned do transferu do regenerovaného média a jeho koncentrace se udržovala na 50 mg/l pro následující přenos do regeneračního média. 2) & 3). Embrya se nejprve přenesla do regeneračního média bez selekce, na 12 dnů a 2-3 týdny a pak se přenesla do média obsahujícího Geneticin o koncentraci 50 mg/l. Po 2-3 pasážích v regeneračním médiu se přenesly do samostatných zkumavek s kulturami, obsahujícími 15 ml regeneračního média o poloviční iontové síle se selekcí 3 mg/l PPT nebo 35 mg/l geneticinu v závislosti na použití genu BAR z genu NptII u původního bombardování. Po vytvoření kořenů se regenerované rostliny zasadily do půdy ve skleníku.

Izolace genomové DNA a analýza Southern blotu

Analýza Southern blotu primárních transformantů a dceřinných rostlin se prováděla následovně: Zmrazené vysušené listy se rozmělnily pomocí paličky a hmoždíře Kontes™ a genomová DNA se extrahovala podle popisu v Futon a kol., 1995. 5 µg genomové DNA se štěpilo vhodným restrikčním enzymem podle doporučení výrobce a pak proběhla elektroforéza na 1% agarózovém gelu přes noc. Poté se gel vyfotografoval, promyl a blotoval na Hybond N+™ (Amersham International) podle Southern metody za použití standardních postupů (Sambrook a kol., 1989). Po následném blotování se filtry vysušily na vzduchu, pak v pícce 1 až 2 hodiny při 65 °C a zafixovaly UV 2 minuty při 312 nm.

Příprava próby a značení pro analýzu Southern blotu transforovaného materiálu se provádělo podle popisu výše.

Histochemie GUS se provedla přesně podle popisu Jeffersona (1987).

Vyhodnocení promotoru ubichitinu pro konstitutivní expresi přidružených transgenů.

Plazmid pAHC25 (Christensen a Quail, 1996) se transformoval do pšenice podle popisu v předchozích částech. Transformanty se vybraly na základě rezistence na fosfotricin. Analýzy Southern blot se prováděly na primárních transformantech pro potvrzení začlenění plazmidové sekvence (data nejsou uvedena). Histochemické analýzy GUS se též provedly a ukázaly, že promotor ubichitinu je schopen zprostředkování vysoké exprese GUS ve tkáních pšenice. Obr. 34 A, B, C & D uvádí histochemické lokalizace exprese GUS u ve tkáni semene, stonku, květenství a listů. Analýzy Southern blot a histochemické analýzy GUS se též prováděly na mladých rostlinách primárních transformantů pro potvrzení, zda použitý transformační systém je schopen tvorby transgenních rostlin, které trvale přenáší včleněné plazmidové sekvence do potomstva rostlin. Obr. 35 ukazuje Southern blot 26 dceřinných rostlin transformantu BW119, který byl

transformován pAHC25. V tomto příkladu byla genomová DNA z dceřinných rostlin štěpena restrikcí enzymem Sac1 a blot byl spojen se sondou o sekvenci kódující gen GUS. Výsledky Southern blot naznačují přítomnost dvou nezávisle segregujících integračních lokusů, z nichž každý obsahuje konkatamery plazmidové sekvence pAHC25.

Vyhodnocení promotoru waxy u kukuřice pro endosperm-specifickou expresi přidružených transgenů.

Plazmidy pWxGS+ a pUN1 se kotransformovaly do pšenice, jak je popsáno dříve. Transformanty se vybraly na základě rezistence na geneticin. Analýza Southern blot se prováděla na primárních transformantech pro potvrzení integrace plazmidových sekvencí (data nejsou uvedena). Histochemické analýzy GUS se prováděly též pro stanovení expresního profilu zprostředkovaného waxy promotorem kukuřice. Většina transformantů, které exprimovaly GUS, vykazovaly expresi specifickou pro tkáň endospermu, dokazující vhodnost tohoto promotoru zprostředkovat endospermovou expresi přidružených transgenů. Obr. 36 A&B ukazují endosperm specifickou expresi GUS v semenech dvou nezávislých transformantů. Nesledovala se exprese GUS v pylových zrnech, jak sledovali Russell a Fromm (1997). Avšak u konstruktů, který použili, použili též včleněný hsp intron 70 kukuřice, který může mít případně kvantitativní i kvalitativní vliv na expresi.

Transformace pšenice pomocí genových konstruktů škrobu.

Různé kombinace konstruktů, podrobně uvedené v tabulce 2, byly kotransformovány do pšenice za použití postupů uvedených v předchozích částech. Transformanty byly vybrány na základě rezistence na geneticin. Primární transformanty byly shledány jako pozitivní na základě analýzy Southern blot. Bloty následně reagovaly se sondou s kódující sekvencí NptII a sondou kódující oblast SBE. Obr. 37 ukazuje příklad Southern blot, který zahrnuje 22 domnělých transformantů, které byly ko-bombardovány pSR97-29A- nebo pSR97-26A- a pUN1 nebo p97-2BdUN1. Genomová DNA na tomto blotu byla štěpena pomocí Sac1. Blot nejprve reagoval se sondou NptII. Linie označené hvězdičkou odpovídají transformantům, které dávají pozitivní signál se sondou NptII. Blot uvedený na obr. 37 reagoval se sondou Sac1 fragmentu SBE11-1. Jako výsledek štěpení Sac1 se očekává hybridizující proužek SBE11-1 o velikosti 1 kb z plazmidových sekvencí pSR97-29A- i pSR97-26A- a intenzita tohoto proužku se liší v závislosti na počtu kopií včleněných plazmidových sekvencí. Jak je zřejmé z obr. 37, objevuje se i několik dalších hybridizujících proužků SBE11-1. Pět z těchto proužků je přítomno ve všech liniích a vedou od hybridizačních po endogenní SBE11-1 sekvence pšenice. Další proužky různých velikostí, které jsou zřejmé u

většiny linií, dávající hybridizační proužek o velikosti 1 kb, jsou většinou výsledkem integrace, kdy se jedná o více kopií plazmidu linearizovaného v rámci sekvence SBEII-1 o velikosti 1 kb před integrací. V příkladu uvedeném na obr. 37 u 20 NptII pozitivních rostlin bylo 16 ko-transformovaných sekvencemi SBEII-1, představující 80% účinnost ko-transformace.

Diferenciační skenovací kalorimetrie (DSC)

Po zahřátí vodná suspenze škrobu v přebytku vody podlehne kooperativní endotermický přechod, známý jako želatinace, jak se uvádí výše, vedoucí k tání krystalů škrobu. Diferenciální skenovací kalorimetrie (DSC) měří množství energie (tepla), absorbovaného nebo uvolněného vzorkem při zahřátí, zchlazení nebo udržování při konstantní (izotermické) teplotě. DSC byla široce využita pro studium želatinace a retrogradace škrobu.

Analýzy DSC se prováděly na jednotlivých zrnech nebo pěti zrnech z primárních transformantů vytvořených transformací za použití každé kombinace genového konstruktů (konstruktů) podrobně uvedené v tabulce 2.

Použily se dva různé postupy a metody DSC:

Metoda 1:

Jednotlivé vzorky semen se rozdrtily a rozmělnily pomocí hmoždíře. Zbylé otruby se pak oddělily a vzorky se umístily do 50 μm hliníkových DSC misek. Přidalo se na hmotnost trojnásobné množství vody a misky se vzorky se uzavřely. Analýza se prováděla za použití systému Perkin-Elmer DSC-7 RoboticTM opatřeném chladičem IITM pro nadstandartní podmínky. Vzorky se zahřívaly od 25 °C do 80 °C při rychlosti zahřívání 5 °C min⁻¹. Sledovala se entalpie želatinace, zvyšování a nejvyšší dosažené teploty. Termogramy se analyzovaly za použití programů softwaru Perkin-Elmer (Thermal Analysis Software 7). Enthalpie želatinace je vyjádřena v Joulech (J)/gram (g) na vzorek.

Metoda 2

Pět semen jednotlivých primárních transformantů nebo jednoho semeno primárního transformantu se pomlelo za použití mlýnu Cemotec 1090TM Sample Mill. Pomletý vzorek se pak přesil přes síto o velikosti otvorů 250 μm pro oddělení otrub od endospermu. Přibližně 5 mg přesátých vzorků se pak přesně navázilo do 50 μl hliníkové DSC mísy. Přidalo se na

hmotnost trojnásobné množství vody a mísa se vzorkem se uzavřela. Analýzy se prováděly za použití systému Perkin-Elmer Pyris 1TM DSC opatřeného automatickým dávkovačem vzorků a chladičem IP. Vzorky se zahřívaly od 40 °C do 85 °C při rychlosti zahřívání 10 °C min⁻¹.

Termogramy se analyzovaly za použití softwaru Perkin-Elmer (Pyris Software for Windows v 3.5). Sledovala se enthalpie želatinace, zvýšení teploty, nejvyšší a nejnižší teplota.

Metoda 1 a další série analýz DSC se prováděly na 5 zrnech od primárních transformantů, transformovaných plazmidovou kombinací pSR97-26A-/pUN1, pSR97-26A-/p97-2BdUN1 a pSR97-29A-/p97-2BdUN1. Získané výsledky se srovnaly s výsledky získanými z kontrolního materiálu, který se transformoval jedním z NptII výběrových markerových plazmidů, neobsahujících však žádný „škrobový“ plazmid. Tabulka 3 shrnuje nástup teploty, nejvyšší hodnotu a konečnou hodnotu entalpie u vybraných zásobních vzorků. Většina vzorků vykazovala podobné hodnoty jako kontrolní materiál. Z tabulky 3 je však zřejmé, že nástup teploty, nejvyšší hodnoty a konečné teploty byly vyšší u mnoha transgenních vzorků ve srovnání s kontrolním materiálem. Například, transformant BW326 vykazuje nástup teploty, nejvyšší a konečnou hodnotu teploty 6,7 °C, 4,9 °C a 4,6 °C ve srovnání s kontrolním vzorkem.

Metoda 2 a další série analýz DSC se prováděly na pěti zrnech od primárních transformantů, transformovaných plazmidovou kombinací pSC98-1A-/p97-2BdUN1, pUSN-1/p97-2BdUN1, pUSN-2/p97-2BdUN1 a pUSN-1/pUSN-2/pUNI. Získané výsledky se srovnaly s výsledky získanými z kontrolního materiálu, který se transformoval jedním z NptII výběrových markerových plazmidů, neobsahujících však žádný „škrobový“ plazmid. Tabulka 4 shrnuje nástup teploty, nejvyšší hodnotu, a konečnou hodnotu entalpie u vybraných zásobních vzorků. V mnoha případech je zřejmé, že „škrobový“ transgenní materiál vykazuje nástup teploty, nejvyšší hodnotu a konečnou hodnotu vyšší než u kontrolního materiálu. Například, transformant BW727 vykazuje nástup teploty, nejvyšší a konečnou hodnotu teploty 9,8 °C, 8,7 °C a 9,1 °C ve srovnání s BW kontrolním vzorkem 3 a nástup teploty, nejvyšší a konečnou hodnotu teploty 7,6 °C, 6,8 °C a 7,8 °C ve srovnání s BW kontrolním vzorkem 2.

Tabulka 3: Výsledky DSC analýz na jednotlivých zrn za použití metody 1. Uvedené hodnoty jsou průměrem 2 až 6 jednotlivých vzorků zrn (T_o , T_p a T_f je nástup teploty, nejvyšší a konečná hodnota teploty).

kombinace plazmidu	Linie Kód	T_o (°C)	T_p (°C)	T_f (°C)	H (J/g)
BW kontrolní vzorek 1		55,2	59,7	66,5	4,66
pSR97-26A-/pUN1	BW283	57,1	60,4	65,0	2,12
	BW135	57,2	62,1	68,6	4,86
	BW324	57,8	62,1	69,1	5,33
	BW325	58,4	61,8	68,7	3,90
	BW326	61,9	64,6	71,1	2,46
	BW348	60,7	63,4	69,7	3,76
pSR97-26A-/p97-2BdUN1	F227	57,4	61,4	67,3	2,65
pSR97-29A-/p97-2BdUN1	F310	62,1	63,7	69,2	6,75
	F312	59,0	62,3	66,8	1,16
	BW335	56,2	60,8	69,1	4,63
	BW353	59,5	62,7	70,8	3,21
	BW354	55,4	61,7	68,9	4,28
	BW355	57,9	61,5	68,0	3,95
	BW357	55,3	60,6	68,0	3,74
	BW363	56,7	62,5	67,9	1,13
	BW367	59,0	62,5	68,2	2,17
	BW369	57,9	60,9	65,9	1,04
	BW370	53,7	59,4	67,5	6,00
	BW375	57,2	61,5	70,0	4,14
	BW376	54,0	58,1	68,0	3,39
	BW377	53,4	60,9	69,2	2,60
	BW380	54,6	61,6	67,6	2,16
	BW390	56,8	61,2	68,5	1,29
	BW399	57,4	62,7	67,9	1,77
	BW400	60,6	63,6	68,1	0,64
	BW341	51,6	59,0	66,4	1,97

Tabulka 4: Výsledky analýz 5 zrn za použití metody 2. T_o , T_p a T_f je nástup teploty, nejvyšší a konečná hodnota teploty.

kombinace plazmidu	Linie Kód	T_o (°C)	T_p (°C)	T_f (°C)	H (J/g)
F kontrolní vzorek 1		60,1	63,9	68,0	6,30
BW kontrolní vzorek 2		59,3	64,0	68,4	5,94
BW kontrolní vzorek 3		57,08	62,09	67,08	4,28
pSC98-1A-/p97-2BdUN1	BW449	59,3	62,9	67,9	3,95
	BW477	57,7	63,6	70,6	8,30
	F492	62,3	66,4	70,2	7,60
	F494	63,6	67,3	71,0	5,73
	BW511	59,6	63,8	67,2	0,98
	BW518	60,2	64,9	69,2	3,57
	BW519	58,4	63,6	68,5	4,13
	BW527	58,7	63,7	69,0	6,38
	BW549	59,9	64,8	69,3	4,48
	BW550	60,2	64,6	68,9	5,06
	BW552	60,8	62,9	67,9	3,74
	BW553	59,5	63,9	67,5	3,60
	BW555	61,0	66,1	68,2	5,43
	BW557	62,7	66,9	71,0	5,08
	BW559	61,6	65,9	70,8	5,08
	BW563	61,4	65,1	69,4	1,90
	BW564	59,4	64,5	73,2	7,08
	BW576	61,8	65,6	69,3	2,65
	BW587	61,3	65,4	69,4	5,36
	BW614	63,9	67,9	71,8	5,83
	BW618	61,3	65,6	69,7	3,54
	BW583a	58,9	63,7	68,0	3,54
	BW631	61,5	65,6	69,7	4,52
	BW633	61,9	66,0	70,2	5,12

	BW634a	60,8	64,9	70,2	5,10
	BW637a	62,8	67,2	72,0	5,16
	BW639	61,8	65,1	68,9	2,15
	BW640a	62,2	66,7	71,0	3,23
	BW642	63,2	67,2	70,9	4,90
	BW698	62,9	67,0	70,9	4,48
	BW700a	63,8	67,6	71,2	3,41
	BE524a	59,4	64,3	68,9	4,05
pUSN-1/p97-2BdUN1	BW622	59,0	64,1	68,7	4,32
	BW628	56,2	63,3	66,0	6,09
	BW645	57,5	65,6	69,5	5,97
	BW646	61,6	66,4	67,7	3,99
	BW647	61,3	65,4	69,0	3,47
	BW648	59,8	64,4	68,8	4,65
	BW649	61,3	65,6	70,1	5,07
	BW656	59,9	64,6	69,2	5,38
	BW660	62,0	67,3	71,0	4,23
	BW661	61,5	65,8	69,6	3,88
	BW664	61,1	66,1	70,8	4,81
	BW665	61,6	66,5	69,4	5,25
	BW667	63,0	67,1	70,8	3,91
	BW672	63,0	68,1	71,9	5,43
	BW673A	63,1	67,7	71,6	4,83
	BW675	62,1	66,4	71,3	10,97
	BW676	59,8	67,3	71,2	4,21
	BW678	63,0	66,3	69,3	1,20
	BW680	60,8	65,3	70,1	4,94
	BW701	62,3	67,5	72,2	4,70
	BW706	63,0	67,3	71,3	4,94
	BW707	60,9	65,8	70,0	4,77
	BW708	61,7	65,5	68,8	6,11
	BW726	62,6	67,5	71,3	5,44

	BW755	60,8	65,8	70,6	5,18
	BW702	61,9	67,0	71,0	4,44
	BW756	62,3	66,1	69,7	4,83
pUSN-2/p97-2BdUN1	BW625	62,7	68,2	73,8	4,27
	BW653	60,4	65,3	70,1	6,52
	BW704	60,9	66,2	70,2	4,19
	BW718	61,3	66,9	71,2	4,15
	BW719	62,2	67,2	71,7	5,32
	BW722	64,8	67,5	70,0	2,14
	BW740	63,4	67,9	72,3	5,67
	BW741	62,6	66,9	70,5	5,30
	BW742	64,6	67,9	72,0	6,66
	BW752	62,3	66,3	70,0	4,63
pUSN-1/pUSN-2/pUN1	BW685	62,6	65,5	69,0	2,60
	BW686A	61,9	66,3	70,2	4,45
	BW714	63,0	67,6	71,3	3,53
	BW727	66,9	70,8	76,2	5,19
	BW728	62,0	66,3	70,4	5,70
	BW731	63,3	67,9	73,0	4,90
	BW732	63,5	66,8	70,8	4,11
	BW748	62,1	67,4	71,9	5,38
	BW794	62,8	67,5	71,8	5,17

Příloha 1

Návod pro 2x koncentrované médium MM1

Složka	Objem 2x koncentrovaného zásobního média na 1 litr
Makrosoli MS (10X zásobní roztok)	200 ml
Mikrosoli L (1000x zásobní roztok)	2 ml
FeNaEDTA MS (100x zásobní roztok) [Sigma katalog F-0518]	20 ml
Modifikované Vits MS (x1000)	1 ml
roztok 3 aminokyselin (25x zásobní roztok)	40 ml
myo inositol (Sigma katalogové číslo I-3011)	0,2 g
sacharóza	180 g
AgNO ₃ (20mg/ml zásobní roztok) přidaný po filtrační sterilizaci	1 ml
Pikloram (1m/ml zásobní roztok) přidaný po filtrační sterilizaci	4 ml

Následovala filtrační sterilizace a přídavek ekvivalentního objemu 2x agarózového gelu (10g/l)

Návod pro 2x koncentrované R médium

Složka	Objem 2x koncentrovaného zásobního média na 1 litr
Makrosoli L7 (10X zásobní roztok)	200 ml
Mikrosoli L (1000x zásobní roztok)	2 ml
FeNaEDTA MS (100x zásobní roztok)	20 ml
Vits/Inositol L2 (200x zásobní roztok)	10 ml
Roztok 3 aminokyselin (25x zásobní roztok)	40 ml
Maltóza	60 g
2,4-D (zásobní roztok 1mg/ml) přidáný po filtrační sterilizaci	200 µl
Smíchané cis a trans izomery Zeatin (Melford laboratoře, katalogové číslo Z-0917) (zásobní roztok 5mg/ml) přidáný po filtrační sterilizaci	2 ml

Následovala filtrační sterilizace a přidavek ekvivalentního objemu 2x koncentrovaného agaru (16g/1 litr).

Příloha 2

Návod pro použití složek pro přípravu média MM1 a R média

Mikrosoly L (1000x zásobní roztok)

	na 100 ml
$\text{MnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	1,34 g
H_3BO_3	0,5 g
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,75 g
KI	75 mg
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	25 mg
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	2,5 mg
$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	2,5 mg

Následovala filtrační sterilizace přes membránový filtr o velikosti otvorů 22 μm .

Skladování při 4 °C.

Makrosoly MS (10x zásobní roztok)

	na 1 litr
NH_4NO_3	16,5 g
KNO_3	19,0 g
KH_2PO_4	1,7 g
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	3,7 g
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	4,4 g

NB: Rozpustit CaCl_2 před smícháním s jinými složkami

NB: Připravit KH_2PO_4 samostatně ve sterilizované H_2O a přidat zbytek.

Roztok skladovat po autoklávování při 4 °C.

Modifikované MS Vits (1000x zásobní roztok)

	na 100 ml
Thiamin HCl	100 mg
Pyridoxin HCl	50 mg
Kyselina nikotinová	50 mg

Roztok skladovat v 10 ml alikvotech při –20 °C.

Roztok 3 aminokyselin (25x zásobní roztok)

	na 1 litr
L-glutamin	18,75 g
L-prolin	3,75 g
L-asparagin	2,5 g

Roztok skladovat ve 40 ml alikvotech při –20 °C.

Makrosoly L7 (10x zásobní roztok)

	na 1 litr
NH_4NO_3	2,5 g
KNO_3	15,0 g
KH_2PO_4	2,0 g
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	3,5 g
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	4,5 g

NB: Rozpustit CaCl_2 před smícháním s jinými složkami

NB: Připravit KH_2PO_4 samostatně v 50 ml H_2O a přidat zbytek.

Roztok skladovat po autoklávování při 4 °C.

Vits/Inositol (200x zásobní roztok)

200x zásobní roztok	na 100 ml
Inositol	4,0 g
Thiamin HCl	0,2 g
Pyridoxin HCl	0,02 g
Kyselina nikotinová	0,02 g
Ca - panthothénát	0,02 g
Kyselina askorbová	0,02 g

Roztok skladovat ve 40 ml alikvotech při -20 °C.

Odkazy

- Atwell, W.A., Hood, L.F., Lineback, D.R., Varriano-Marston, E., and Zobel, H.F. (1988). The terminology and methodology associated with basic starch phenomena. *Cereal Foods World* 33, 306-311.
- Baba, T., Kimura, K., Mizuno, K., Etoh, H., Ishida, Y., Shida, O., and Arai, Y. (1991). Sequence conservation of the catalytic regions of amylolytic enzymes in maize branching enzyme-I. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 181(1): 87-94.
- Barcelo P., and Lazzeri, P. (1995). Transformation of cereals by microprojectile bombardment of immature inflorescence and scutellum tissues. *Methods in Molecular Biology - Plant Gene Transfer and Expression Protocols* (vol 49), 113-123. Jones H [ed] Humana Press Inc., Totowa, NJ.
- Block, M.de *et al.* (1987). *EMBO J* 6:2513-2518
- Boyer, C.D. and Priess, J. (1978). Multiple forms of (1-4)-D-Glucan, (1-4)-D-Glucan 6-glycosyl transferase from developing *Zea mays* L. kernels. *Carbohydrate Res* 61:321-334.
- Burton, R.A., Bewley, J.D., Smith, A.M., Bhattacharyya, M.K., Tatge, H., Ring, S., Bull, V., Hamilton, W.D.O., and Martin, C. (1995). Starch branching enzymes belonging to distinct enzyme families are differentially expressed during pea embryo development. *Plant J* 7:1-13
- Christensen, A.H., and Quail, P.H. (1996). *Transgenic research*, 5:213-218.
- Donovan, J.W. (1979). Phase transitions of the starch-water system. *Biopolym.* 18, 263-275.
- Fisher, D.K., Boyer, C.D., and Hannah, L.C. (1993). Starch branching enzyme II from maize endosperm. *Plant Physiol.* 102:1045-1046.
- Fisher, D.K., Gao, M., Kim, K-N., Boyer, C.D., and Guiltinan, M.J. (1996). Two closely related cDNAs encoding starch branching enzyme from *Arabidopsis thaliana*. *Plant Mol. Biol.* 30:97-108

- Fromm ME, Taylor LP & Walbot V. (1986). Stable transformation of maize after gene transfer by electroporation. *Nature* 319: 791-793.
- Fulton, T.M., Chunwongse, J., and Tanksley, S.D. (1995). Miniprep Protocol for Extraction of DNA from Tomato and other Herbaceous Plants, *Plant Molecular Biology Reporter*, 13 (3), pages 225-227.
- Gao, M., Fisher, D.K., Kim, K-N., Shannon, J.C., and Guiltinan, M.J. (1997). Independent genetic control of maize starch-branching enzymes IIa and IIb: Isolation and characterisation of a *Sbe2a* cDNA. *Plant Physiol.* 114: 69-78.
- Gaun, H.P., and Preiss, J. (1993). Differentiation of the properties of the branching isoenzymes from maize (*Zea mays*). *Plant Physiol.* 102: 1269-1273.
- Goldsbrough AP, Belzile F, Yoder JI (1994). Complementation of the tomato anthocyanin without (*aw*) mutant using the dihydroflavonol 4-reductase gene. *Plant Physiology* 105, 491-496.
- Islam, A.K.M.R. (1983). Ditelosomic additions of barley chromosomes to wheat. *In Proc. 6th Int. Wheat Genet. Symp.* 233-238. Kyoto, Japan.
- Jack, P.L., Dimitrijevic, T.A.F., and Mayes S. (1994) Assessment of nuclear, mitochondrial and chloroplast RFLP markers in oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) *Theor. Appl. Genet.* 90:643-649.
- Jefferson RA (1987). Assaying chimaeric genes in plants: The GUS gene fusion system. *Plant Molecular Biology Reporter* 5 (4) 387-405.
- Kennedy, J.F. and Cabalda, V.M.B. (1991). Bioactive carbohydrates in food. *Chemistry in Britain*, November, 1017-1019, 1026.
- Khoshnoodi, J., Ek, B., Rask, L., and Larsson, H. (1993). Characterisation of the 97 and 103kDa forms of starch branching enzyme from potato tubers. *FEBS* 332 (1,2):132-138.
- Kossmann, J., Visser, R.G.F., Muller-Rober, B., Willmitzer, L., and Sonnewald, U. (1991). Cloning and expression analysis of a potato cDNA that encodes branching enzyme: evidence for co-expression of starch biosynthetic genes. *Mol. Gen. Genet* 230: 39-44.

- Liu et al (1995). *Biochem Cell Biol* 73: 19-30.
- Martin, C., and Smith, A.M. (1995). Starch biosynthesis. *Plant Cell* 7:971-985.
- Matzke & Matzke (1995). *Plant Physiol.* 107, 679-685.
- Mizuno, K., Kawasaki, T., Shimada, H., Satoh, H., Kobayashi, E., Okumura, S., Arai, Y., and Baba, T. (1993). Alteration of the structural properties of starch components by the lack of an isoform of starch branching enzyme in rice seeds. *J.Biol. Chem.* 268(25): 19084-19091.
- Morell, M.K., Rahman, S., Abrahams, S.L., and Appels, R. (1995). The biochemistry and molecular biology of starch synthesis in cereals. *Aust.J. Plant Physiol.* 22: 647-660.
- Morell, M., Blennow, A., Kosar-Hashemi, B., and Samuel, M.S. (1997). Differential expression and properties of starch branching enzyme isoforms in developing wheat endosperm. *Plant Physiol.* 113:201-208.
- Mousley, C.G. (1994). PhD Thesis, Wye College, University of London.
- Nair, R.B., Baga, M., Scoles, G.J., Kartha, K.K., and Chibbar, R.N. (1997). Isolation, characterisation and expression analysis of a starch branching enzyme II cDNA from wheat. *Plant Sci.* 122:153-163.
- Nakamura, Y., Takeichi, T., Kawaguchi, K., and Yamanouchi, H. (1992). Purification of two forms of starch branching enzyme (Q-enzyme) from developing rice endosperm. *Physiol. Plant* 84: 329-335.
- Nakamura, Y., and Yamanouchi, H. (1992). Nucleotide sequence of a cDNA encoding starch-branching enzyme, or Q-enzyme I, from rice endosperm. *Plant Physiol.* 99:1265-1266.
- Preiss, J. (1991). Biology and molecular biology of starch synthesis and regulation. *In* *Oxford Surveys Plant Mol. Cell Biol.* 7:59-114.
- Rahman, S., Abrahams, S., Abbott, D., Mukai, Y., Samuel, M., Morrell, M., and Appels, R. (1997). A complex arrangement of genes at a starch branching enzyme I locus in the D-genome donor of wheat. *Genome* 40:465-474.

- Rapellin, A et al 1997. Isolation of a starch branching enzyme I cDNA from a wheat endosperm library. EMBL database accession Y12320.
- Russell, D.A. and Fromm, M.E. (1977). Tissue-specific expression in transgenic maize of four endosperm promoters from maize and rice. *Transgenic Research* 6: 157-168.
- Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T (1989) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2nd ed. Cold Spring Harbour Laboratory Press, Cold Spring Harbour, NY.
- Salehuzzaman, S.N.I.M., Jacobsen, E., and Visser, R.G.F. (1992). Cloning, partial sequencing and expression of a cDNA coding for branching enzyme in cassava. *Plant Mol. Biol.* 20:809-819.
- Sears, E.R. (1966). *In Chromosome manipulations and plant genetics Edited by R. Riley and K.R. Lavis, Oliver and Boyd, Edinburgh.* pp29-45.
- Sheehy *et al* (1988) *PNAS* 85, 9905-8809.
- Smith, A.M. (1988). Major differences in isoforms of starch-branching enzyme between developing embryos of round- and wrinkled-seeded peas (*Pisum sativum* L.). *Planta* 175:270-279.
- Shure, M et al 1983. *Cell* 35: 225-233.
- Sun, C., Sathish, P., Deiber, A., and Jansson, C. (1995). Multiple starch branching enzymes in barley endosperm. *In Photosynthesis from light to biosphere.* P. Mathis (ed.) Vol. V:317-320.
- Sun, C., Sathish, P., Ahlandsberg, S., and Jansson, C. (1998). The two genes encoding starch-branching enzymes IIa and IIb are differentially expressed in Barley. *Plant Physiol.* 118:37-49 (earliest electronic publication date 10th September 1998).
- Svegmark, K. and Hermansson, A-M. (1990). Shear induced changes in the viscoelastic behaviour of heat treated potato starch dispersions. *Carboyd. Polym.* 13, 29-45.
- Takeda, Y., Gaun, H.P., and Preiss, J. (1993). Branching of amylose by the branching isoenzymes of maize endosperm. *Carbohydrate Res.* 240:252-263.
- Van der Krol *et al*, *Mol Gen. Genet.* 220, 204-212.

PATENTOVÉ NÁROKY

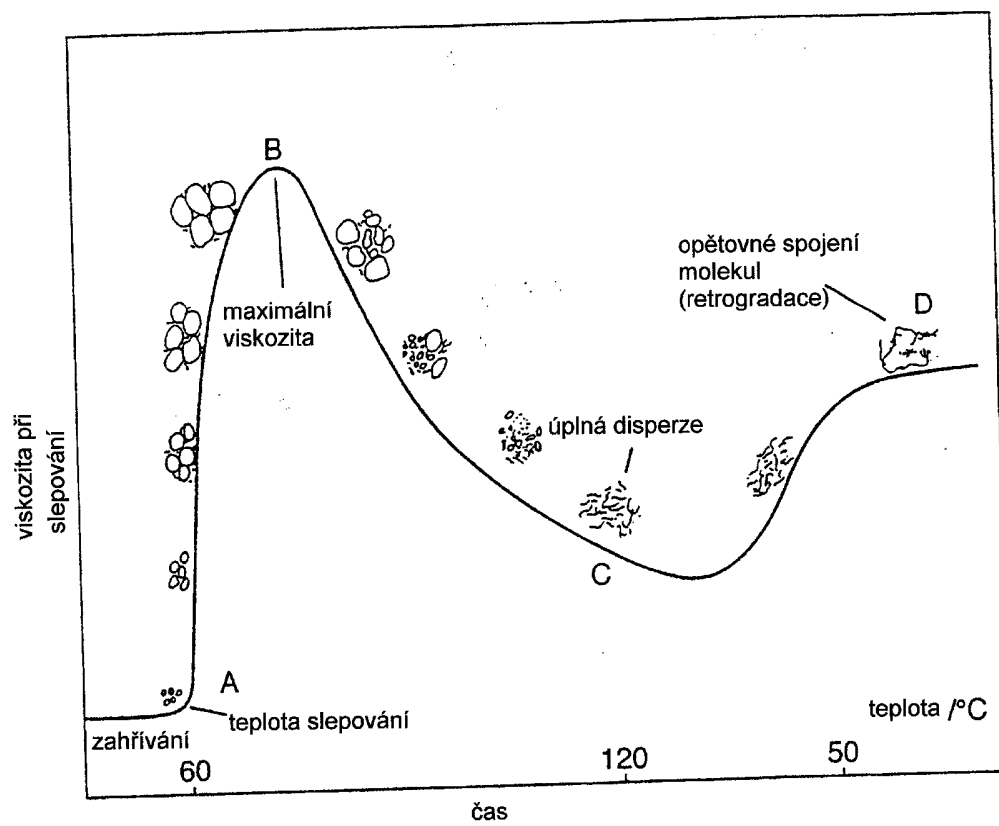
1. Nukleotidová sekvence kódující v podstatě aminokyselinovou sekvenci na obr. 10 (SEQ ID č.: 2) nebo funkční ekvivalent nukleotidové sekvence.
2. Nukleotidová sekvence obsahující v podstatě sekvenci B2 na obr. 3 (SEQ ID č.: 3) nebo její funkční ekvivalent.
3. Nukleotidová sekvence obsahující v podstatě sekvenci B4 na obr. 3 (SEQ ID č.: 4) nebo její funkční ekvivalent.
4. Nukleotidová sekvence obsahující v podstatě sekvenci B10 na obr. 3 (SEQ ID č.: 5) nebo její funkční ekvivalent.
5. Nukleotidová sekvence obsahující v podstatě sekvenci B1 na obr. 3 (SEQ ID č.: 6) nebo její funkční ekvivalent.
6. Nukleotidová sekvence obsahující v podstatě sekvenci B6 na obr. 4 (SEQ ID No: 7) nebo její funkční ekvivalent.
7. Část nukleotidové sekvence podle kteréhokoli nároku 1 až 6, obsahující alespoň 500 párů bází a s alespoň 90% sekvenční homologií s odpovídající částí sekvence, od které je odvozena.
8. Nukleotidová sekvence obsahující v podstatě sekvenci na obr. 5 (SEQ ID č.: 8), obr. 6 (SEQ ID č.: 9) nebo obr. 7 (SEQ ID č.: 10) nebo její funkční ekvivalent.
9. Konstrukt nukleové kyseliny obsahující nukleotidovou sekvenci podle kteréhokoli z nároků 1 až 8.
10. Konstrukt podle nároku 9, kde sekvence jsou funkčně spojeny v kódující nebo antimediatorové orientaci k promotorové sekvenci.
11. Expresní vektor obsahující konstrukt podle nároku 9 nebo 10.

12. Hostitelská buňka, do které byla zavedena sekvence, konstrukt nebo vektor podle kteréhokoli z nároků 1 až 11.
13. Aminokyselinová sekvence kódovaná nukleotidovou sekvencí podle kteréhokoli z nároků 1 až 8.
14. Způsob změny vlastností rostliny, vyznačující se tím, že se do rostliny zavede nukleotidová sekvence podle kteréhokoli z nároků 1 až 11, přičemž je funkčně spojena s vhodným promotorem aktivním v rostlině za účelem ovlivnění exprese genu přítomného v rostlině.
15. Způsob podle nároku 14, vyznačující se tím, že je sekvence připojena v antimediatorové orientaci k promotoru.
16. Způsob podle nároku 14 nebo 15, vyznačující se tím, že rostlinou je pšenice.
17. Způsob podle nároku 14, 15 nebo 16, vyznačující se tím, že se změněná charakteristika týká obsahu škrobu a/nebo složení škrobu v rostlině.
18. Rostlina nebo rostlinná buňka, s charakteristikou změněnou způsobem podle kteréhokoli z nároků 14 až 17 nebo jejich mladých rostlin nebo části této rostliny.
19. Rostlina nebo její buňka, mladá rostlina nebo její část podle nároku 18, kde rostlinou je pšenice.
20. Zásobní část rostliny podle nároku 18 nebo 19.
21. Rostlina nebo její buňka, mladá rostlina nebo její část podle nároků 18 až 20, obsahující škrob se zvýšenou želatinací a/nebo maximem teploty podle měření pomocí DCS ve srovnání se škrobem podobné, ale nezměněné rostliny.
22. Škrob získatelný nebo získaný z rostliny podle kteréhokoli z nároků 18 až 21.

23. Způsob tvorby změněného škrobu, zahrnující změněnou rostlinu způsobem podle kteréhokoli z nároků 14 až 17 a izolaci škrobu se změněnými vlastnostmi ve srovnání se škrobem vyizolovaným z podobné, ale nezměněné rostliny.
24. Použití škrobu podle nároku 22 v přípravě potravin, zejména pečiva.
25. Potravin, zejména pečivo, obsahující škrob podle nárokem 22.

11.06.01

PV 2001-453
43935



Obr. 1

Obr. 2(i)

44	0sbeII-1ALL SEQ ID No: 11	0 L A S P	V P O G E S D	0sbeII-1ALL	0 L A S P	V P O G E S D	0sbeII-1ALL	0 L A S P	V P O G E S D											
307	SRA	ASP GKVL	VP GGSD	0sbeII-2	ASP GKVL	VP GGSD	0sbeII-2	ASP GKVL	VP GGSD											
56	SCA	GAP GKVL	VP GGSD	ZMSBE2a	GAP GKVL	VP GGSD	ZMSBE2a	GAP GKVL	VP GGSD											
247	A			ZMSBE2b			ZMSBE2b													
2				ječmen			ječmen													
2				ječmen			ječmen													
323	VEA	ERGCGIRSGCAGEMAAPASAVPGSAAGLRAGAVRFPVPAGARS	WRAAELPTSR	RICBCE3	ERGCGIRSGCAGEMAAPASAVPGSAAGLRAGAVRFPVPAGARS	WRAAELPTSR	RICBCE3	ERGCGIRSGCAGEMAAPASAVPGSAAGLRAGAVRFPVPAGARS	WRAAELPTSR											
71	VEA	ERGCGIRSGCAGEMAAPASAVPGSAAGLRAGAVRFPVPAGARS	WRAAELPTSR	RICESBE-1/97	ERGCGIRSGCAGEMAAPASAVPGSAAGLRAGAVRFPVPAGARS	WRAAELPTSR	RICESBE-1/97	ERGCGIRSGCAGEMAAPASAVPGSAAGLRAGAVRFPVPAGARS	WRAAELPTSR											
415				PSSBEIGEN			PSSBEIGEN													
367	THA	PLEE		STSBE			STSBE													
220	THA	TAED		TASBEI			TASBEI													
1	SP	T LTS		TASBE1D2			TASBE1D2													
227	THA	TAKG		ZMSBEI			ZMSBEI													
212	THV	TVVE		RICBEI			RICBEI													
208	THP	SVEE		PSSBEIIGN			PSSBEIIGN													
44	0sbeII-1ALL			0sbeII-1ALL			0sbeII-1ALL													
373	A			0sbeII-2			0sbeII-2													
122	AEP	VDTQPEELQI		ZMSBE2a			ZMSBE2a													
250				ZMSBE2b			ZMSBE2b													
2				ječmen			ječmen													
2				ječmen			ječmen													
323				RICESBE-1/97			RICESBE-1/97													
251	SLL	SGRRFPGAVR	VGSGGRVAVRAAGASGEVMIPEGESDGM	PVSA	GSDDLQ	LPALDDEL	RICBCE3													
463	QLE	NPDITSEDAQN		PSSBEIGEN			PSSBEIGEN													
388				STSBE			STSBE													
241				TASBEI			TASBEI													
109				TASBE1D2			TASBE1D2													
248				ZMSBEI			ZMSBEI													
233				RICBEI			RICBEI													
229				PSSBEIIGN			PSSBEIIGN													
44	0sbeII-1ALL			0sbeII-1ALL			0sbeII-1ALL													
463	SSE	PTQ		0sbeII-2			0sbeII-2													
260	RPE	LSEVIGVGGTG	TKIDGAG	ZMSBE2a			ZMSBE2a													
346	EVP	DISEETTCGAG	VADALNRV	ZMSBE2b			ZMSBE2b													
2				ječmen			ječmen													
2				ječmen			ječmen													
431	STE	VGA	EEV	IES	SGAS	OV	EGV	KRV	VEELAAEQ	KPRV	VPPT	GDG	QKIF	QMD	SM	LN	GY	KY	HL	RICESBE-1/97
431	STE	VGA	EEV	IES	SGAS	OV	EGV	KRV	VEELAAEQ	KPRV	VPPT	GDG	QKIF	QMD	SM	LN	GY	KY	HL	RICESBE-1/97
601	S	SSL	VDV																	PSSBEIGEN
388																				STSBE
241																				TASBEI
220																				TASBE1D2
248																				ZMSBEI
233																				RICBEI
229																				PSSBEIIGN

110000

PV 2001-479
43935

1105.01
7V 2001-459
~~43935~~

1105.01
7V 2001-459
~~43935~~

Obr. 2(iii)

359	VLPRIK	R	LGYN	AVQI	MAIQ	EH	SVY	G	SFGY	HVTN	-	F	FAP	SSRF	G	PED	LK	SLID	R	AHE	LGL	dsbell-IALL	
1159	VLPRIK	R	LGYN	AVQI	MAIQ	EH	SVY	A	SFGY	HVTN	-	F	FAP	SSRF	G	PED	LK	SLID	R	AHE	LGL	pšenice SBELL-2	
1171	VLPRIK	K	LGYN	AVQI	MAIQ	EH	SVY	A	SFGY	HVTN	-	F	FAP	SSRF	G	PED	LK	SLID	R	AHE	LGL	ZMSBE2a	
1027	VLPRIK	K	LGYN	AVQI	MAIQ	EH	SVY	G	SFGY	HVTN	-	F	FAP	SSRF	G	PED	LK	SLID	R	AHE	LGL	ZMSBE2b	
1149																						ječmen SBELLa	
1149																						ječmen SBELLb	
1142	VLPRIK	K	LGYN	AVQI	MAIQ	EH	SVY	G	SFGY	HVTN	-	F	FAP	SSRF	G	PED	LK	SLID	R	AHE	LGL	RICBCE3	
1142	VLPRIK	K	LGYN	AVQI	MAIQ	EH	SVY	A	SFGY	HVTN	-	F	FAP	SSRF	G	PED	LK	SLID	R	AHE	LGL	RICESBE-1/97	
1297	VLPRIK	K	LGYN	AVQI	MAIQ	EH	SVY	A	SFGY	HVTN	-	F	FAP	SSRF	G	PED	LK	SLID	R	AHE	LGL	PSSBEIGEN	
994	VLPRIK	K	LGYN	AVQI	MAIQ	EH	SVY	G	SFGY	HVTN	-	F	FAP	SSRF	G	PED	LK	SLID	R	AHE	LGL	STSB	
841	VLPRIK	K	LGYN	AVQI	MAIQ	EH	SVY	A	SFGY	HVTN	-	F	FAP	SSRF	G	PED	LK	SLID	R	AHE	LGL	TASBEI	
865	VLPRIK	K	LGYN	AVQI	MAIQ	EH	SVY	A	SFGY	HVTN	-	F	FAP	SSRF	G	PED	LK	SLID	R	AHE	LGL	TASBE1D2	
845	VLPRIK	K	LGYN	AVQI	MAIQ	EH	SVY	A	SFGY	HVTN	-	F	FAP	SSRF	G	PED	LK	SLID	R	AHE	LGL	ZMSBEI	
813	VLPRIK	K	LGYN	AVQI	MAIQ	EH	SVY	A	SFGY	HVTN	-	F	FAP	SSRF	G	PED	LK	SLID	R	AHE	LGL	RICBEI	
829	VLPRIK	K	LGYN	AVQI	MAIQ	EH	SVY	A	SFGY	HVTN	-	F	FAP	SSRF	G	PED	LK	SLID	R	AHE	LGL	PSSBEIIGN	
536	VLMDD	VVHSH	ASNN	TL	DGL	NG	FD	-	-	-	-	G	TDI	HY	F	HG	G	S	R	G	H	dsbell-IALL	
1336	VLMDD	VVHSH	ASNN	TL	DGL	NG	FD	-	-	-	-	G	TDI	HY	F	HG	G	S	R	G	H	pšenice SBELL-2	
1148	VLMDD	VVHSH	ASNN	TL	DGL	NG	FD	-	-	-	-	G	TDI	HY	F	HG	G	S	R	G	H	ZMSBE2a	
1204	VLMDD	VVHSH	ASNN	TL	DGL	NG	FD	-	-	-	-	G	TDI	HY	F	HG	G	S	R	G	H	ZMSBE2b	
149																						ječmen SBELLa	
149																						ječmen SBELLb	
1319	VLMDD	VVHSH	ASNN	TL	DGL	NG	FD	-	-	-	-	G	TDI	HY	F	HG	G	S	R	G	H	RICBCE3	
1319	VLMDD	VVHSH	ASNN	TL	DGL	NG	FD	-	-	-	-	G	TDI	HY	F	HG	G	S	R	G	H	RICESBE-1/97	
1474	VLMDD	VVHSH	ASNN	TL	DGL	NG	FD	-	-	-	-	G	TDI	HY	F	HG	G	S	R	G	H	PSSBEIGEN	
1171	VLMDD	VVHSH	ASNN	TL	DGL	NG	FD	-	-	-	-	G	TDI	HY	F	HG	G	S	R	G	H	STSB	
1018	VLMDD	VVHSH	ASNN	TL	DGL	NG	FD	-	-	-	-	G	TDI	HY	F	HG	G	S	R	G	H	TASBEI	
1042	VLMDD	VVHSH	ASNN	TL	DGL	NG	FD	-	-	-	-	G	TDI	HY	F	HG	G	S	R	G	H	TASBE1D2	
1022	VLMDD	VVHSH	ASNN	TL	DGL	NG	FD	-	-	-	-	G	TDI	HY	F	HG	G	S	R	G	H	ZMSBEI	
1010	VLMDD	VVHSH	ASNN	TL	DGL	NG	FD	-	-	-	-	G	TDI	HY	F	HG	G	S	R	G	H	RICBEI	
1009	VLMDD	VVHSH	ASNN	TL	DGL	NG	FD	-	-	-	-	G	TDI	HY	F	HG	G	S	R	G	H	PSSBEIIGN	
707	LSNAR	WML	EEYK	FDG	FR	FDG	FR	FDG	FR	FDG	FR	FT	G	NY	S	EY	F	G	F	A	T	D	dsbell-IALL
1507	LSNAR	WML	EEYK	FDG	FR	FDG	FR	FDG	FR	FDG	FR	FT	G	NY	S	EY	F	G	F	A	T	D	pšenice SBELL-2
1319	LSNAR	WML	EEYK	FDG	FR	FDG	FR	FDG	FR	FDG	FR	FT	G	NY	S	EY	F	G	F	A	T	D	ZMSBE2a
1175	LSNAR	WML	EEYK	FDG	FR	FDG	FR	FDG	FR	FDG	FR	FT	G	NY	S	EY	F	G	F	A	T	D	ZMSBE2b
149																						ječmen SBELLa	
149																						ječmen SBELLb	
1490	LSNAR	WML	EEYK	FDG	FR	FDG	FR	FDG	FR	FDG	FR	FT	G	NY	S	EY	F	G	F	A	T	D	RICBCE3
1490	LSNAR	WML	EEYK	FDG	FR	FDG	FR	FDG	FR	FDG	FR	FT	G	NY	S	EY	F	G	F	A	T	D	RICESBE-1/97
1645	LSNAR	WML	EEYK	FDG	FR	FDG	FR	FDG	FR	FDG	FR	FT	G	NY	S	EY	F	G	F	A	T	D	PSSBEIGEN
1351	LSNAR	WML	EEYK	FDG	FR	FDG	FR	FDG	FR	FDG	FR	FT	G	NY	S	EY	F	G	F	A	T	D	STSB
1198	LSNAR	WML	EEYK	FDG	FR	FDG	FR	FDG	FR	FDG	FR	FT	G	NY	S	EY	F	G	F	A	T	D	TASBEI
1222	LSNAR	WML	EEYK	FDG	FR	FDG	FR	FDG	FR	FDG	FR	FT	G	NY	S	EY	F	G	F	A	T	D	TASBE1D2
1202	LSNAR	WML	EEYK	FDG	FR	FDG	FR	FDG	FR	FDG	FR	FT	G	NY	S	EY	F	G	F	A	T	D	ZMSBEI
1190	LSNAR	WML	EEYK	FDG	FR	FDG	FR	FDG	FR	FDG	FR	FT	G	NY	S	EY	F	G	F	A	T	D	RICBEI
1186	LSNAR	WML	EEYK	FDG	FR	FDG	FR	FDG	FR	FDG	FR	FT	G	NY	S	EY	F	G	F	A	T	D	PSSBEIIGN

110801
 7V 2001-459
 4393J

11.08.01

PV 2001-459
43935

Obr.2(iv)

359	VLPRIK	ALGYNAVQI	MAIQEH	SYVGS	FGYHV	VTN	-	FFAPSSRR	FGSPED	LKSL	IDRAH	ELGL	OsbeII-IALL								
1159	VLPRIK	ALGYNAVQI	MAIQEH	SYVGS	FGYHV	VTN	-	FFAPSSRR	FGSPED	LKSL	IDRAH	ELGL	OsbeII-IALL								
971	VLPRIK	ALGYNAVQI	MAIQEH	SYVGS	FGYHV	VTN	-	FFAPSSRR	FGSPED	LKSL	IDRAH	ELGL	OsbeII-IALL								
1027	VLPRIK	ALGYNAVQI	MAIQEH	SYVGS	FGYHV	VTN	-	FFAPSSRR	FGSPED	LKSL	IDRAH	ELGL	OsbeII-IALL								
149	VLPRIK	ALGYNAVQI	MAIQEH	SYVGS	FGYHV	VTN	-	FFAPSSRR	FGSPED	LKSL	IDRAH	ELGL	OsbeII-IALL								
149	VLPRIK	ALGYNAVQI	MAIQEH	SYVGS	FGYHV	VTN	-	FFAPSSRR	FGSPED	LKSL	IDRAH	ELGL	OsbeII-IALL								
1142	VLPRIK	ALGYNAVQI	MAIQEH	SYVGS	FGYHV	VTN	-	FFAPSSRR	FGSPED	LKSL	IDRAH	ELGL	OsbeII-IALL								
1142	VLPRIK	ALGYNAVQI	MAIQEH	SYVGS	FGYHV	VTN	-	FFAPSSRR	FGSPED	LKSL	IDRAH	ELGL	OsbeII-IALL								
1297	VLPRIK	ALGYNAVQI	MAIQEH	SYVGS	FGYHV	VTN	-	FFAPSSRR	FGSPED	LKSL	IDRAH	ELGL	OsbeII-IALL								
994	VLPRIK	ALGYNAVQI	MAIQEH	SYVGS	FGYHV	VTN	-	FFAPSSRR	FGSPED	LKSL	IDRAH	ELGL	OsbeII-IALL								
841	VLPRIK	ALGYNAVQI	MAIQEH	SYVGS	FGYHV	VTN	-	FFAPSSRR	FGSPED	LKSL	IDRAH	ELGL	OsbeII-IALL								
865	VLPRIK	ALGYNAVQI	MAIQEH	SYVGS	FGYHV	VTN	-	FFAPSSRR	FGSPED	LKSL	IDRAH	ELGL	OsbeII-IALL								
845	VLPRIK	ALGYNAVQI	MAIQEH	SYVGS	FGYHV	VTN	-	FFAPSSRR	FGSPED	LKSL	IDRAH	ELGL	OsbeII-IALL								
833	VLPRIK	ALGYNAVQI	MAIQEH	SYVGS	FGYHV	VTN	-	FFAPSSRR	FGSPED	LKSL	IDRAH	ELGL	OsbeII-IALL								
829	VLPRIK	ALGYNAVQI	MAIQEH	SYVGS	FGYHV	VTN	-	FFAPSSRR	FGSPED	LKSL	IDRAH	ELGL	OsbeII-IALL								
536	VLMQV	VHSHAS	NNTLD	GLNG	FD	-	-	GTDTYF	HGSG	RCH	HMND	SRVFN	YGNKEV	IRFL	OsbeII-IALL						
1336	VLMQV	VHSHAS	NNTLD	GLNG	FD	-	-	GTDTYF	HGSG	RCH	HMND	SRVFN	YGNKEV	IRFL	OsbeII-IALL						
1148	VLMQV	VHSHAS	NNTLD	GLNG	FD	-	-	GTDTYF	HGSG	RCH	HMND	SRVFN	YGNKEV	IRFL	OsbeII-IALL						
1204	VLMQV	VHSHAS	NNTLD	GLNG	FD	-	-	GTDTYF	HGSG	RCH	HMND	SRVFN	YGNKEV	IRFL	OsbeII-IALL						
149	VLMQV	VHSHAS	NNTLD	GLNG	FD	-	-	GTDTYF	HGSG	RCH	HMND	SRVFN	YGNKEV	IRFL	OsbeII-IALL						
149	VLMQV	VHSHAS	NNTLD	GLNG	FD	-	-	GTDTYF	HGSG	RCH	HMND	SRVFN	YGNKEV	IRFL	OsbeII-IALL						
1319	VLMQV	VHSHAS	NNTLD	GLNG	FD	-	-	GTDTYF	HGSG	RCH	HMND	SRVFN	YGNKEV	IRFL	OsbeII-IALL						
1319	VLMQV	VHSHAS	NNTLD	GLNG	FD	-	-	GTDTYF	HGSG	RCH	HMND	SRVFN	YGNKEV	IRFL	OsbeII-IALL						
1474	VLMQV	VHSHAS	NNTLD	GLNG	FD	-	-	GTDTYF	HGSG	RCH	HMND	SRVFN	YGNKEV	IRFL	OsbeII-IALL						
1171	VLMQV	VHSHAS	NNTLD	GLNG	FD	-	-	GTDTYF	HGSG	RCH	HMND	SRVFN	YGNKEV	IRFL	OsbeII-IALL						
1018	VLMQV	VHSHAS	NNTLD	GLNG	FD	-	-	GTDTYF	HGSG	RCH	HMND	SRVFN	YGNKEV	IRFL	OsbeII-IALL						
1042	VLMQV	VHSHAS	NNTLD	GLNG	FD	-	-	GTDTYF	HGSG	RCH	HMND	SRVFN	YGNKEV	IRFL	OsbeII-IALL						
1022	VLMQV	VHSHAS	NNTLD	GLNG	FD	-	-	GTDTYF	HGSG	RCH	HMND	SRVFN	YGNKEV	IRFL	OsbeII-IALL						
1010	VLMQV	VHSHAS	NNTLD	GLNG	FD	-	-	GTDTYF	HGSG	RCH	HMND	SRVFN	YGNKEV	IRFL	OsbeII-IALL						
1009	VLMQV	VHSHAS	NNTLD	GLNG	FD	-	-	GTDTYF	HGSG	RCH	HMND	SRVFN	YGNKEV	IRFL	OsbeII-IALL						
707	LSNAR	WLEEK	FDGFR	FDG	GA	TS	MMY	THHGL	QVTF	FT	GSY	HE	YFG	FATD	VD	DAV	VY	L	M	MND	OsbeII-IALL
1507	LSNAR	WLEEK	FDGFR	FDG	GA	TS	MMY	THHGL	QVTF	FT	GSY	HE	YFG	FATD	VD	DAV	VY	L	M	MND	OsbeII-IALL
1319	LSNAR	WLEEK	FDGFR	FDG	GA	TS	MMY	THHGL	QVTF	FT	GSY	HE	YFG	FATD	VD	DAV	VY	L	M	MND	OsbeII-IALL
1375	LSNAR	WLEEK	FDGFR	FDG	GA	TS	MMY	THHGL	QVTF	FT	GSY	HE	YFG	FATD	VD	DAV	VY	L	M	MND	OsbeII-IALL
149	LSNAR	WLEEK	FDGFR	FDG	GA	TS	MMY	THHGL	QVTF	FT	GSY	HE	YFG	FATD	VD	DAV	VY	L	M	MND	OsbeII-IALL
149	LSNAR	WLEEK	FDGFR	FDG	GA	TS	MMY	THHGL	QVTF	FT	GSY	HE	YFG	FATD	VD	DAV	VY	L	M	MND	OsbeII-IALL
1490	LSNAR	WLEEK	FDGFR	FDG	GA	TS	MMY	THHGL	QVTF	FT	GSY	HE	YFG	FATD	VD	DAV	VY	L	M	MND	OsbeII-IALL
1490	LSNAR	WLEEK	FDGFR	FDG	GA	TS	MMY	THHGL	QVTF	FT	GSY	HE	YFG	FATD	VD	DAV	VY	L	M	MND	OsbeII-IALL
1045	LSNAR	WLEEK	FDGFR	FDG	GA	TS	MMY	THHGL	QVTF	FT	GSY	HE	YFG	FATD	VD	DAV	VY	L	M	MND	OsbeII-IALL
1351	LSNAR	WLEEK	FDGFR	FDG	GA	TS	MMY	THHGL	QVTF	FT	GSY	HE	YFG	FATD	VD	DAV	VY	L	M	MND	OsbeII-IALL
1198	LSNAR	WLEEK	FDGFR	FDG	GA	TS	MMY	THHGL	QVTF	FT	GSY	HE	YFG	FATD	VD	DAV	VY	L	M	MND	OsbeII-IALL
1222	LSNAR	WLEEK	FDGFR	FDG	GA	TS	MMY	THHGL	QVTF	FT	GSY	HE	YFG	FATD	VD	DAV	VY	L	M	MND	OsbeII-IALL
1202	LSNAR	WLEEK	FDGFR	FDG	GA	TS	MMY	THHGL	QVTF	FT	GSY	HE	YFG	FATD	VD	DAV	VY	L	M	MND	OsbeII-IALL
1190	LSNAR	WLEEK	FDGFR	FDG	GA	TS	MMY	THHGL	QVTF	FT	GSY	HE	YFG	FATD	VD	DAV	VY	L	M	MND	OsbeII-IALL
1186	LSNAR	WLEEK	FDGFR	FDG	GA	TS	MMY	THHGL	QVTF	FT	GSY	HE	YFG	FATD	VD	DAV	VY	L	M	MND	OsbeII-IALL

~~43935~~

Obr. 2(v)

Obr. 2(vi)

1949	T - T	CALCSQIPRALWRKNAHL	CYFMDQGRNLPQKPLFFL	- KGG	APGICI	- WMPP	. I	UsbeII-1ALL										
2617								pšeniče SBEII-2										
2435								ZMSBE2a										
2488								ZMSBE2b										
149								ječmen SBEIIa										
149								ječmen SBEIIb										
2585								RICBCE3										
2723								RICESBE-1/97										
2875								PSSBEIGEN										
2452								STSB										
2269								TASBEI										
2122								TASBEID2										
2273								ZMSBEI										
2261								RICBEI										
2260								PSSBEIIGN										
2117	FV	- A	INH	- C	CPI	N	QFRI	EVIL	- LYFIF	- DS	TVFLK	- S	- TCC	LEDEK	NQRLK	KKK	KK	UsbeII-1ALL
2617																		pšeniče SBEII-2
2435																		ZMSBE2a
2488																		ZMSBE2b
149																		ječmen SBEIIa
149																		ječmen SBEIIb
2597																		RICBCE3
2846																		RICESBE-1/97
2962																		PSSBEIGEN
2578																		STSB
2356																		TASBEI
2173																		TASBEID2
2360																		ZMSBEI
2348																		RICBEI
2347																		PSSBEIIGN
2282																		UsbeII-1ALL
2620																		pšeniče SBEII-2
2444																		ZMSBE2a
2488																		ZMSBE2b
149																		ječmen SBEIIa
149																		ječmen SBEIIb
2603																		RICBCE3
2918																		RICESBE-1/97
2986																		PSSBEIGEN
2704																		STSB
2503																		TASBEI
2212																		TASBEID2
2483																		ZMSBEI
2480																		RICBEI
2494																		PSSBEIIGN

110501

PV 2001-419
43935

Obr. 2A **procenta podobnosti**

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
1		67,9	68,8	71,4	85,7	81,6	71,4	72,5	66,8	46,6	45,4	30,4	45,5	45,5	44,4	1
2	14,9		84,3	80,6	85,7	100,0	79,2	78,1	77,6	48,5	49,9	36,7	50,0	49,9	48,0	2
3	13,9	14,6		81,0	87,8	93,9	81,7	78,1	75,9	47,1	49,5	37,5	49,9	49,7	48,1	3
4	10,5	22,2	21,3		85,7	79,6	86,1	86,1	75,9	49,4	50,9	36,5	50,5	50,6	49,0	4
5	11,5	15,9	13,4	15,9		85,7	85,7	85,7	85,7	32,7	26,5	30,6	30,6	28,6	36,7	5
6	16,6	0,0	6,4	23,9	15,9		79,6	79,6	87,8	36,7	32,7	32,7	32,7	28,6	42,9	6
7	10,3	23,5	22,7	14,3	15,9	23,9		100,0	75,8	50,0	50,5	37,5	51,2	50,7	49,1	7
8	20,8	26,3	26,0	14,3	15,9	23,9	0,1		67,9	49,9	51,0	37,9	51,9	51,3	49,5	8
9	29,3	24,5	26,6	27,4	15,9	13,4	28,7	39,5		47,9	49,1	37,2	50,0	50,0	48,1	9
10	66,2	57,7	60,3	58,1	91,7	79,9	56,0	65,5	67,4		68,3	49,0	71,1	70,0	72,6	10
11	68,4	58,6	59,3	58,2	121,4	98,3	57,1	66,1	67,5	38,2		58,7	82,6	83,3	67,9	11
12	88,4	88,7	89,9	84,9	118,1	95,3	85,1	93,8	96,7	58,8	38,0		57,2	58,5	46,7	12
13	66,6	60,0	61,1	59,6	127,2	102,3	57,8	65,7	67,9	33,8	19,1	41,1		85,2	71,4	13
14	67,8	59,8	60,9	59,2	105,4	105,4	58,0	67,7	67,2	36,4	16,6	38,2	14,9		70,1	14
15	65,7	60,0	61,1	59,3	79,9	64,6	57,2	66,6	68,5	28,8	38,9	61,0	33,1	34,9		15
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	

procento odlišnosti

sbell-1AL
pšenice SB
ZMSBE2a
ZMSBE2b
ječmen SB
ječmen SB
RICBCE3
RICESBE
PSSBEIG
STSBE
TASBEI
TASBEI
ZMSBEI
RICBEI
PSSBEI

TV 2001-85
43935

11-05-01

SEQ ID No:53

ATATGTA	30
GATTTCA	40
GGCCTCT	50

A T A T G T A T G A T T T C A T G G C C A T G G G T T T A G G

majority

150
140
130

majorita

	150	170	180	190	200
G G A T A G A T T T T C C A A G A G G C C C A C A A G T T C C A C C					
149 G G A T A G A C T T T C C A A G A G G C C C A A G T A C T T C C A A G T G G T A A G T T C A T C B2.seq					
149 G G A T A G A C T T T C C A A G A G G C C C A C A A G T A C T T C C A A C T G G T A A G T T C A T C B4.seq					
149 G G A T A G A C T T T C C A A G A G G C C C A C A A G T A C T T C C A A G T G G T A A G T T C A T C B10.seq					
149 G G A T A G A C T T T C C A A G A G G T C C G C A A A C T T T C C A A C C G G C A A A G T T C T C A Z.seq					
151 G G A T A G A T T T T C C A A G A G G C C C A C A A C T T T C C A A C C G G C A A A G T T C T C B1.seq					
151 G G A T A G A T T T T C C A A G A G G T C C G C A A A C T T T C C A A C C G G C A A A G T T C T C B11.seq					
151 G G A T A G A T T T T C C A A G A G G T C C G C A A A C T T T C C A A C C G G C A A A G T T C T C					

110501
PR 2001-459 43935

majorita	
200	T G A T G C A G A T T T T C T T A G G T A T C G T G G T A T G C A G G A G T T T G A T C A G G C A A

TGCCAGCATCTTGAGGAAAATAATGGGGTTTATGACATCTGAGCACCAAGTAT

GTTTCTCGGAAACATGAGGAAGATAAGGTGATCGTGTGTTGAAAGAGGGGA majorita 400

	360	370	380	390	400
349	G T A T C T C G G A A A C A C	G A G G A A G A T A A G G T G A T	C G T G T T T G A A A	A A G G G A	B2. seq
349	G T A T C T C G G A A A C A T	G A G G A A G A T A A G G T G A T	C G T G T T T G A A A	A A G G G A	B4. seq
349	G T T T C T C G G A A A C A T	G A G G A A G A T A A G G T G A T	C G T G T T T G A A A	A A G G G A	B10. seq
351	G T T T C A C G G A A A C A T	G A G G A A G A T A A G G T G A T	C T T C A T T C G A A A G A	G A G A	A2. seq
351	G T T T C A C G G A A A C A T	G A G G A A G A T A A G G T G A T	C T T C A T T C G A A A G A	G A G A	B1. seq
351	G T T T C A C G G A A A C A T	G A G G A A G A T A A G G T G A T	C T T C A T T C G A A A G A	G A G A	B11. seq

11.05.01
PV 2001-479
~~439BJ~~

	majority	450	440	430	420	410	majority
399	Y T G G T A T T T G T T T T C A A C T Y C C A C T G G A G T A A T A G C T T T T T G A C T A C C						
399	C T T G G T A T T T G T G T T C A A C T Y C C A C T G G A G T A A T A G C T T T T T G A C T A C C						
399	C T T G G T A T T T G T G T T C A A C T Y C C A C T G G A G T A A T A G C T T T T T G A C T A C C						
401	C T T G G T A T T T G T G T T C A A C T Y C C A C T G G A G T A A T A G C T T T T T G A C T A C C						
401	Y T T G G T A T T T G T T T T C A A C T Y C C A C T G G A G T A A T A G C T T T T T G A C T A C C						
401	Y T T G G T A T T T G T T T T C A A C T Y C C A C T G G A G T A A T A G C T T T T T G A C T A C C						
449	G T G T T G G G T G T T T C A A G C C T G G G A A G T A C A A G G T G G T C T T A G A C T C C G A C						
449	G G T T G G G C T G T T T T A A A G C C T G G G A A G T A C A A G G T G G T C T T A G A C T C C A G A C						
449	G G T T G G G C T G T T T T A A A G C C T G G G A A G T A C A A G G T G G T C T T A G A C T C C G A C						
451	G T G T T G G G T G T T T C A A G C C T G G G A A G T A C A A G G T G G T C T T A G A C T C C G A C						
451	G T G T T G G G T G T T T C A A G C C T G G G A A G T A C A A G G T G G T C T T A G A C T C C G A C						
451	G T G T T G G G T G T T T C A A G C C T G G G A A G T A C A A G G T G G T C T T A G A C T C C G A C						
499	G C T G G A C T C T T T G G T G G A T T T G G T A G G C T T T G A T C A T G C T G T C G A G T A C T T						
499	G C T G G A C T C T T T G G T G G A T T T G G T A G G C T T T G A T C A T G C T G T C G A G T A C T T						
499	G C T G G A C T C T T T G G T G G A T T T G G T A G G C T T T G A T C A T G C T G T C G A G T A C T T						
501	G A T G C A C T C T T T G G T G G A T T C A G C A G G C T T G A T C A T G A T C A T G A T C A T T						
501	G A T G C A C T C T T T G G T G G A T T C A G C A G G C T T G A T C A T G A T C A T G A T C A T T						
501	G A T G C A C T C T T T G G T G G A T T C A G C A G G C T T G A T C A T G A T C A T G A T C A T T						
549	C A C T T C T G A C T G T C C G C A T G A C A A C A G G C C C G C A T T C T T C T C G G T G T A C A						
549	C A C T T C T G A C T G T C C A A C A T G A C A A C A G G C C C C A T T C C G T T C T C A G T A C A						
549	C A C T T C T G A C T G T C C A A C A T G A C A A C A G G C C C C A T T C C G T T C T C A G T A C A						
551	C A C A C C G A A C A T C C G C A T G A C A A C A G G C C C G C A T T C T T C T C G G T G T A C A						
551	C A C A C C G A A C A T C C G C A T G A C A A C A G G C C C G C A T T C T T C T C G G T G T A C A						
551	C A C A C C G A A C A T C C G C A T G A C A A C A G G C C C G C A T T C T T C T T G G T G T A C A						

11.06.01
PV 2001 - 453
~~43935~~

	660	670	680	690	700	majorita
	T G C A G C A T A C G C - T G C - C G C T G T T G T T G C T A G - - - T A G C A A G G A G A G A T C					
648	T G C A G C A T A C G C G	T G C C T G T T G T T G T T G C T A G - - - T A G C A A G A A A - A - T C				B2. seq
649	T G C A G C A T A C G C A T	T G C C A C G C T G T T G C T A G C A C T A G C A A A A A T C				B4. seq
648	T G C A G C A T A C G C G	T G C C T G T T G T T G T T G C T A G - - - T A G C A A G A A A - A - T C				B10. seq
648	- G C A G C T - - - - - G C - - - - -	T T G T T T C A A G - - - G C A A A G A G A G A - A2. seq				
648	- G C A G C G - - - - - G C - - - - -	T T G T T T A C A A G - - - G C A A A G A G A G A - B1. seq				
648	- G C A G C G - - - - - G C - - - - -	T T G T T T A C A A G - - - G C A A A G A G A G A - B11. seq				

	710	720	730	740	750	majorita
GTA - GGTCACTACA - CCAGGTCACAGGTTTGATATGGATTTTT - GCTTGA						
694	GTA C GGTCA ATACA G	CCAGGTCACA	AGGTTTATA	GGATTAT	TTTTC	82. seq
699	GTA TGGTCA ATACA	CCAGGTCACA	AGGTTTATA	GGATTAT	TTTTC	84. seq
694	GTA TGGTCA ATACA	CCAGGTCACA	AGGTTTATA	GGATTAT	TTTTC	B10. seq
677	- - - - A CT - - - - C CAG - - - - A GAG CT C G	- - - - C CAG - - - - A GAG CT C G	- - - - C CAG CT C G	- - - - T G GAT - - - -	- - - - C G T G A	A2. seq
677	- - - - A CT - - - - C CAG - - - - A GAG CT C G	- - - - C CAG - - - - A GAG CT C G	- - - - C CAG CT C G	- - - - T G GAT - - - -	- - - - C G T G A	B1. seq
677	- - - - A CT - - - - C CAG - - - - A GAG CT C G	- - - - C CAG - - - - A GAG CT C G	- - - - C CAG CT C G	- - - - T G GAT - - - -	- - - - T G T G A	B11. seq

[illegible]

11.06.01
PV 2001-459
~~43935~~

11.06.01
PV 2001-459
~~43935~~

Obr. 3A

11.06.01
PV 2001-459
43935

pocenta podobnosti

	1	2	3	4	5	6		
1		91,0	94,4	59,0	60,0	59,5	1	B2.seq
2	4,5		89,2	58,8	59,9	59,6	2	B4.seq
3	2,4	4,6		59,3	59,6	59,8	3	B10.seq
4	32,6	32,3	34,3		95,5	95,7	4	A2.seq
5	30,5	29,7	32,0	2,1		96,8	5	B1.seq
6	31,6	30,9	32,6	2,4	2,7		6	B11.seq
	1	2	3	4	5	6		

Obr. 4A

pocenta podobnosti

	1	2	3	4		
1		88,7	81,7	85,0	1	Maizellb.pro
2	10,8		82,2	82,6	2	B6.pro
3	17,9	17,5		86,9	3	B11.pro
4	14,6	17,0	12,7		4	Maizella.pro
	1	2	3	4		

11.06.01

2V 2001-459

43935

1 MYDFMALDRPSTPTIDRGIALHKMIRLITM MaizeIIb.pro SEQ ID No: 30
 1 MYDFMAL**NG**PSTP**N**IDRGIALHKMIRLITM B6.pro SEQ ID No: 7
 1 MYDFMALDRPSTP**R**IDRGIALHKMIRL**V**TM B11.pro SEQ ID No: 28
 1 MYDFMALDRPSTP**R**IDRGIALHKMIRL**V**TM MaizeIIa.pro SEQ ID No: 29

31 GLGGEGYLNFMGNEFGHP EWIDFPRGPQRL MaizeIIb.pro
 31 GLGGEGYLNFMGNEFGHP EWIDFPRGPQ**V**L B6.pro
 31 GLGGEGYLNFMGNEFGHP EWIDFPRGPQ**T**L B11.pro
 31 GLGGEGYLNFMGNEFGHP EWIDFPRGPQ**S**L MaizeIIa.pro

61 PSGKFIPGNNNSYDKCRRRFDLGDADYLR Y MaizeIIb.pro
 61 PSGKFIPGN**S**NSYDKCRRRFDLGD**A**EF LRY B6.pro
 61 P**T**GK**V**LPGNNNSYDKCRRRFDLGDAD**F**LRY B11.pro
 61 P**NGSV**IPGNNNS**F**DKCRRRFDLGDADYLR Y MaizeIIa.pro

91 HGMQEFDDQAMQHLEQKYEFMTSDHQYISRK MaizeIIb.pro
 91 HGMQ**Q**FDQAMQHLE**E**KY**G**FMTSDHQY**V**SRK B6.pro
 91 **R**GMQEFDDQAMQHLE**E**KY**G**FMTS**E**HQY**V**SRK B11.pro
 91 **R**GMQEFDDQAMQHLE**G**KYEFMTSDH**S**Y**F**SRK MaizeIIa.pro

121 HEEDKVI VFEKGDLVVFVFNFH C NNSYFDYR MaizeIIb.pro
 121 HEEDKVI VFEKGDLVVFVFNFH **W**S NNSYFDYR B6.pro
 121 HEEDKVI **I**FE**R**GDLVVFVFNFH **W**S NNS**F**FDYR B11.pro
 121 HEEDKVI **I**FE**R**GDLVVFVFNFH **W**S NNSYFDYR MaizeIIa.pro

151 IGC RKPGVYKVVLDS DAGLFGGFSRIHHA A MaizeIIb.pro
 151 **V**GC**L**KPG**K**YKVVLDS DAGLFGG**F****G**RIH**H**T**A** B6.pro
 151 **V**GC**S**KPG**K**YKV**A**LDS**D****D**ALFGGFSR**L**D**H****E****V** B11.pro
 151 **V**GC**F**KPG**K**YK**I**VLDS**D****D**GLFGGFSR**L**D**H****D****A** MaizeIIa.pro

181 EHFTADC SHDNRPYSFSVYTPSRTC VVYAP MaizeIIb.pro
 181 EHFT**S**DC**Q**H DNRP**H**SFSVYTPSRTC VVYAP B6.pro
 181 **D**YFT**T**EH**P**H DNRP**R**S**F****L**VYTPSRT**A**VVY**A****L** B11.pro
 191 **E**YFT**A**D**W****P**H DNRP**C**SFSVY**A**PSRT**A**VVYAP MaizeIIa.pro

211 V - - - **E** . MaizeIIb.pro
 211 M - - - **N** . B6.pro
 211 T - - - **E** . B11.pro
 211 AGAEDE MaizeIIa.pro

černě jsou zvýrazněni zbytky, které se liší od MaizeIIb.pro.

Obr. 4

110801

PV 2001-458

43935

Obr. 5

10	20	30	40	50	60
ACTAACAGCA	AGGTGCAGCA	TACGCGTGG	CCGCTGTGTT	GCTAGTAGCA	AGAAAATCG 60
TACGGICAAT	ACAGCCAGGT	GCAAGGTTTA	ATAAGGATTT	TTTGCTTCAA	CGAGTCCTCG 120
ATAGACAAGA	CAACATGATG	TTGTGGCGTG	TGCTCCCAAT	CCCCAGGCG	TTGTGAAGAA 180
AACATGCTCA	TCTGTGTTAT	GATTTTATGG	ATCAGCGACG	AAACTTCCCC	CAATATACCCA 240
TGCCCTCTTA	AATCTTTTGG	GCCGTAAACC	ATTCCTAGTG	TCCCTCTAAAT	TGACAGTTTA 300
310	320	330	340	350	360
GCATAGAGGT	TTTACTTTTG	TATCTTCTTT	TTGACAGTTA	GACTTTATTC	CTCAATAAT 360
CGACCAGTCG	TTTACTTCG	378	(SEQ ID No : 8)		

10 20 30 40 50 60

AACTAACAGC AAAGTCCAGC ATACGGGTCG GCGCTGTIGT TGCTAGTAGC AAGAAAAATC 60

GTATGGTCAA TACAACCAGG TCCAAGGTTT AATAAGGATT TTIGCTTCAA CGAGTCTGG 120

ATAGACAAGA CAACATGATG TTGTGCTGTG TGTCCCAAT CCCAGGGXG TTGTGAAGAA 180

AACATGCTCA TCTGTGTTAT TTTATGGATC AGGAXGAAA CCTCCCCAA AXACCCCTTT 240

TTTTTTTIGAA AGXGGATAG GCCCCCGGTX TCTGCATXIG GATGCCCTCCT TAAATXTTIG 300

310 320 330 340 350 360

TAGCCATAAA CCATTGCTAG TGTCTXTTAA ATTGACAGTT TAGAATAGXG GTTGTACTTT 360

TGTATTTTXXT TTTTIGACAGT TAGACTGTAT TCCTCAAATA ATGCACATGT TGTTTACTCG 420

AAGXTIGAGAA ATAAAATCAG AGATTGXAG 449 (SEQ ID NO : 9)

11.05.01
PV 2001-4579
43930

110901

7V 2001-459

43935

Obr. 7

10 20 30 40 50 60
ACTAAACAGC AAAGTGCAGC ATACGCATGC ACGCTGTGT TGCCTAGCACT AGCAAGAAA 60
AATCGTATGG TCAATACAAAC CAGGTGCAAG GTTTAATAAG GGTTTTGTCT TCAACGAGTC 120
CTGGATPAGAC AAGACAACAT GATGATGICC TCTGTGCTCC CAAATTCCCA GGGCGTTGXXG 180
XGGAAAACAT GCTCATCIGT GTTATCATTT TATGGATCAG XGXGGAACCC TCCCCCAAAT 240
ACCCATGCCT CCTTAAACTT TTGTGCTCCT AAACCATGCC TACTATCCTC TAAATTGGCA 300
310 320 330 340 350 360
GTTTAGCATA GAGGTTTAC TTTTGTAAAT TTTTGTGAC AGTTAATAGA CTCTATTCTT 360
CAAATAATTG ACATGTCTCT TACAAGAAGA TGAGAAATTA AATCAGGGAT TGAAGAATCC 420
CAAAGCT 428 (SEQ ID No : 10)

Obr. 8(i)

1 A A C T A A C A G C A A A A G T G C A G C A T A C G C G T G C B10-3'.seq SEQ ID No: 9
1 A - C T A A C A G C A A A G G T G C C A G C A T A C G C G T G C B2-3'.seq SEQ ID No: 8
1 A C T A A A C A G C A A A A G T G C C A G C A T A C G C A T G C B4-3'.seq SEQ ID No: 10
1 - - - - - T A G C G G G G T A C - - - - - ZMSBE2b-3'.seq SEQ ID No: 31
31 G C G C T G T T G T T G C T A G - - - T A G C A A G A A A A B10-3'.seq
30 G C G C T G T T G T T G C T A G - - - T A G C A A G A A A A B2-3'.seq
31 A C G C T G T T G T T G C T A G C A C T A G C A A G A A A A B4-3'.seq
12 - - - - - T C G T T G C T - G C G C - G G C A - - - - - ZMSBE2b-3'.seq
58 A - T C G G T A T G G T C C A A T A C A A C C A G G T G C A A G B10-3'.seq
57 A - T C G G T A C G G T C C A A T A C A G C C A G G T G C A A G B2-3'.seq
61 A A T C G G T A T G G T C C A A T A C A C A C A G G T G C A A G B4-3'.seq
28 - - - T G T G T G G - - - - - G G C T G T C - G A T G T G A G ZMSBE2b-3'.seq
87 G T T A A T A A G G A T T T T T T - G C C T T C A A C G A G T B10-3'.seq
86 G T T A A T A A G G A T T T T T T - G C C T T C A A C G A G T B2-3'.seq
91 G T T A A T A A G G G T T T T T - G C C T T C A A C G A G T B4-3'.seq
50 G - - - - - A A A A C C T C T - - - T C C A A - - A A C ZMSBE2b-3'.seq
116 C C T G G A T A G A C A A G A C A A C A T G A T G T G T G B10-3'.seq
116 C C T G G A T A G A C A A G A C A A C A T G A T G T G T G B2-3'.seq
120 C C T G G A T A G A C A A G A C A A C A T G A T G T G T G B4-3'.seq
70 C - - - G G C A G A T G - - - - - C A T G - - - C A T G ZMSBE2b-3'.seq
146 C T G T G T G C C C C A A - T C C C C A G G G N G T G T B10-3'.seq
146 G C G T G T G C C C C A A - T C C C C A G G G C G T T G T B2-3'.seq
150 C T C T G T G C C C C A A A T T C C C C A G G C G T T G N B4-3'.seq
87 C - - - A T G C C T A C - - - A A T - - - A A G G T - - - ZMSBE2b-3'.seq
175 G A G A A A A C A T G C C T C A T C T G T G T T A T - - - T B10-3'.seq
175 G A G A A A A C A T G C C T C A T C T G T G T T A T G A T T B2-3'.seq
180 G N G A A A A C A T G C C T C A T C T G T G T T A T C A T T B4-3'.seq
103 - A T - A C T ZMSBE2b-3'.seq
202 T T A T G G A T C A G G G A N G A A A C C T C C C C C A A A B10-3'.seq
205 T T A T G G A T C A G C G A C G A A A C C T C C C C C A A A B2-3'.seq
210 T T A T G G A T C A G N G N G G A A A C C T C C C C C A A A B4-3'.seq
112 T T A - - - A T C G - - - - - - - - - - - - - - - A ZMSBE2b-3'.seq

11.08.01

TV 2001-459

43935

Obr. 8(ii)

232	N	A	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
-----	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

43935
PV 801-429

11.06.01

PV 2001 - 457

43930

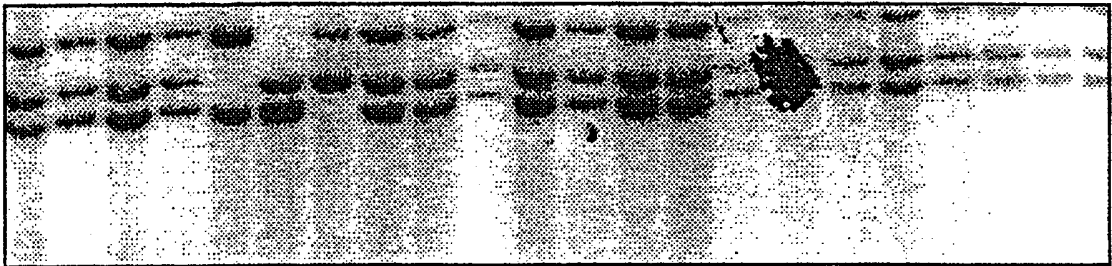
Obr.9A

Chinese Spring

N2AT2B

N2BT2D

N2DT2A



11.05.01

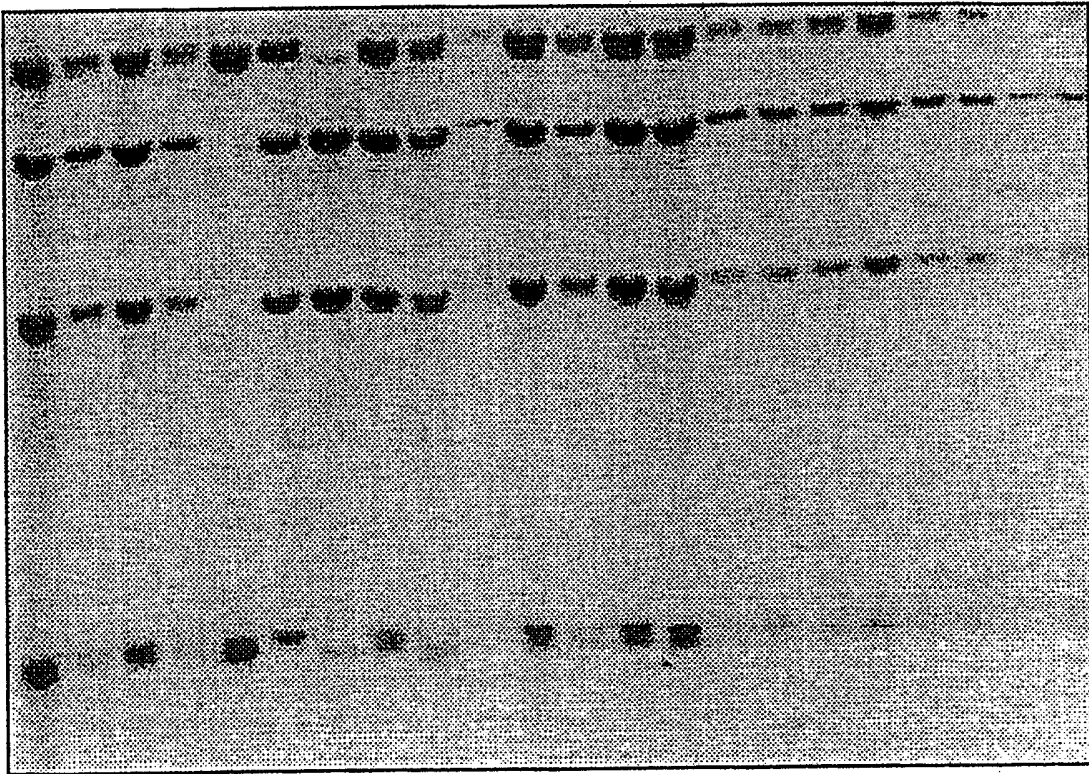
PV 2001-719

43935

Obr. 9B

Chinese Spring

N2AT2B
N2BT2D
N2DT2A



Obr. 10(i)

CATYACGGCCAGTTCGAGCTCGGTACCCGGGATCCGATTGGTGTGGGAGATGTTCTTGCCAAACAATGCAGATGGTTCGCC 90 SEQ ID No:1

I D G Q . L R A R Y P G I R F G V W E M F L P N N A D G S P SEQ ID No:2

ACCAATTCCTCAGGCTCAGGGTGAAGGTGAGAATGGATCTCCATCTGGGATAAAGGATTCAATTCCTGCTGGATCAAGTACICCGT 180

P I P H G S R V K V R H D T P S G I K D S I P A W I K Y S V

GCAGACTCCAGGAGATATACCATCAATGGAATATATTAATGATCCCTCCGGAAGAGGAGATGTATTCAAGCATCCCAACCTAAACG 270

Q T P G D I P Y N G I Y Y D P P E E E K Y V F K H P Q P K R

ACCAAAATCATTCGGGATATATGAACACATGTTGGCATGAGTAGCCCGGAACCAAGATCAACACATATGCCAACTTCAGGGATGAGGT 360

P K S L R I Y E T H V G M S S P E P K I N T Y A N F R D E V

GCITCCAAGAAATTAAGACTTGGATACAATGCAGTGCAAAATAATGGCAATCCAGGAGCACTCATCTATGGAAGCTTTGGGTACCATGT 450

L P R I K R L G Y N A V Q I M A I Q E H S Y Y G S F G Y H V

TACCAATTTCTTTGCACCAAGTAGCCGTTTGGGTCCCGAGAGATTTAAATCTTTTGAATGATAGAGCTCAGGAGCTTGGCTTGGTTGT 540

T N F F A P S S R F G S P E D L K S L I D R A H E L G L V V

CCTCATGGATGTTGTTACAGTCACGGTCACAAATAATACCTTGGACGGGTGAATGGTTTGGATGGCAGGATACACATTACTTCCATGG 630

L M D V V H S H A S N N T L D G L N G F D G T D T H Y F H G

CGGTTACGGGGCCATCAGTGGATGCGGATTCCTGTTTAACTATGGGAATAAGGAAGTTATAAGGTTTCTACTTTCCAATGCAAG 720

G S R G H H W M W D S R V F N Y G N K E V I R F L L S N A R

ATGGTGGCTAGAGGAGTAAAGTTTIGATGGTTTCCGATTCGATGGCGGACCTCCATGATGATATACCCATCATGGATTACAAGTAACCTT 810

W W L E E Y K F D G F R F D G A T S M M Y T H H G L Q V T F

1001-459
43935

TACAGGAAGCTACCAATGAATATTTGGCITTGCCACCTGATGATCGCGGTCGTTTACTTGTGCTGATGAATGATCTAAATTCATGGGTT 900
T G S Y H E Y F G F A T D V D A V V Y L M L M N D L I H G F
TTAICCIGAAGCCGTAACATCGGTGAAGATGTTAGTGAATGCCCTACATTTGCCCTTCCCTGTTCAAGTTGGTGGGTTGGTTTGACTA 990
Y P E A V T I G E D V S G M P T F A L P V Q V G G V G F D Y
TCGCTTACATATGGCIGTGGCCGACAAATGGATTGAACITCTCAAAGGAAACGATGAAGCTTGGGAGATGGGTAATATTTGTCACACACT 1080
R L H M A V A D K W I E L L K G N D E A W E M G N I V H T L
AACAAACAGAAGGTGGCCGGAAAAGTGIGTTACTTATGCTGAAAAGTCACGATCAAGCCTGGTTGGAGACAAGACTAATTCATTCIGGTT 1170
T N R R W P E K C V T Y A E S H D Q A L V G D K T I A F W L
GATGGACAAGGATATGATGATTTTCATGGCTCTGAACGGACCTTCGACACCTAGTATTGATCGGGAATAGCACTGCATAAAATGATTAG 1260
M D K D M Y D F M A L N G P S T P S I D R G I A L H K M I R
ACTTAACAATGGGTTAGGAGGAGAGGGTTAICTTAACITTTATGGGAAATGAGTTCCGGGCATCCTGAATGGATAGACTTCCCAAGAGG 1350
L I T M G L G G E G Y L N F M G N E F G H P E W I D F P R G
CCCACAAGTACTTCCAACCTGTAAGTTCACTCCAGGAAACAACAACAGTACGACAAATGCCGTCGAAGATTTGACCAGGGTGATGCAGA 1440
P Q V L P T G K F I P G N N S Y D K C R R R F D O G D A E
ATTTCITAGGTATCAGCAGTTCAGCGGATGCAGCATCTTGAGGAAAATAATGGCTTTATGACATCAGACCACCAGTA 1530
F L R Y H G M Q Q F D Q A M Q H L E E K Y G F M T S D H Q Y
CGTATCTCGGAAACAATGAGGAAGATAAGGIGATCGTGTGTTGAAAAAGGGGACTTGGTATTTGTGTTCAACTTCCACTGGAGTAATAGCTA 1620
V S R K H E E D K V I V F E K G D L V F V F N F H W S N S Y

11.05.01
PV 2001-4170
4393J

Obr. 10(iii)

TTTCGACTACGGGTTGGCTGTTTAAAGCCTGGGAAGTACAAGGTTGCTCTTAGACTCAGACGCGGACTCTTTGGTGGATTGGTAGGAT 1710
F D Y R V G C L K K P G K Y K V V L D S D A G L F G G F G R I
CCATCACACTGCAGAGCAGCTTCTGACTGCTCAACATGACAACAGGCCCCCAATTCGTTCTCAGTGTACACTCCTAGCAGAACCIGTGT 1800
H H T A E H F T S D C Q H D N R P H S F S V Y T P S R T C V
TGCTAIGCTCCCAATGAACAAACAGCAAAAGTGCAGCATACGCATGCACGCTGTTGTTGCTAGCACTAGCAAGAAAAATCGTATGGTCA 1890
V Y A P M N . T A K C S I R M H A V V A S T S K K S Y G Q
ATACAACAGGTGCAAGGTTTAATAAGGGTTTGGCTTCAACGAGTCTTGGATAGACAAGACAACATGATGATGCTGTGCTCCTCCCAAT 1980
Y N Q V Q G L I R V C F N E S W I D K T T . C A L C S Q I
TCCCAGGGCGTTGGAGAAAAAATGCCTCATCTGTGTTATTTATGGATCAGGGANGAACCCTCCCCCAANACCCCTTTTTTTTIGAA 2070
P R A L W R K N A H L C Y F M D Q G ? N L P Q ? P L F F L K
AGNGGATAGGCCCCCGGINTCIGCAINTGGAIGCCCTCCTTAAATNTTGTAGCCATAAACCATTTGCTAGIGICCTINIAAATTGACAGTT 2160
G G . A P G ? C ? W M P P . ? F V A I N H C . C P ? N . Q F
TAGAATAGNGGTTNTACTTTTGTATTTTNTTTTGTACAGTTAGACTGTATTCCTCAATAATCGACATGTTGTTTACICGAAGNTGAGAA 2250
R I ? V ? L L Y F ? F D S . T V F L K . S T C C L L E ? E K
ATAAAATCAGAGATTGNAGNAAAAAATAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA 2307
N Q R L ? ? K K K K K K K K K K N

110000

2001-109

43935

110501

PV 2001-409

4393J

Obr. 11(i)

MLCL

XSLLPRP

SRA

majorita

SEQ ID No:54

10

20

30

40

50

52

MLCL

SSSLPRP

S-A

TASBE1D2

SEQ ID No:32

16

MLCL

APSCSPSLPPRP

SRP

TASBEI

SEQ ID No:33

44

MATFAVSGWTLGVARPAGAGGGLPRSGSERRGVDLPSSLRLRKKDSSRA

pšenice SBEII-2

SEQ ID No:11

151

AADRPX-PGI-XGGGXXRLSAVPA-PXXLR

WXWPRK

majorita

60

70

80

90

100

94

AADRPL

PGIAGGGGKRLSVVPSPFLR

WLWPRK

TASBE1D2

76

AADRPG

PGISGGGNVRLSAVPA-PSSLR

WSWPRK

TASBEI

44

VLSRAASPGKVLVPDGESDDLASPAQPEELQIPEDIEEQTAEVNMTGGTA

pšenice SBEII-2

301

AKSKSSVPVXXAXXXIXATXXGVXXLP

IYDLDP

majorita

110

120

130

140

150

202

AKSKSEVSVTARGNKIAATGYGSDHLP

IYDLDL

TASBE1D2

175

AKSKFSVPVSAPRDYTMATAEDGVGLP

IYDLDP

TASBEI

44

EKLSSPTQGI VETITDGVTKGVKELVVGEKPRVVPKPGQGQKIYEIDP

pšenice SBEII-2

451

KLAXFKXHFDRYRXXXXYXXQKHXIEKHEGGLSEFSKGYLKFGINTEXXAXV

majorita

160

170

180

190

200

304

KLAEFKDHFYTRNRVIEQKHLEKHEGSLSEFSKGYLKFGINTEHGASV

TASBE1D2

277

KFAGFKEHFSYRMKKYLDQKHSIEKHEGGLSEFSKGYLKFGINTENDATV

TASBEI

44

TLKDESHLDYRYSEYRRIRAAIDQHEGGLEAFSRGYEKLGFTRSAEGIT

pšenice SBEII-2

601

YREWAPAAAXXALVGDFFNNWNGSGHXMTKDNFGVWSIRLSNNADGSPAIP

majorita

210

220

230

240

250

454

YREWAPAAEEAQLVGDFFNNWNGSGHKA

MAKDNFGVWSIRISH-VN

GKPAIP

TASBE1D2

427

YREWAPAAMDAQLIGDFFNNWNGSGHRT

MTKDNFGVWSIRISH-VN

GKPAIP

TASBEI

44

YREWAPGAHSAALVGDFFNNWNP

NADTMT

RDYGVWEJFLPN

NADGSPAIP

pšenice SBEII-2

751

~~43935~~

HGSKVKFRFDTPSGVWVDSIPAWIKYAVQIAGEIGAPYDGIHYDPPSEK majorita
 260 270 280 290 300
 HN SKVKFRFRH-HGVWVEQIPAWIRYATVITASES GAPYDGLHWDPSSER TASBE1D2
 HN SKVKFRFRHGGGLWVDRVPAWIRYATFDASKEF GAPYDGVHWDPSSER TASBEI
 HGSRRVKVRMDTPSGI-KDSIPAWIKYSVQIPGDI--PYNIGIYYDDPPEEEK OsbeII-1ALL
 HGSRRVKIRMDTPSGV-KDSISAWIKFSVQAPGEI--PFNIGIYYDDPPEEEK pšenice SBEII-2
 601 604 607 610 613 616 619 622 625 628 631 634 637 640 643 646 649 652 655 658 661 664 667 670 673 676 679 682 685 688 691 694 697 700 703 706 709 712 715 718 721 724 727 730 733 736 739 742 745 748 751 754 757 760 763 766 769 772 775 778 781 784 787 790 793 796 799 802 805 808 811 814 817 820 823 826 829 832 835 838 841 844 847 850 853 856 859 862 865 868 871 874 877 880 883 886 889 892 895 898 899
 YVFKHPQPKKPDLSLRIYEAHVGMSGPEPEINTYAEFRDEVLPRIKALGYN majorita
 310 320 330 340 350
 YVFNHPPRPKPDVPRRIYEAHVGVSGGKLEAGTYREFPDNVLPCLRATNYN TASBE1D2
 YVFKHPPRPKPDAPRIYEAHVGMSGEKEPEVSTYREFADNVLPRIKANNYN TASBEI
 YVFKHPPQPKRPKSLRIYETHVGMSSPEPKINTYANFRDEVLPRIKRLGYN OsbeII-1ALL
 YVFKHPPQPKRPESLRIYESHIGMSSPEPKINSYANFRDEVLPRIKRLGYN pšenice SBEII-2
 748 751 754 757 760 763 766 769 772 775 778 781 784 787 790 793 796 799 802 805 808 811 814 817 820 823 826 829 832 835 838 841 844 847 850 853 856 859 862 865 868 871 874 877 880 883 886 889 892 895 898 899
 AVQLMAIQEHSHYASFGYHYVTNFFAVSSRSGTPEDLKSLIDKAHSLGLRV majorita
 360 370 380 390 400
 TVQLMGIMESHDSASFGYHYVTNFFAVSSRSGTPEDLKSLIDKAHSLGLRV TASBE1D2
 TVQLMAIMEHSYYASFGYHYVTNFFAVSSRSGTPEDLKSLIDKAHSLGLRV TASBEI
 AVQIMAIQEHSHYYGSFGYHYVTNFFAPSSRFGSPEDLKSLIDRAHELGVLV OsbeII-1ALL
 AVQIMAIQEHSHYYASFGYHYVTNFFAPSSRFGTPEDLKSLIDRAHELGVLV pšenice SBEII-2
 898 899 900 901 902 903 904 905 906 907 908 909 910 911 912 913 914 915 916 917 918 919 920 921 922 923 924 925 926 927 928 929 930 931 932 933 934 935 936 937 938 939 940 941 942 943 944 945 946 947 948 949 950 951 952 953 954 955 956 957 958 959 960 961 962 963 964 965 966 967 968 969 970 971 972 973 974 975 976 977 978 979 980 981 982 983 984 985 986 987 988 989 990 991 992 993 994 995 996 997 998 999
 LMDVVHSHASNNTLDGLNGFDVGQGTDTSYFHGGXRGHHKMWDSRLFNYG majorita
 410 420 430 440 450
 LMDVVHSHASNNTLDGLNGYDVVGQSAHESYFYTGDKGYNKMWNGRMFNYYA TASBE1D2
 LMDVVHSHASNNTLDGLNGYDVVGONTQESYFHTGGERGYHKLWDSRLFNYYA TASBEI
 LMDVVHSHASNNTLDGLNGFD--GTDTHYFHGGSERGHHMMWDSRVFNYG OsbeII-1ALL
 LMDIVHSHSNNTLDGLNGFD--GTDTHYFHGGPRGHHMMWDSRLFNYG pšenice SBEII-2
 1048 1049 1050 1051 1052 1053 1054 1055 1056 1057 1058 1059 1060 1061 1062 1063 1064 1065 1066 1067 1068 1069 1070 1071 1072 1073 1074 1075 1076 1077 1078 1079 1080 1081 1082 1083 1084 1085 1086 1087 1088 1089 1090 1091 1092 1093 1094 1095 1096 1097 1098 1099 1100 1101 1102 1103 1104 1105 1106 1107 1108 1109 1110 1111 1112 1113 1114 1115 1116 1117 1118 1119 1120 1121 1122 1123 1124 1125 1126 1127 1128 1129 1130 1131 1132 1133 1134 1135 1136 1137 1138 1139 1140 1141 1142 1143 1144 1145 1146 1147 1148 1149 1150 1151 1152 1153 1154 1155 1156 1157 1158 1159 1160 1161 1162 1163 1164 1165 1166 1167 1168 1169 1170 1171 1172 1173 1174 1175 1176 1177 1178 1179 1180 1181 1182 1183 1184 1185 1186 1187 1188 1189 1190 1191 1192 1193 1194 1195 1196 1197 1198 1199 1200 1201 1202 1203 1204 1205 1206 1207 1208 1209 1210 1211 1212 1213 1214 1215 1216 1217 1218 1219 1220 1221 1222 1223 1224 1225 1226 1227 1228 1229 1230 1231 1232 1233 1234 1235 1236 1237 1238 1239 1240 1241 1242 1243 1244 1245 1246 1247 1248 1249 1250 1251 1252 1253 1254 1255 1256 1257 1258 1259 1260 1261 1262 1263 1264 1265 1266 1267 1268 1269 1270 1271 1272 1273 1274 1275 1276 1277 1278 1279 1280 1281 1282 1283 1284 1285 1286 1287 1288 1289 1290 1291 1292 1293 1294 1295 1296 1297 1298 1299 1300 1301 1302 1303 1304 1305 1306 1307 1308 1309 1310 1311 1312 1313 1314 1315 1316 1317 1318 1319 1320 1321 1322 1323 1324 1325 1326 1327 1328 1329 1330 1331 1332 1333 1334 1335 1336 1337 1338 1339 1340 1341 1342 1343 1344 1345 1346 1347 1348 1349 1350 1351 1352 1353 1354 1355 1356 1357 1358 1359 1360 1361 1362 1363 1364 1365 1366 1367 1368 1369 1370 1371 1372 1373 1374 1375 1376 1377 1378 1379 1380 1381 1382 1383 1384 1385 1386 1387 1388 1389 1390 1391 1392 1393 1394 1395 1396 1397 1398 1399 1400 1401 1402 1403 1404 1405 1406 1407 1408 1409 1410 1411 1412 1413 1414 1415 1416 1417 1418 1419 1420 1421 1422 1423 1424 1425 1426 1427 1428 1429 1430 1431 1432 1433 1434 1435 1436 1437 1438 1439 1440 1441 1442 1443 1444 1445 1446 1447 1448 1449 1450 1451 1452 1453 1454 1455 1456 1457 1458 1459 1460 1461 1462 1463 1464 1465 1466 1467 1468 1469 1470 1471 1472 1473 1474 1475 1476 1477 1478 1479 1480 1481 1482 1483 1

1348	I	G	L	O	T	N	V	D	A	E	V	Y	M	M	L	A	N	H	L	M	H	K	L	F	P	E	A	I	V	V	A	V	D	V	S	G	M	P	V	L	C	W	P	V	D	E	G	G	L	G	TASBE1D2
1324	F	G	L	O	T	D	V	D	A	V	Y	L	M	L	A	N	H	L	M	H	K	L	L	P	E	A	T	V	V	A	E	D	V	S	G	M	P	V	L	C	R	S	V	D	E	G	V	G	TASBE1		
833	F	G	F	A	T	D	V	D	A	V	Y	L	M	L	M	N	D	L	I	H	G	F	Y	P	E	A	V	T	I	G	E	D	V	S	G	M	P	T	F	A	L	P	V	Q	V	G	V	G	Osbe11-1ALL		
1633	F	G	F	A	T	D	V	D	A	V	Y	L	M	L	V	N	D	L	I	H	G	L	H	P	D	A	V	S	I	G	E	D	V	S	G	M	P	T	F	C	I	P	V	P	D	G	G	V	G	pšenice SBE11-2	
	F	D	Y	R	L	A	M	A	V	A	D	K	W	I	O	L	L	K	N	K	D	D	-	X	W	S	M	G	X	I	V	-	H	T	L	T	N	R	R	Y	P	E	K	C	V	A	Y	A	E	S	majorita
1498	F	D	Y	R	Q	A	M	T	I	P	D	R	W	I	D	Y	L	E	N	K	G	D	Q	Q	W	S	M	S	S	V	I	S	Q	T	L	T	N	R	R	Y	P	E	K	F	I	A	Y	A	E	R	TASBE1D2
1474	F	D	Y	R	L	A	M	A	I	P	D	R	W	I	D	Y	L	K	N	K	D	D	L	E	W	S	M	S	G	-	I	A	H	T	L	T	N	R	R	Y	T	E	K	C	I	A	Y	A	E	S	TASBE1
983	F	D	Y	R	L	H	M	A	V	A	O	K	W	I	E	L	L	K	G	N	D	E	-	A	W	E	M	G	N	I	V	-	H	T	L	T	N	R	R	W	P	E	K	C	V	T	Y	A	E	S	Osbe11-1ALL
1783	L	D	Y	R	L	H	M	A	V	A	D	K	W	I	E	L	L	K	Q	S	D	E	-	S	W	K	M	G	O	I	V	-	H	T	L	T	N	R	R	L	E	K	C	V	T	Y	A	E	S	pšenice SBE11-2	
	H	D	Q	A	L	V	G	D	K	T	I	A	F	L	L	M	D	K	D	M	Y	D	G	M	A	L	X	X	P	S	S	P	T	I	D	R	G	I	A	L	Q	K	M	I	H	L	I	T	M	G	majorita
1648	Q	N	H	S	I	I	G	S	K	T	M	A	F	L	L	M	E	W	E	T	Y	S	G	M	S	A	M	D	P	D	S	P	T	I	D	R	A	I	A	L	Q	K	M	I	H	F	I	T	M	A	TASBE1D2
1621	H	D	Q	S	I	V	G	D	K	T	M	A	F	L	L	M	D	K	E	M	Y	T	G	M	S	D	L	Q	P	A	S	P	T	I	D	R	G	I	A	L	Q	K	M	I	H	F	I	T	M	A	TASBE1
1127	H	D	Q	A	L	V	G	D	K	T	I	A	F	L	L	M	D	K	D	M	Y	D	F	M	A	L	N	G	P	S	T	P	S	I	D	R	G	I	A	L	H	K	M	I	R	L	I	T	M	G	Osbe11-1ALL
1927	H	D	Q	A	L	V	G	D	K	T	I	A	F	L	L	M	D	K	D	M	Y	D	F	M	A	L	O	R	P	S	T	P	R	I	D	R	G	I	A	L	H	K	M	I	R	L	V	T	M	G	pšenice SBE11-2
	L	G	G	D	G	Y	L	N	F	M	G	N	E	F	G	H	P	E	W	I	D	F	P	R	G	P	Q	-	L	P	T	G	K	-	-	P	G	N	N	N	S	Y	D								

11.05.01
PV 2001-459
43935

1957	1958	1959	1960	1961	1962	1963	1964	1965	1966	1967	1968	1969	1970	1971	1972	1973	1974	1975	1976	1977	1978	1979	1980	1981	1982	1983	1984	1985	1986	1987	1988	1989	1990	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021	2022	2023	2024	2025	2026	2027	2028	2029	2030	2031	2032	2033	2034	2035	2036	2037	2038	2039	2040	2041	2042	2043	2044	2045	2046	2047	2048	2049	2050	2051	2052	2053	2054	2055	2056	2057	2058	2059	2060	2061	2062	2063	2064	2065	2066	2067	2068	2069	2070	2071	2072	2073	2074	2075	2076	2077	2078	2079	2080	2081	2082	2083	2084	2085	2086	2087	2088	2089	2090	2091	2092	2093	2094	2095	2096	2097	2098	2099	2100	2101	2102	2103	2104	2105	2106	2107	2108	2109	2110	2111	2112	2113	2114	2115	2116	2117	2118	2119	2120	2121	2122	2123	2124	2125	2126	2127	2128	2129	2130	2131	2132	2133	2134	2135	2136	2137	2138	2139	2140	2141	2142	2143	2144	2145	2146	2147	2148	2149	2150	2151	2152	2153	2154	2155	2156	2157	2158	2159	2160	2161	2162	2163	2164	2165	2166	2167	2168	2169	2170	2171	2172	2173	2174	2175	2176	2177	2178	2179	2180	2181	2182	2183	2184	2185	2186	2187	2188	2189	2190	2191	2192	2193	2194	2195	2196	2197	2198	2199	2200	2201	2202	2203	2204	2205	2206	2207	2208	2209	2210	2211	2212	2213	2214	2215	2216	2217	2218	2219	2220	2221	2222	2223	2224	2225	2226	2227	2228	2229	2230	2231	2232	2233	2234	2235	2236	2237	2238	2239	2240	2241	2242	2243	2244	2245	2246	2247	2248	2249	2250	2251	2252	2253	2254	2255	2256	2257	2258	2259	2260	2261	2262	2263	2264	2265	2266	2267	2268	2269	2270	2271	2272	2273	2274	2275	2276	2277	2278	2279	2280	2281	2282	2283	2284	2285	2286	2287	2288	2289	2290	2291	2292	2293	2294	2295	2296	2297	2298	2299	2300	2301	2302	2303	2304	2305	2306	2307	2308	2309	2310	2311	2312	2313	2314	2315	2316	2317	2318	2319	2320	2321	2322	2323	2324	2325	2326	2327	2328	2329	2330	2331	2332	2333	2334	2335	2336	2337	2338	2339	2340	2341	2342	2343	2344	2345	2346	2347	2348	2349	2350	2351	2352	2353	2354	2355	2356	2357	2358	2359	2360	2361	2362	2363	2364	2365	2366	2367	2368	2369	2370	2371	2372	2373	2374	2375	2376	2377	2378	2379	2380	2381	2382	2383	2384	2385	2386	2387	2388	2389	2390	2391	2392	2393	2394	2395	2396	2397	2398	2399	2400	2401	2402	2403	2404	2405	2406	2407	2408	2409	2410
------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------

110501
PV 2001-459
~~43935~~

110501
PV 2001-779
~~43935~~

černě jsou zvýrazněny zbytky, které odpovídají přesně konsensu

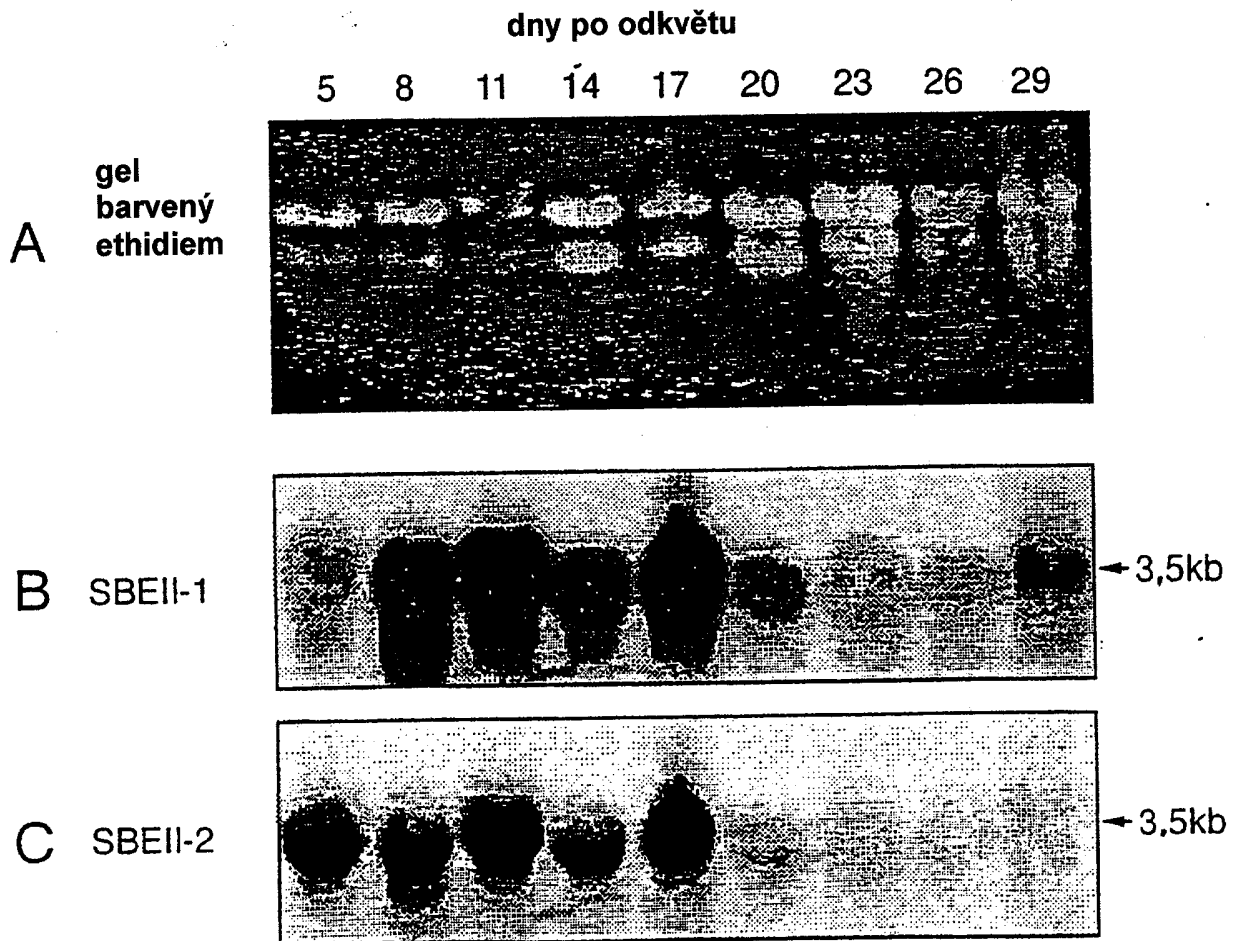
procento podobnosti

	1	2	3	4	
1		63,9	31,2	37,0	1
2	39,1		46,7	41,8	2
3	86,9	73,8		69,6	3
4	94,5	76,4	25,3		4
	1	2	3	4	

procento divergence

TASBE1D2
 TASBEI
 sbell-1ALL
 pšenice SBEII-2

Obr. 12

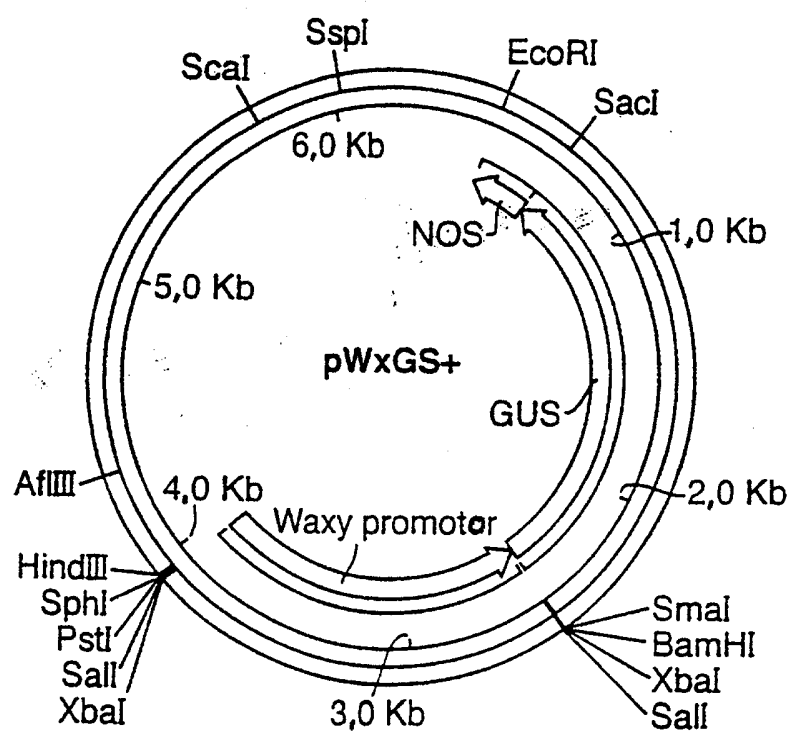


11.06.01

PV 2001-419

43935

Obr. 13



Obr. 13A

10 20 30 40 50 60 70
 AGCTTGCAATGCCAGGTCGACTCTAGACCAAAATTTCATGGTAGTTGGGAGCCTACCCAGATTTCATG 70
 ATTAACCTGTGCTATTGAATTGTTGAAAATGGTTGTCTGTCTGTATCCGACGGATAACGGAAACCCGTCC 140
 GAAATCAATGGGCATGGGCATAGATATAGATTGTACCCACTACTAGTATGTCGACGGCGGATATTGG 210
 TTGCAACCGCAGATATAGTTTCGGGGAAGGATTAGGCTCAGCTCCATCCCTAGACCCCACTTGTGTGT 280
 GTGGGGGGTCTACCCCTTCAAAAGGAAAAAACTACACAGTGCATATAAGAAAGATGAATATTCCAAA 350

360 370 380 390 400 410 420
 ATTCAGCAGTCAAGAAGCCCTGATAAAGTGTCTGGCATAGCTAGTACTTTATACACTTCAAGACCAAAAG 420
 AAATCACTAAGTACAGATTTTAGTGACTCGTAAGTACAGATATCATCTTACAAGGCCCGCCAGCCGAC 490
 TATTACACAGCCCGCTCGGGCCCGACGTCGGGACACATCTTCTCCCTTTGGTGAAGCTCTGCTC 560
 GCAGCTGTCCGGCTGCTTGGACGTTCTGTGGCAGATTTCATCTGTCTGCTCTGCTCTGCTCTGCTGGG 630
 TAGCTTGTGCAGTGGAGCTGACATGGTCTGAGCAGGCTTAAATTTGCTCGTAGACGAGGAGTACCAGCA 700

710 720 730 740 750 760 770
 CAGCACGTTGCCGATTTCCTCTGCTGAAAGTGCAACGCTTAGGATTGTACACGCTTGGTCGCGTCGA 770
 TGCGGTGTGAGCAGACAGCAACAGCTGGCGGCCCAAGTTGGCTTCCGTGCTTCCGTGCTACGTACG 840
 CGCGCCCGGGACACGACAGAGCGGAGCGGAGCCGTGTCACGGGGAGGTGTTGCAAGTGCAGCCG 910
 CGCGCCCGCCCGGTCGCAACCCCAAAAGTACCCACGACAAGCGAAGCGCCAAAGCGATCC 980
 AAGCTCCGGAACGCATCAGCCACAGCAGCCGAGAACCCGAGTGGGCGACGCTCGTGGGACGGACG 1050

110500

PV 2001-419

43935

Obr. 13A(pokračování)

1060	1070	1080	1090	1100	1110	1120
CGGGCAGCGCTTCCAAACGGGGCCACGTACGCCGCGTGTGCGTGCAGACGACAAGCCAAGG	1120					
CGAGGCAGCCCCCGATCGGGGAAAGCGTTTGGGCGCGAGCGTGGCGTCAAGTGGTGGCGCA	1190					
GTGCCGGGGGAACGGGTATCGTGGGGCGCGCGGAGAGCGTGGCGAGGCCGAGAGCAGCGCGCG	1260					
GCCGGGTACGCAACGGCGCCCCACGTACTGCCCCCTCCCGCGCGCTAGAAATACCGAGGCCCTGGA	1330					
CCGGGGCCCCCGGTCAATCCATCCATCGACCGATCGATCGCCACAGCCAAACACCCCGCGAGGCG	1400					
1410	1420	1430	1440	1450	1460	1470
ACGCGACAGCCGCGCAGGAGGAAGGAATAAACTCACTGCCAGCCAGTGAAGGGGAGAGAAGTGACTGCTCC	1470					
GTCGACTCTAGAGGATCC	1488					

(SEQ ID NO:55)

11501

PV 2001-489
43935

~~43935~~

br. 14

pSRWXGUS1

6.0Kb

5.0Kb

4.0Kb

3.0Kb

2.0Kb

1.0Kb

Waxy promoter

GUS

NOS

ScaI

SspI

EcoRI

SacI

AflIII

HinDIII

SphI

PstI

SalI

XbaI

SacI

BamHI

XbaI

SalI

Fig. 15

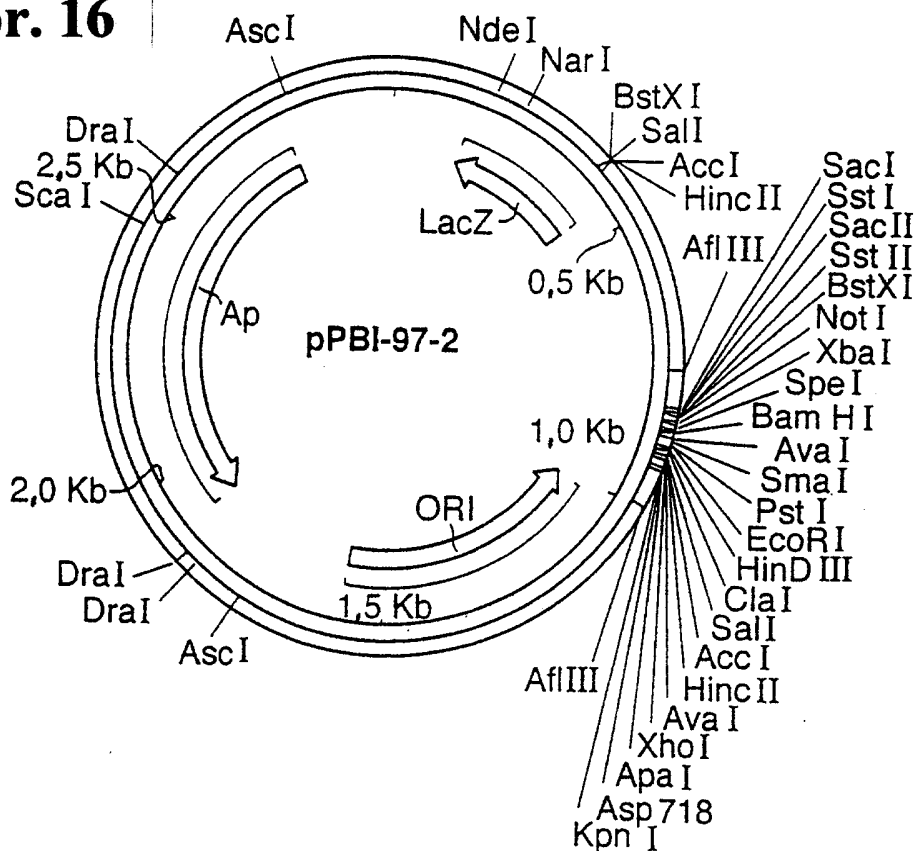
Circular map of the pVTWXGUS2 plasmid. The plasmid is 6.0Kb in size. Key features include: a Waxy promoter (indicated by a curved arrow), a GUS gene (indicated by a straight arrow), and a NOS (Neomycin resistance) gene (indicated by a straight arrow). Restriction sites are marked around the circle: ScaI, SspI, EcoRI, BamHI, SmaI, XbaI, SalI, BamHI, SmaI, XbaI, SalI, SphI, PstI, SalI, XbaI, HinDIII, and AflIII. Scale markers are provided at 1.0Kb, 2.0Kb, 3.0Kb, 4.0Kb, 5.0Kb, and 6.0Kb.

11.06.01

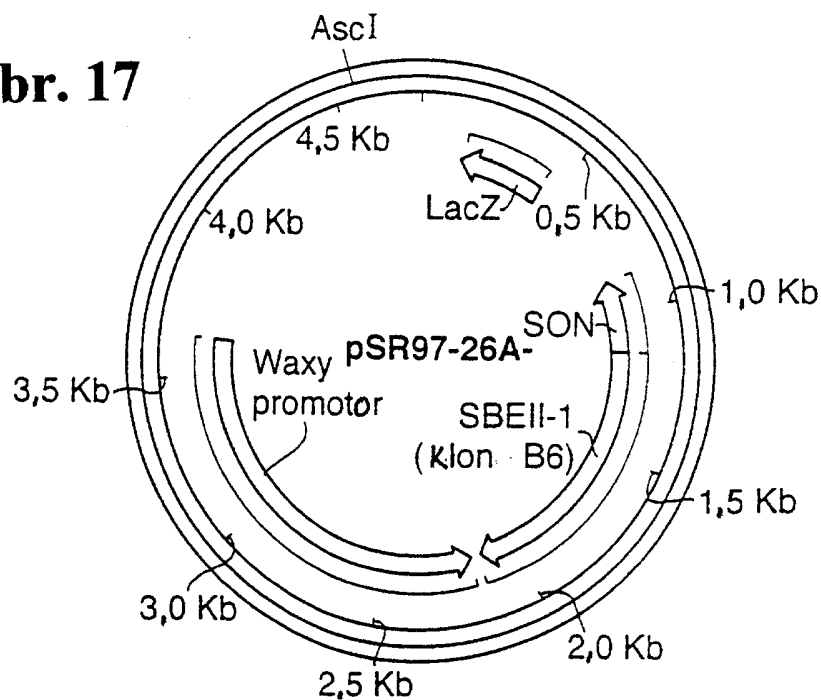
PI 2001-479

43935

Obr. 16



Obr. 17

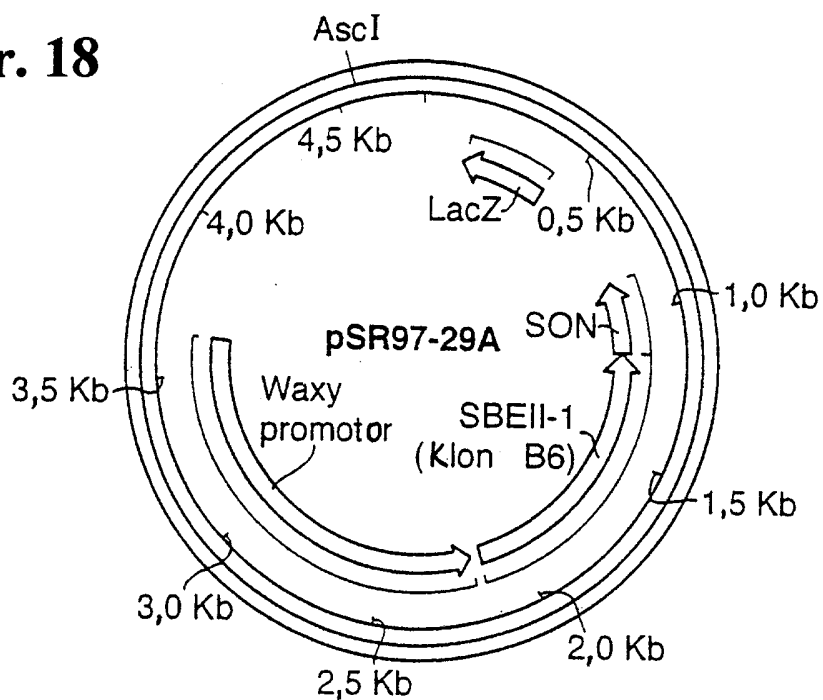


11.06.01

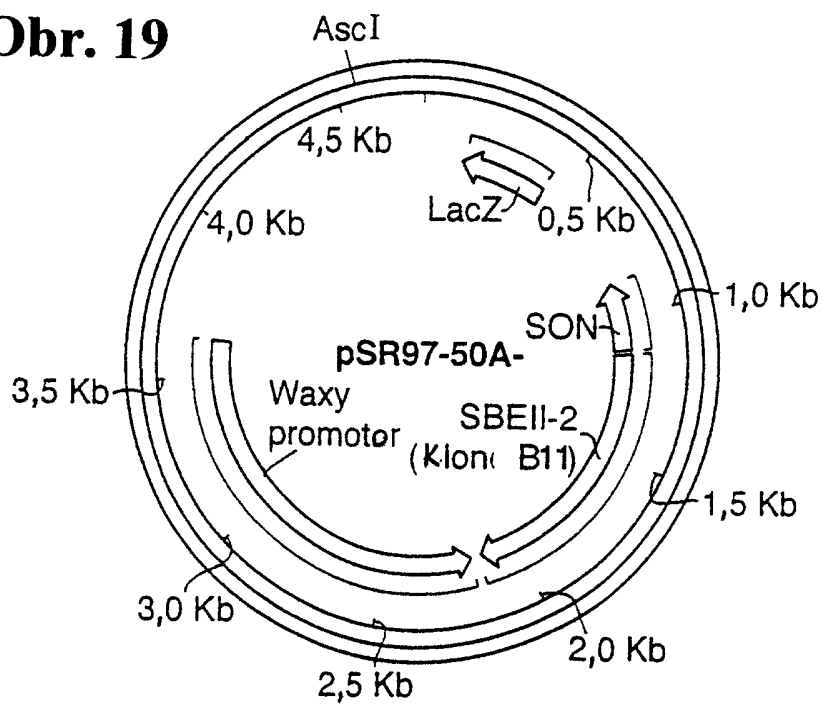
7V 2001-459

43935

Obr. 18



Obr. 19

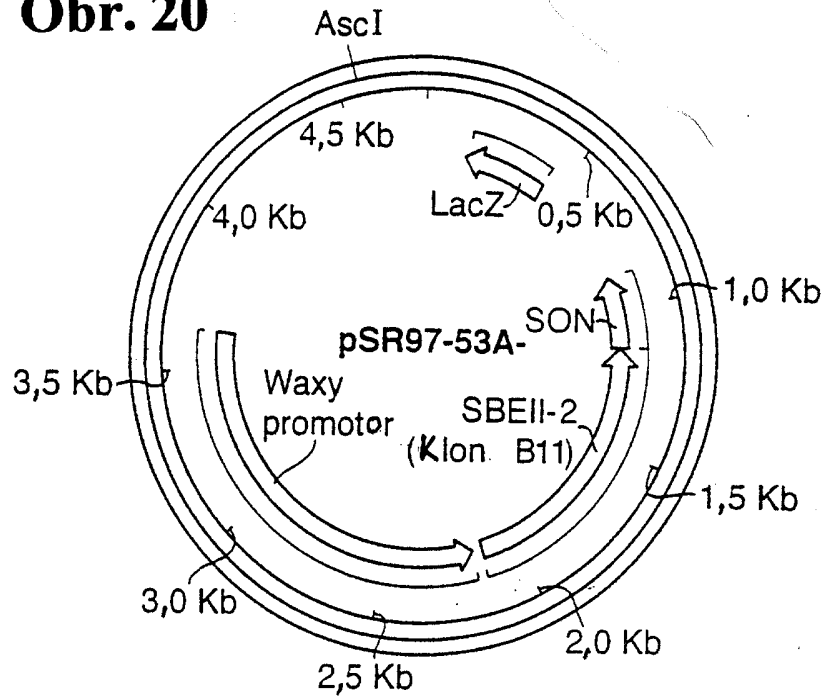


11.06.01

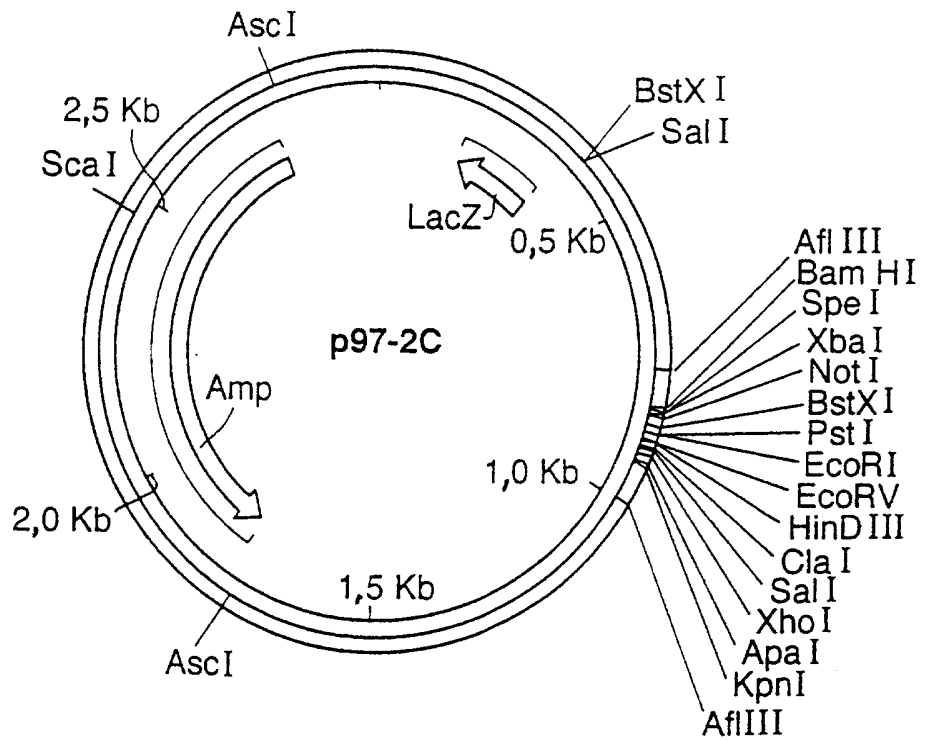
PV 2001-459

4393J

Obr. 20



Obr. 21

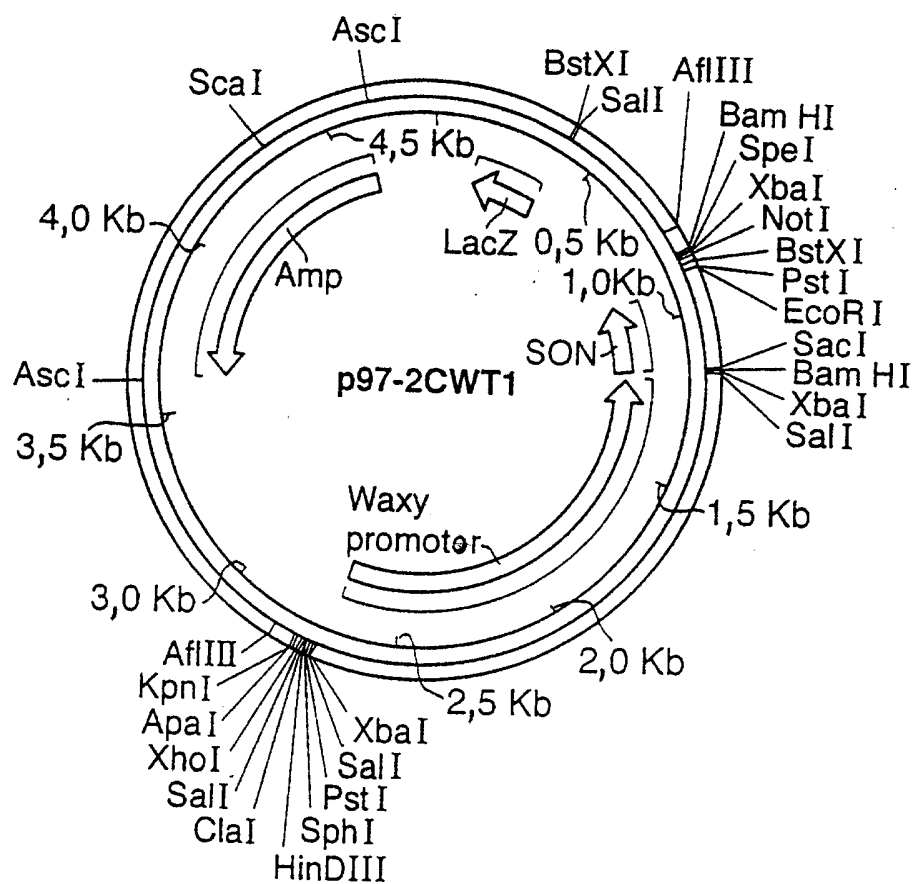


11.08.01

PV 2001-409

43931

Obr. 22

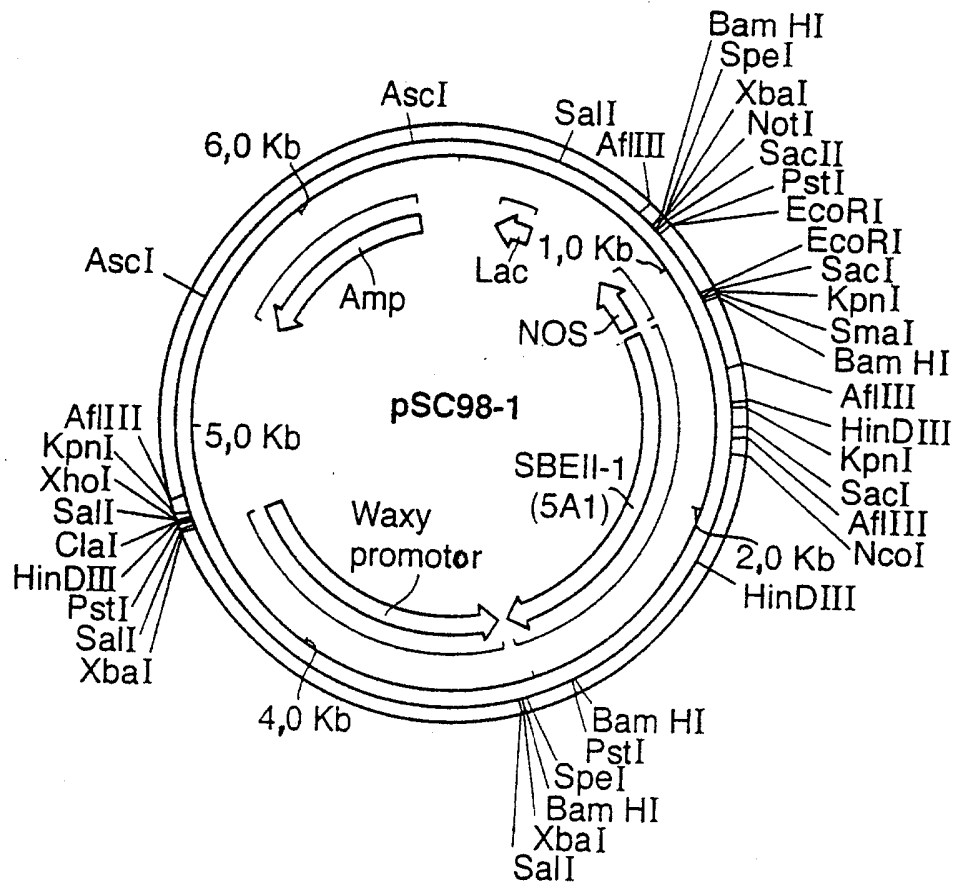


11.06.01

TV 2001-459

43935

Obr. 23

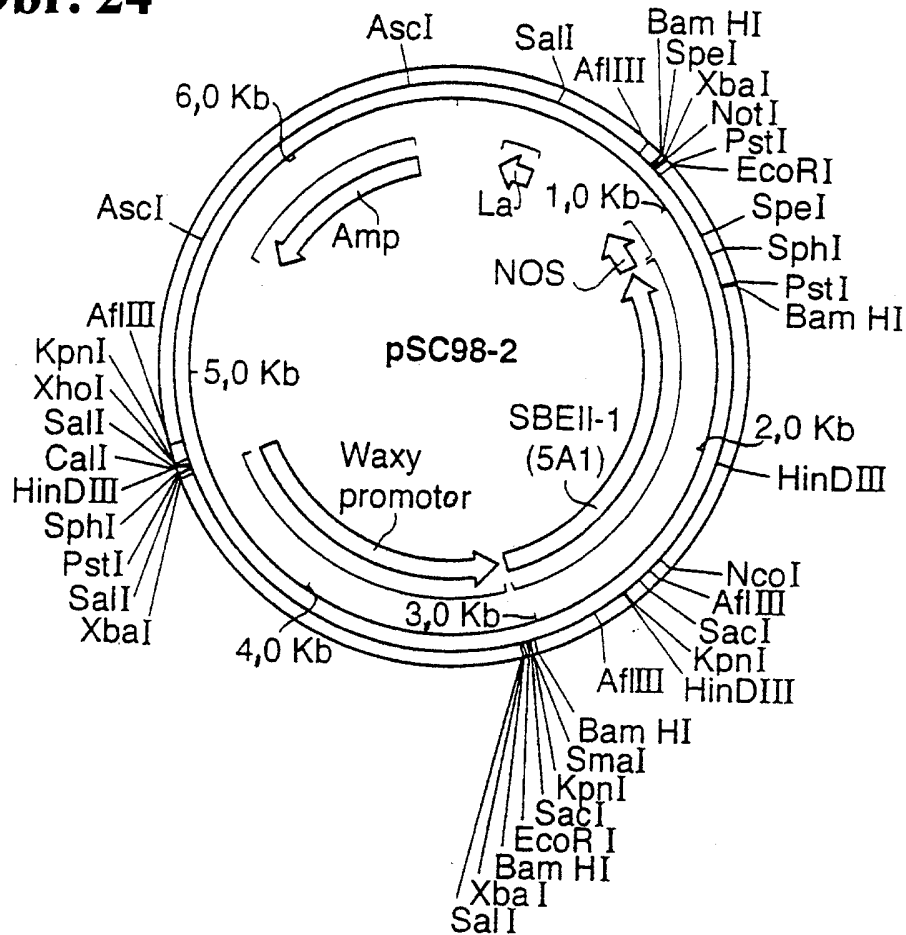


11.06.01

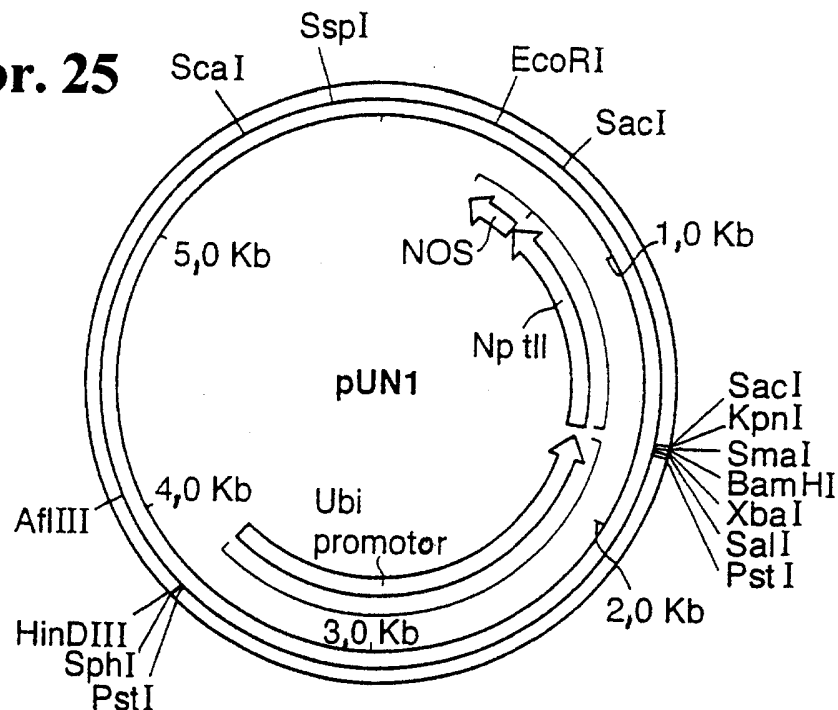
PV 2001-459

43935

Obr. 24



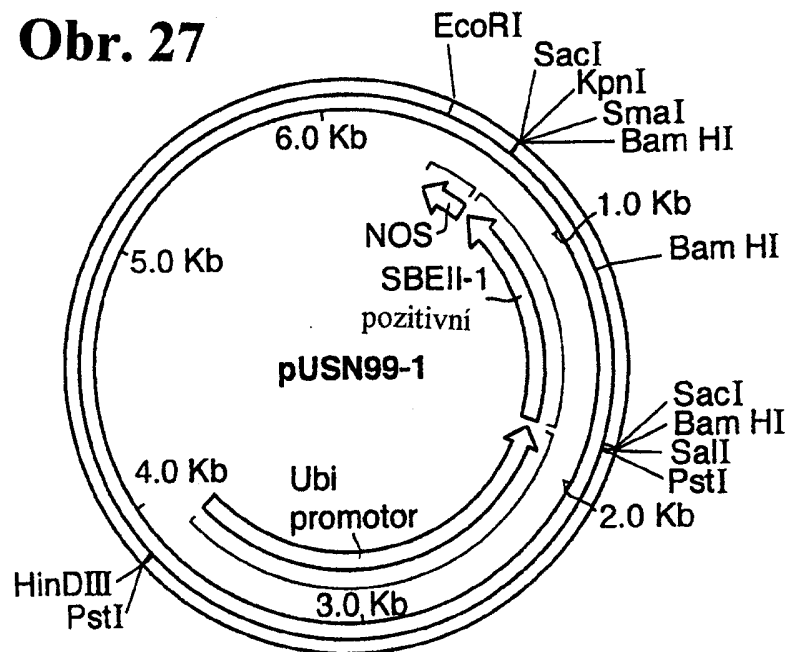
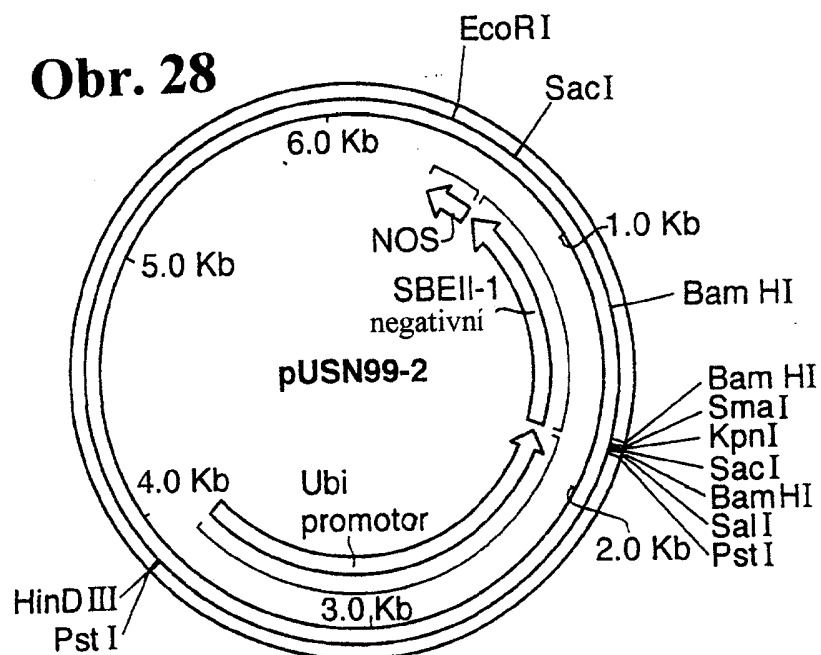
Obr. 25



Obr. 26

10	20	30	40	50	60
GAGCTCCGTT	TCGCATGATT	GAACAAGATG	GATTGCACGC	AGGTTCCTCCG	GCCGCTTGGG 60
TGGAGAGGCT	ATTCCGGCTAT	GACTGGGCAC	AACAGACAAT	CGGCTGCTCT	GATGCCGCCG 120
TGTTCCGGCT	GTCAGCGCAG	GGCGGCCCGG	TTCTTTTTGT	CAAGACCGAC	CTGTCCGGTG 180
CCCTGAATGA	ACTGCAGGAC	GAGGCAGCGC	GGCTATCGTG	GCTGGCCACG	ACGGCGGTTT 240
CTTGCGCAGC	TGTGCTCGAC	GTTGTCACTG	AAGCGGGAAG	GGACTGGCTG	CTATTGGGCG 300
310	320	330	340	350	360
AAGTGCCGGG	GCAGGATCTC	CTGTCACTC	ACCTTGCTCC	TGCCGAGAAA	GTATCCATCA 360
TGGCTGATGC	AATGCGGCGG	CTGCATACGC	TTGATCCGGC	TACCTGCCCA	TTCGACCACC 420
AAGCGAAACA	TCGCATCGAG	CGAGCACGTA	CTCGGATGGA	AGCCGGTCTT	GTCGATCAGG 480
ATGATCTGGA	CGAAGAGCAT	CAGGGGCTCG	CGCCAGCCGA	ACTGTTCCGC	AGGCTCAAGG 540
CGCGCATGCC	CGACGGCGAG	GATCTCGTCG	TGACCCCATGG	CGATGCCTGC	TTGCCGAATA 600
610	620	630	640	650	660
TCAATGGTGA	AAATGGCCCG	TTTTCTGGAT	TCATCGACTG	TGGCCGGCTG	GGTGTGGCGG 660
ACCGCTATCA	GGACATAGCG	TTGGCTACCC	GTGATATTGC	TGAAGAGCTT	GGCGGCGAAT 720
GGGCTGACCG	CTTCCCTCGTG	CTTTACGGTA	TCGCCGCTCC	CGATTGCGAG	CGCATCGCCT 780
TCTATCGCCT	TCTTGACGAG	TTCCTCTGAG	Ctc 813	(SEQ ID No: 35)	

110501
PV 2001-459
43935

Obr. 27**Obr. 28**

Obr. 29(i)

Pst I

Xba I

TTAGCTGAATCCGGCGCATGGCAAGGTAGACTGCAGTGCAGCGTGACCCGGTCGTGCCCTCTCTAGAGATAATGAGCA
AATCGACTTAGGCCCGCCGTACCGTTCATCTGACGTACGTCGCACCTGGGCCAGCACGGGAGAGATCTCTATTACTCGT 80

TTGCATGCTAAGTTATAAAAAATTACCACATAATTTTTTTGTACACTTGTIIGAAGTGCAGTTTATCTATCTTTATAC
AACGTACAGATTCAATATTTTTTAATGGTGATAAAAAAACAGTGTGAACAACTTCACGTCAATAGATAGATAAATATG 160

Sca I

ATATAITTAACITTTACTCTACGAATAATAATCTATAGTACTACAATAATATCAGIGTTTTAGAGAATCATATAAATG
TATATAAATTTGAAATGAGATGCTTATTATATTAGATATCATGATGTTATTATAGTCACAAAATCCTTAGTATATTAC 240

AACAGTTAGACATGGTCTAAGGACAATTGAGTATTTTGACAACAGGACTCTACAGTTTATCTTTTTAGTGTGCATGTG
TTGTCAATCTGTACCAGATTTCTGTAACTCATAAAACGTGTGCTCTGAGATGTCAAAATAGAAAAATCACACGTACAC 320

TTCTCCTTTTTTTTTTGCAATAGCTTCACCTATATAATACTTCATCCATTTTATTAGTACATCCATTTAGGGTTTAGG
AAGAGGAAAAAAAACGTTTATCGAAGTGGATATATTATGAAGTAGGTAAATAATCATGTAGGTAAATCCCAAAATCC 400

GTTAATGGTTTTTATAGACTAATTTTTTAGTACAATTTTTTATCTATTTTAGCCICTAAATTAAGAAAACTAAAACT
CAATTACCAAAAATATCTGATTAAAAAAATCATGTAGATAAAATAAGATAAAATCGGAGATTTAATCTTTTGATTITGA 480

CTATTTTAGTTTTTTTATTAATAATTTAGATATAAAATAGATAAAAAATAAGTGACTAAAAATTAACAAATACCCCTT
GATAAAATCAAAAAATAAATTATTAAATCTATATTTTATCTATTTTATTTCACGTATTTTAAATTTGTTATGGGAAA 560

1000

PV 2001-419
4393J

Obr. 29(ii)

AAGAAATTAAAAAACTAAGGAACATTTTCTTGTTCGAGTAGATAATGCCAGCCTGTTAAACGCCGTCGACGCAGTC
 TTCITTAATTTTTTGGATTCCCTTTGIAAAAGAACAAAGCTCATCTATTACGGTCGGACAATTTGCGGCAGCTGCGTCAG 640
 TAACGGACACCAACCAGCGAACCCAGCAGCGTCGCGTCGGGCCAAGGAAGCAGACGGGCATCTCTGCTGCCTGCCTC
 ATTGCCGTGGTGGTGGCTTGGTCTGCTGCGCAGCGCAGCCCGGTTCCGTTCCGTTCCGTTGCCGTGCCGTAGAGACAGCGACGGAG 720
 GGTACCGGACTTCGTCCGCTGTCCGCATCCAGAAATTGCGTGGCGGAGCGGCAGACGTGAGCCGGCAGCGCGGCCCT
 CCATGGCCTGAAGCAGGGCGACAGCCGTAGGTCTTTAACGCACCGCCTCGCCGCTCGCACTCGGCCGTGCCGTCCGCCCGGA 800
 CCTCCTCCTCTCAGGGCACCGGCAGCTACGGGGGATTCCCTTCCCACCGCTCCTTCGCTTTCCTTCCTCGCCCGCGTA
 GGAGGAGGAGAGTGCCGTGGCCGTGCGATGCCCCCTAAGGAAAGGGTGGCGAGGAAGCGAAAGGAGGCGGGCGGCAT 880
 ATAAATAGACACCCCTCCACACCCCTCTTCCCCAACCTCGTGTGTTCGGAGCGCACACACACCAACAGATCTCCCC
 TATTTATCTGTGGGGAGGTGTGGGAGAAAGGGTTGGAGCACAAACAGCCTCGCGTGTGTGTGTGTAGAGGGG 960
 CAATCCACCCGTCGGCACCTCCGCTTCAAGGTACGCCGCTCGTCCCTCCCCCCCCCTCTCTACCTTCTCTAGATCGGCGT
 GTTAGGTGGCAGCCGTGGAGGCGAAGTTCCATGCGGCGAGCAGAGGGGGGGGAGAGATGGAAGAGATCTAGCCGCA 1040
 TCCGGTCCATGGTTAGGGCCCGGTAGTTCTACTTCTGTTCATGTTTGTGTAGATCCGTTGTGTGTAGATCCGTGCTG
 AGGCCAGGTACCAATCCCCGGGCCATCAAGATGAAGACAAGTACAACACAATCTAGGCACAAACACAATCTAGGCACGAC 1120

Sal I

Kpn I

Xba I

Nco I

Sly I

Apa I

1:08:01

PI 2001 - 459

43935

Obr. 29(iii).

AII III

CTAGCGTTCGTACACGGATGCGACCTGTACGTACAGACACGGTCTCTGATTGCTAACTGCCAGTGTCTCTTTGGGGAATC
 GATCGCAAGCATGTGCCTACGCTGGACATGCAGTCTGTGCAAGACTAACGATTGAACGGTCAAAAGAGAAACCCCTTAG 1200

Cla I

CTGGGATGGCTCTAGCCGTTCGCGCAGACGGGATCGATTTCATGATTTTTTTTGTTCGTTCATAGGGTTTGGTTTGCCC
 GACCCCTACCGAGATCGGCAAGGCGTCTGCCCTAGCTAAAGTACTAAAAAACAAGCAACGTATCCCCAAACCAACCGGG 1280

TTTTCCITTTTCAATATAIGCCGGTGCACITGTTTGTGCGGTCATCTTTTCATGCTTTTTTTTGTCTTGTGTTGGAIGA
 AAAAGGAATAAAGTTATATACGGCACGTGAACAAACAGCCCCAGTAGAAAGTACGAAAAAACAAGAACCAACACTACT 1360

Xba I

EcoRI

TGTGGTCTGGTTGGGCGGTCTTAGATCGGAGTAGAACTCTGTTTCAAACTACCTGGTGGATTTATTAAATTTGGATC
 ACACCAGACCAACCCGCCAGCAAGATCTAGCCTCATCTTAAGACAAAGTTTGATGGACCACCTAAATAATTAAACCTAG 1440

Cla I

AII III

TGTAATGTGTGTCCTATACATATTCATAGTTACGAATTGAAGATGATGGATGGAATAATCGATCTAGGATAGGTATACATG
 ACATACACACACGGTATGTATAAGTATCAATGCTTAACCTCTACTACCTACCTTTTATAGCTAGATCCTATCCATATGTAC 1520

Nsi I

TTGATGCGGGTTTTTACIGATGCATATACAGAGAIGCTTTTGTTCGCTTGGTTGTGATGATGTGGTGGTGGGCGGTCG
 AACTACGCCCAAAATGACTACGTATAATGCTCTACGAAAAACAAGCGAACTACTACACCAACCAACCCGCCAGC 1600

1000

PV 2001-459
 43935

Obr. 29(iv)

Xba I

TTCATTCGTTCTAGATCGGAGTAGAATACIGTTTCAAACIACCIGGTGTTATTATTAAATTTGGAACIATGTGTGTGT
AAGTAAGCAAGAICTAGCCICTATCITTATGACAAAGTTTGATGGACCACATAAATAATTAAACCTTGACATACACACACA 1680

Cla I

Afl III

CATACATCTTCATAGTTACGAGTTTAAGATGGATGGAATATCGATCTAGGATAGGTATACATGTTGATGGGTTTAC
GIATGTAGAAGTATCAATGCTCAAATTCTACCTTATAGCTAGATCCTATCCATATGTACAACIACACCCCAAATG 1760

Nsi I

TGATGCATATACATGATGGCATATGCAGCAICTATTCATATGCTCTAACCTTGAGTACCTATCTATTATAATAACAAGT
ACTACGTATAIGTACTIACCGIATACGTCGTAGATAAGTATACGAGATTGGAACTCATGGATAGATAATATTATTGTTCA 1840

ATGTTTTATAATTATTTGATCTTGATATACITGGATGGCATATGCAGCAGCTATATGTGGATTTTTTAGCCCTGC
TACAAAATATTAAATAAAACTAGAACTATATGAACCTACTACCGTATACGTCGATATACACCTAAAAAAATCGGGACG 1920

Pst I

CTTCATACGCTATTATTGCTTGGTACTGTTTCTTTTGTGCGATGCTCACCCCTGTTGTTGGTGTACTTCTGCAGATGC
GAAGTATGCGATAAATAAACGAACCATGACAAAGAAACAGCTACGAGTGGGACAAACCAACCAATGAAGACGCTCTACG 2000

AGATCTTTGTGAAAACCCCTGACTGGCAAGACTATCACC

2038 (SEQ ID No : 52)

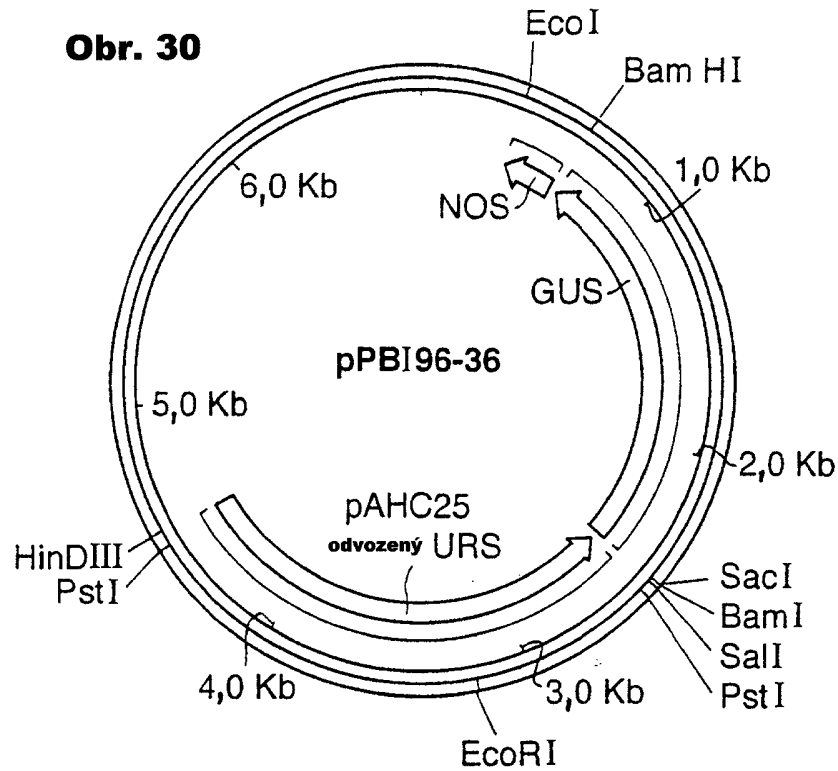
TCTAGAAACACTTTTGGGACTGACCGTTCTGATAGTGG

PV 2001-459 43935

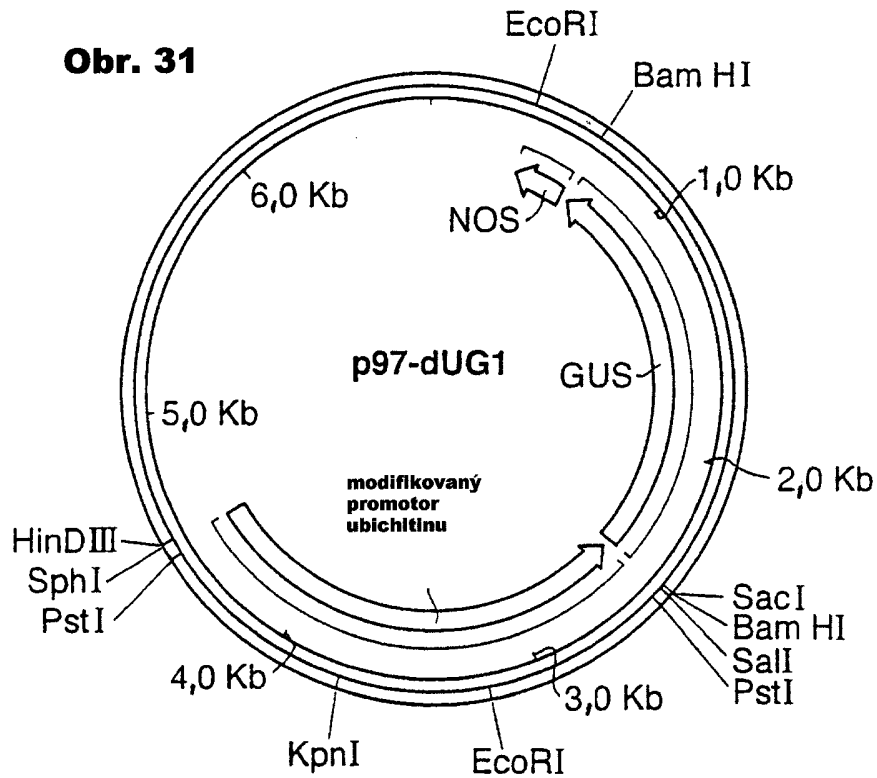
11.05.01 4393

PI 2001-409

Obr. 30



Obr. 31

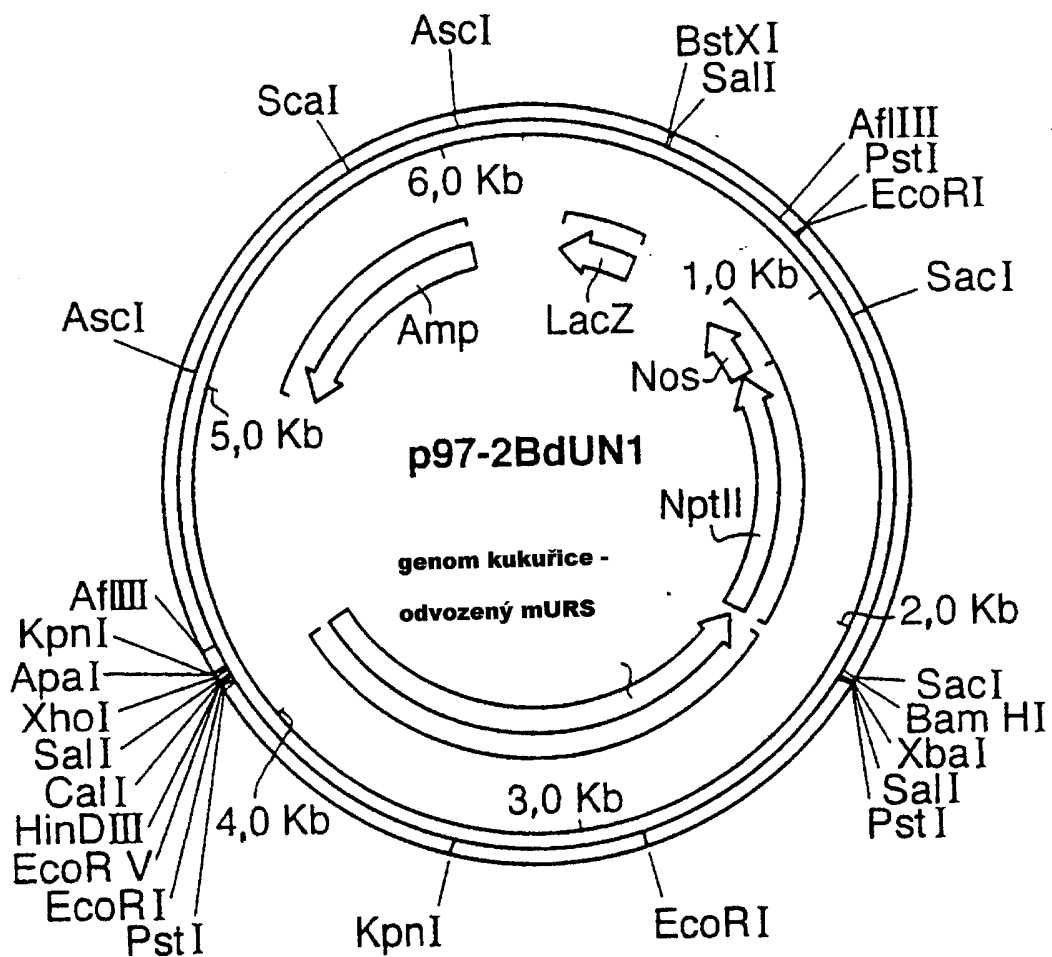


11.06.01

PV 2001-759

4393J

Obr. 32

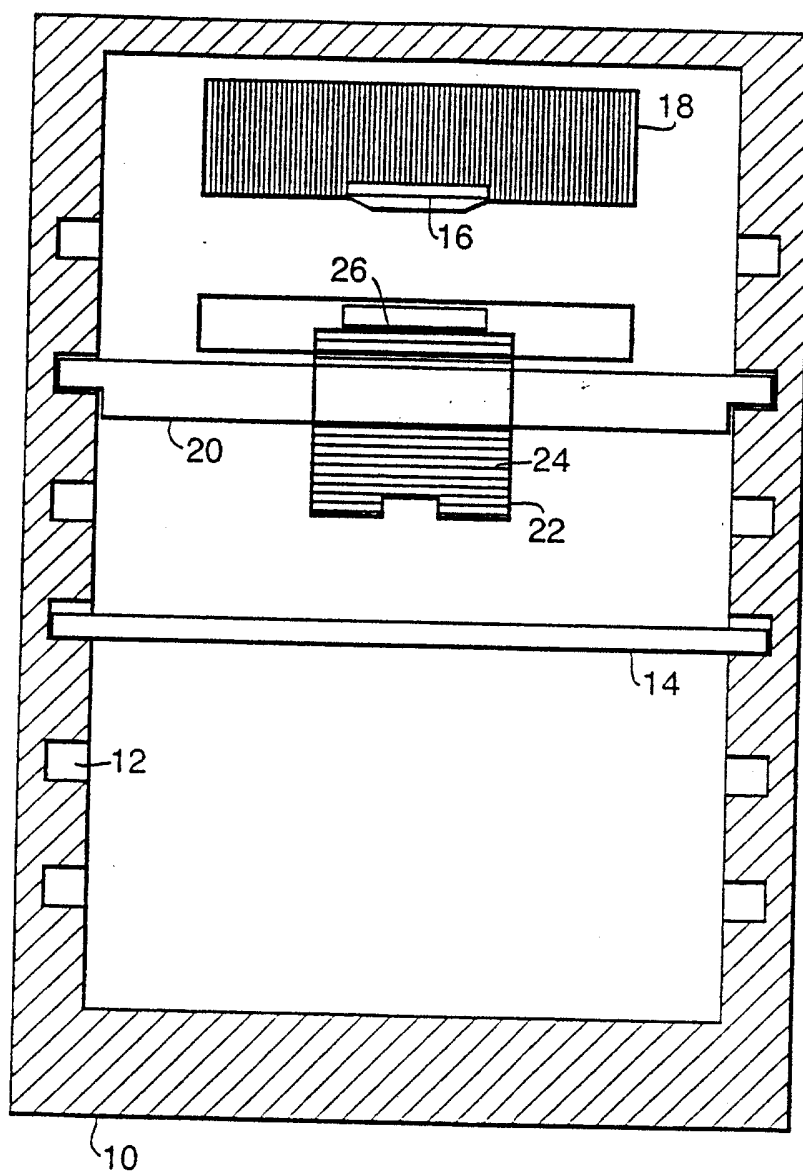


11.08.01

PV 2001-459

4393J

Obr. 33.

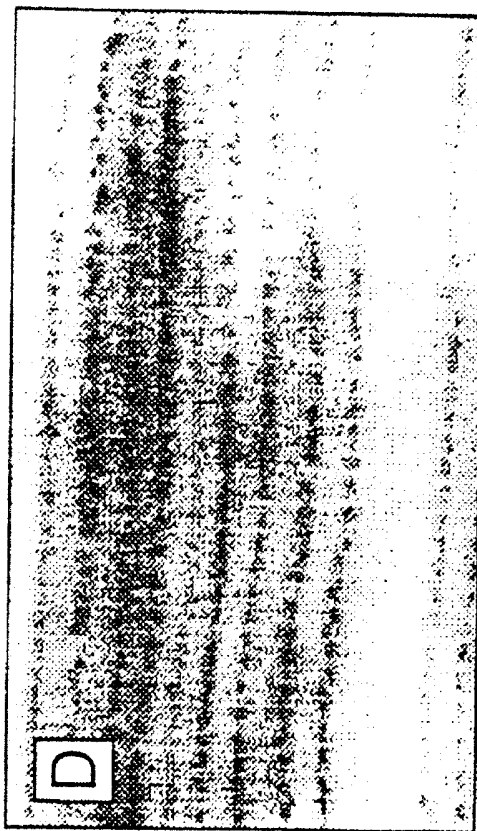
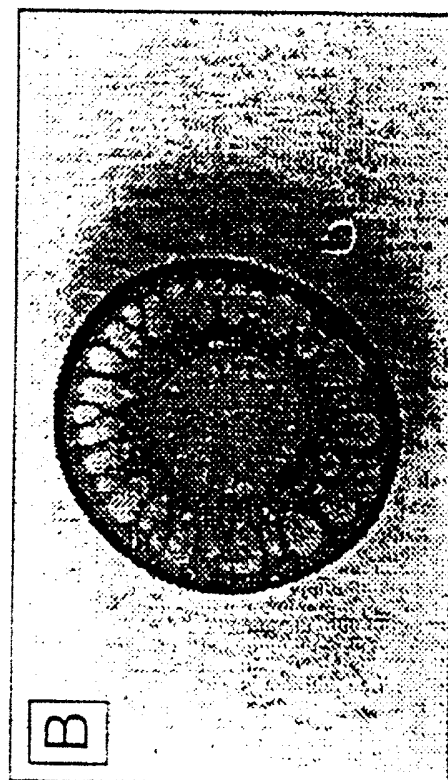
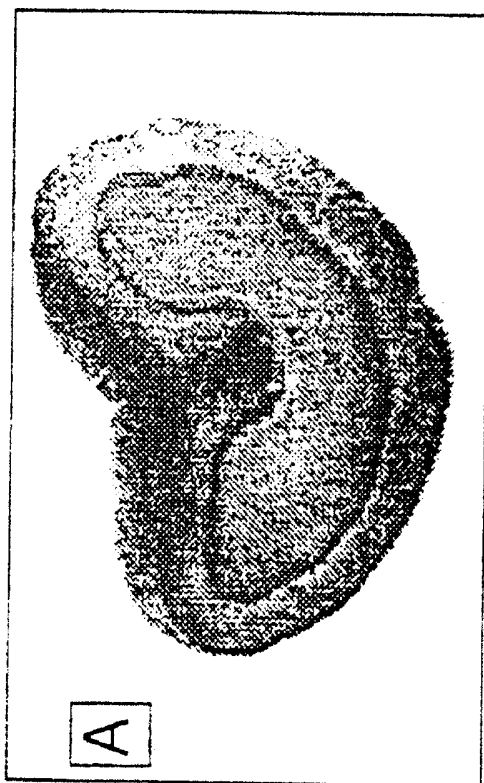


11.08.01

PN 2001-459

43935

Obr. 34

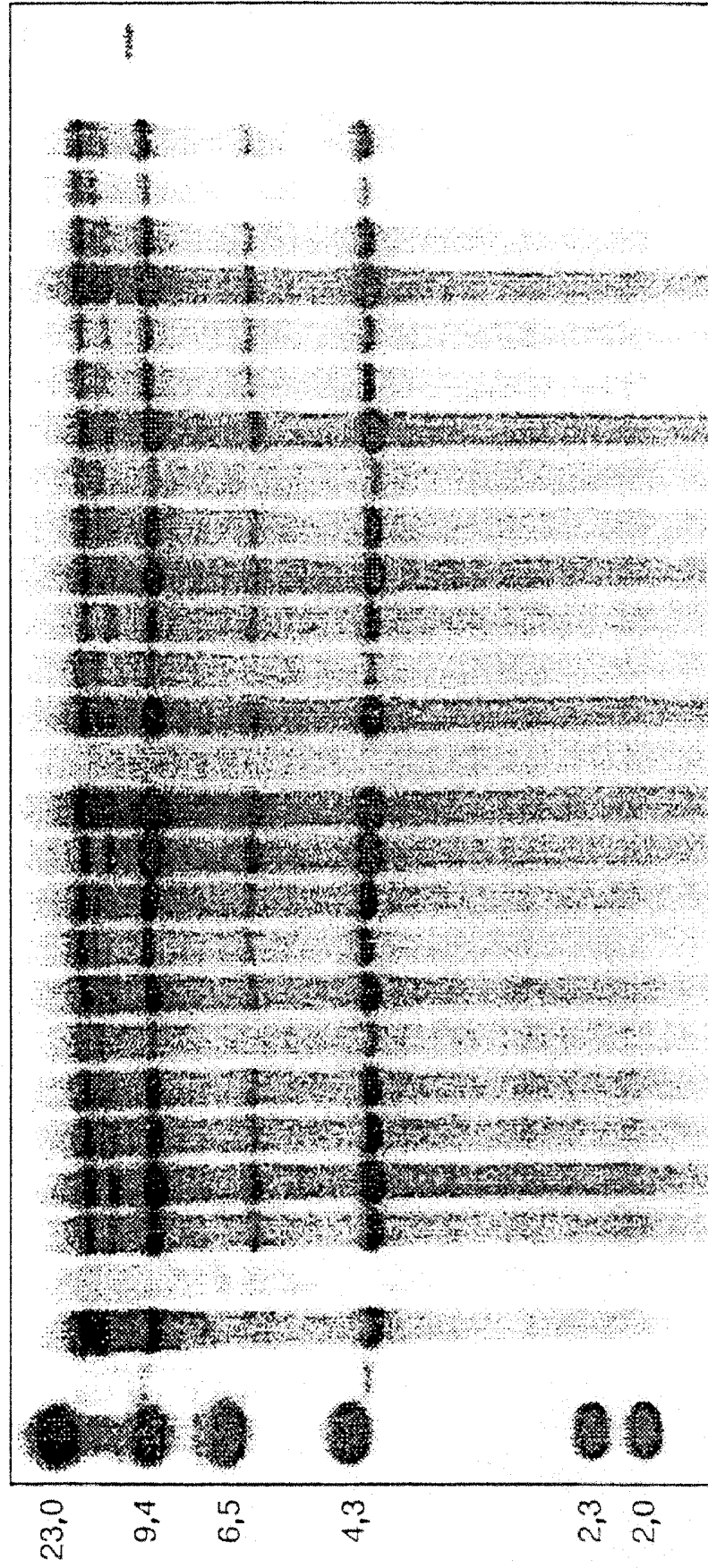


110801 43935
PV 2001-459

Obr. 35

Progeny

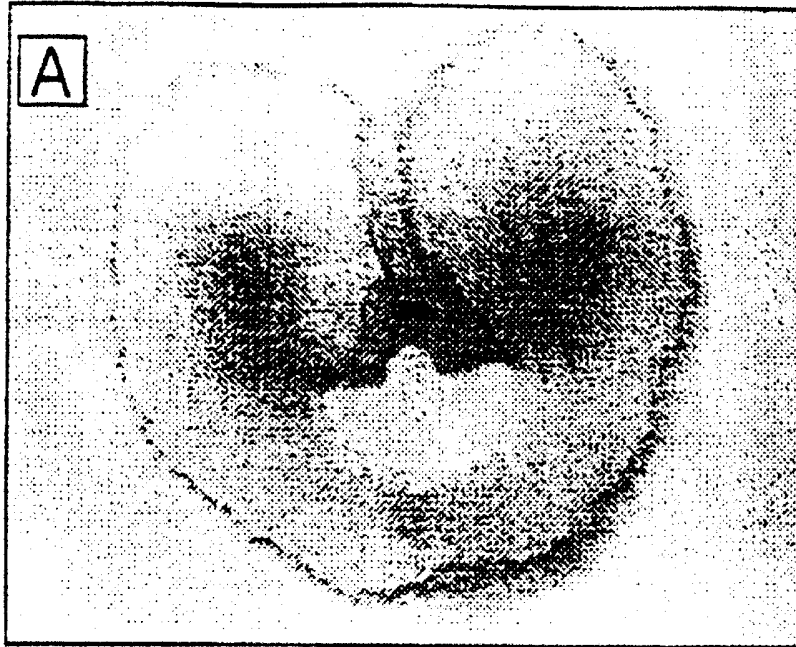
M P 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 P C



11.08.01 43935

PV 2001-459

Obr. 36

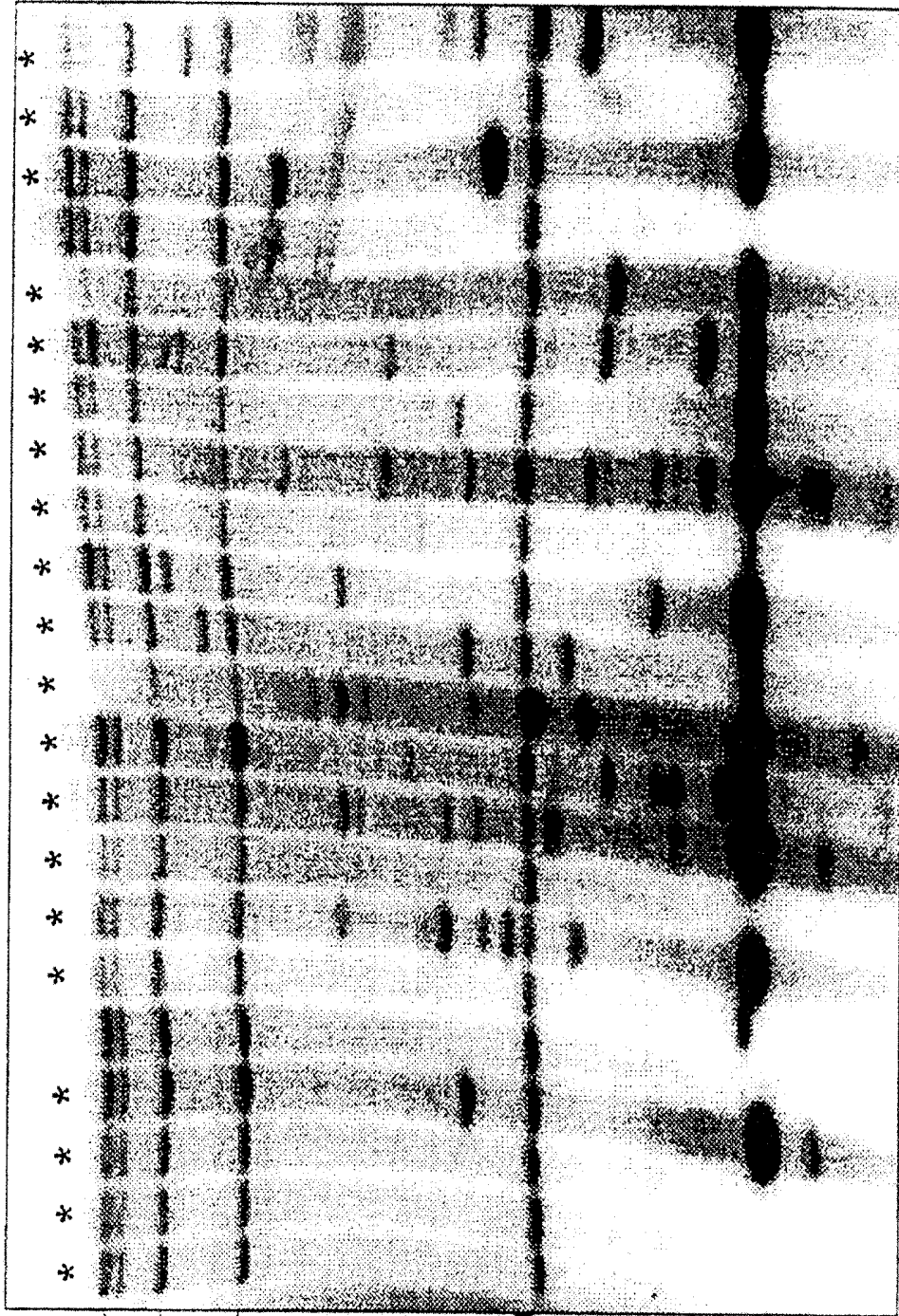


11.06.01

43935

PV 2001-759

Obr. 37



endogenni
SBEII-1
bendy

bend 1kb
plazmidu
SBEII-1

1 11.08.01

PV 2001-789

43935

Seznam sekvencí

<110> Plant Breeding international Cambridge Limited

<120> Zlepšení týkající se kompozice škrobu u rostlin

<130> C397.01/U

<140>

<141>

<150> EP 98307337.0

<151> 1998-09-10

<160> 55

<170> PatentIn Ver. 2.1

<210> 1

<211> 2307

<212> DNA

<213> Triticum aestivum

<400> 1

```
catygacggc cagtgcacttc gagctcggta cccgggggac cgatttggtg tgtgggagat 60
gttctttgcca aacaatgcag atggttcgcc accaatttcc caccggtcac gggtgaaggc 120
gagaatggat actocatctg ggataaagga ttcaatttcc gcttggatca agtactccgt 180
gcagactcca ggagatatac catacaatgg aatatattat gatcctcccg aagaggagaa 240
gtatgtattc aagcatcttc aacctaaacg accaaaatca ttgcggatat atgaaacaca 300
tgttggcatg agtagcccg gaaacaaagat caacacatat gcaaacttca gggatgaggc 360
gcttccaaga attaaaagac ttggatacaa tgcagtgcga ataattggca tccaggagca 420
ctcatactat ggaagctttg ggtaccatgt taccatttcc tttgcaccaa gtagccgttt 480
tgggtcccca gaagatttaa aatctttgat tgatagagct caccagcttg gcttggttgt 540
cctcatggat gttgttcaca gtcacgcgtc aaataatacc ttggacgggt tgaatggttt 600
tgatggcacg gatacacatt acttccatgg cggttcacgg ggccatcact ggatgtggga 660
ttcccggtgtg ttttaactat ggaataagga agttataagg tttctacttt ccaatgcaag 720
atgggtggcta gaggagtata agtttgatgg ttcccgatcc gatggcgcga cctccatgat 780
gtatacccat catggattac aagtaacctt tacaggaagc taccatgaat attttggttt 840
tgccactgat gtagatgcgg tcgtttactt gatgctgatg aatgatctaa ttcatgggtt 900
ttatcctgaa gccgtaacta tcggtgaaga tgtagtgga atgcctacat ttgcccttcc 960
tgttcaagtt ggtgggggtg gttttgacta tcgcttacat atggctgttg ccgacaaatg 1020
gattgaactt ctcaaaggaa acgatgaagc ttgggagatg ggtaatatg tgcacacact 1080
aacaaacaga aggtggccgg aaaagtgtgt tacttatgct gaaagtcacg atcaagcact 1140
ggttggagac aagactattg cattctgggt gatggacaag gatatgtatg atttcatggc 1200
tctgaacgga ccttcgacac ctagtattga tcgtggaata gcactgcata aaatgattag 1260
acttatcaca atgggttttag gaggagaggg ttatcttaac tttatgggaa atgagttcgg 1320
gcaccttgaa tggatagact ttccaagagg ccacacaagta cttccaactg gtaagttcat 1380
cccaggaaac aacaacagtt acgacaaatg ccgtcgaaga tttgaccagg gtgatgcaga 1440
```

atttcttagg tatcatggta tgcagcagtt tgatcaggcg atgcagcacc ttgaggaaaa 1500
 atatggcttt atgacatcag accaccagta cgtatctcgg aaacatgagg aagataaggt 1560
 gatcgtgttt gaaaaagggg acttggtatt tgtgttcaac ttccactgga gtaatagcta 1620
 tttcgactac cgggttggtt gtttaaagcc tgggaagtac aagggtgtct tagactcaga 1680
 cgccggactc tttggtggat ttggtaggat ccatcacact gcagagcact tcacttctga 1740
 ctgccaacat gacaacaggc cccattcggt ctcatgttac actcctagca gaacctgtgt 1800
 tgtctatgct ccaatgaact aaacagcaaa gtgcagcata cgcatgcacg ctgttggtgc 1860
 tagcactagc aagaaaaaat cgtatggtca atacaaccag gtgcaagggt taataagggt 1920
 ttgcttcaac gagtcttgga tagacaagac aacatgatga tgtgctctgt gctcccaa 1980
 tcccagggcg ttgtggagaa aaaatgctca tctgtgttat tttatggatc agggangaaa 2040
 cctcccccaa anaccctttt ttttttgaa agnggatag gccccggtn tctgcatntg 2100
 gatgctcct taaatntttg tagccataaa ccattgctag tgtcctntaa attgacagtt 2160
 tagaatagng gttntacttt tgtattttnt tttgacagt tagactgtat tctcaaaaa 2220
 atcgacatgt tgtttactcg aagntgagaa ataaaatcag agattgnagn aaaaaaaaaa 2280
 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaa 2307

<210> 2

<211> 758

<212> PRT

<213> *Triticum aestivum*

<400> 2

Ile Asp Gly Gln Leu Arg Ala Arg Tyr Pro Gly Ile Arg Phe Gly Val
 1 5 10 15

Trp Glu Met Phe Leu Pro Asn Asn Ala Asp Gly Ser Pro Pro Ile Pro
 20 25 30

His Gly Ser Arg Val Lys Val Arg Met Asp Thr Pro Ser Gly Ile Lys
 35 40 45

Asp Ser Ile Pro Ala Trp Ile Lys Tyr Ser Val Gln Thr Pro Gly Asp
 50 55 60

Ile Pro Tyr Asn Gly Ile Tyr Tyr Asp Pro Pro Glu Glu Glu Lys Tyr
 65 70 75 80

Val Phe Lys His Pro Gln Pro Lys Arg Pro Lys Ser Leu Arg Ile Tyr
 85 90 95

Glu Thr His Val Gly Met Ser Ser Pro Glu Pro Lys Ile Asn Thr Tyr
 100 105 110

Ala Asn Phe Arg Asp Glu Val Leu Pro Arg Ile Lys Arg Leu Gly Tyr
 115 120 125

Asn Ala Val Gln Ile Met Ala Ile Gln Glu His Ser Tyr Tyr Gly Ser
 130 135 140

110801

3

Phe Gly Tyr His Val Thr Asn Phe Phe Ala Pro Ser Ser Arg Phe Gly
 145 150 155 160

Ser Pro Glu Asp Leu Lys Ser Leu Ile Asp Arg Ala His Glu Leu Gly
 165 170 175

Leu Val Val Leu Met Asp Val Val His Ser His Ala Ser Asn Asn Thr
 180 185 190

Leu Asp Gly Leu Asn Gly Phe Asp Gly Thr Asp Thr His Tyr Phe His
 195 200 205

Gly Gly Ser Arg Gly His His Trp Met Trp Asp Ser Arg Val Phe Asn
 210 215 220

Tyr Gly Asn Lys Glu Val Ile Arg Phe Leu Leu Ser Asn Ala Arg Trp
 225 230 235 240

Trp Leu Glu Glu Tyr Lys Phe Asp Gly Phe Arg Phe Asp Gly Ala Thr
 245 250 255

Ser Met Met Tyr Thr His His Gly Leu Gln Val Thr Phe Thr Gly Ser
 260 265 270

Tyr His Glu Tyr Phe Gly Phe Ala Thr Asp Val Asp Ala Val Val Tyr
 275 280 285

Leu Met Leu Met Asn Asp Leu Ile His Gly Phe Tyr Pro Glu Ala Val
 290 295 300

Thr Ile Gly Glu Asp Val Ser Gly Met Pro Thr Phe Ala Leu Pro Val
 305 310 315 320

Gln Val Gly Gly Val Gly Phe Asp Tyr Arg Leu His Met Ala Val Ala
 325 330 335

Asp Lys Trp Ile Glu Leu Leu Lys Gly Asn Asp Glu Ala Trp Glu Met
 340 345 350

Gly Asn Ile Val His Thr Leu Thr Asn Arg Arg Trp Pro Glu Lys Cys
 355 360 365

Val Thr Tyr Ala Glu Ser His Asp Gln Ala Leu Val Gly Asp Lys Thr
 370 375 380

Ile Ala Phe Trp Leu Met Asp Lys Asp Met Tyr Asp Phe Met Ala Leu
 385 390 395 400

110801

4

Asn Gly Pro Ser Thr Pro Ser Ile Asp Arg Gly Ile Ala Leu His Lys	405	410	415
Met Ile Arg Leu Ile Thr Met Gly Leu Gly Gly Glu Gly Tyr Leu Asn	420	425	430
Phe Met Gly Asn Glu Phe Gly His Pro Glu Trp Ile Asp Phe Pro Arg	435	440	445
Gly Pro Gln Val Leu Pro Thr Gly Lys Phe Ile Pro Gly Asn Asn Asn	450	455	460
Ser Tyr Asp Lys Cys Arg Arg Arg Phe Asp Gln Gly Asp Ala Glu Phe	465	470	475
Leu Arg Tyr His Gly Met Gln Gln Phe Asp Gln Ala Met Gln His Leu	485	490	495
Glu Glu Lys Tyr Gly Phe Met Thr Ser Asp His Gln Tyr Val Ser Arg	500	505	510
Lys His Glu Glu Asp Lys Val Ile Val Phe Glu Lys Gly Asp Leu Val	515	520	525
Phe Val Phe Asn Phe His Trp Ser Asn Ser Tyr Phe Asp Tyr Arg Val	530	535	540
Gly Cys Leu Lys Pro Gly Lys Tyr Lys Val Val Leu Asp Ser Asp Ala	545	550	555
Gly Leu Phe Gly Gly Phe Gly Arg Ile His His Thr Ala Glu His Phe	565	570	575
Thr Ser Asp Cys Gln His Asp Asn Arg Pro His Ser Phe Ser Val Tyr	580	585	590
Thr Pro Ser Arg Thr Cys Val Val Tyr Ala Pro Met Asn Thr Ala Lys	595	600	605
Cys Ser Ile Arg Met His Ala Val Val Ala Ser Thr Ser Lys Lys Lys	610	615	620
Ser Tyr Gly Gln Tyr Asn Gln Val Gln Gly Leu Ile Arg Val Cys Phe	625	630	635
Asn Glu Ser Trp Ile Asp Lys Thr Thr Cys Ala Leu Cys Ser Gln Ile	645	650	655

Pro Arg Ala Leu Trp Arg Lys Asn Ala His Leu Cys Tyr Phe Met Asp
 660 665 670

Gln Gly Xaa Asn Leu Pro Gln Xaa Pro Leu Phe Phe Leu Lys Gly Gly
 675 680 685

Ala Pro Gly Xaa Cys Xaa Trp Met Pro Pro Xaa Phe Val Ala Ile Asn
 690 695 700

His Cys Cys Pro Xaa Asn Gln Phe Arg Ile Xaa Val Xaa Leu Leu Tyr
 705 710 715 720

Phe Xaa Phe Asp Ser Thr Val Phe Leu Lys Ser Thr Cys Cys Leu Leu
 725 730 735

Glu Xaa Glu Lys Asn Gln Arg Leu Xaa Xaa Lys Lys Lys Lys Lys Lys
 740 745 750

Lys Lys Lys Lys Lys Asn
 755

<210> 3

<211> 1036

<212> DNA

<213> Triticum aestivum

<400> 3

atgtatgatt tcatggctct gaacggacct tcgacgccta atattgatcg tggaatagca 60
 ctgcataaaa tgattanact taccacaatg ggtttaggcg gagaggggta tcttaacttt 120
 atgggaaatg agttcgggca tcctgaatgg atagactttc caagaggccc acaagtactt 180
 ccaagtggta agttcatccc aggaaacagc aacagttacg acaaatgccg tcgaagattt 240
 gacctgggtg atgcagaatt tcttaggtat catgggtatgc agcagtttga tcaggcaatg 300
 cagcatcttg aggaaaaata tggttttatg acatcagacc accagtacgt atctcggaaa 360
 cacgaggaag ataaggtgat cgtgtttgaa aaaggggact tggatattgt gttcaacttc 420
 cactggagta atagctatct cgactaccgg gtcggctgtt taaagcctgg gaagtacaag 480
 gtggtcttag actcagacgc tggactcttt ggtggatttg gtaggatcca tcacactgca 540
 gagcacttca cttctgactg ccaacatgac aacaggcccc attcgtttctc agtgtactt 600
 cctagcagaa cctgtgttgt ctatgctcca atgaactaac agcaagggtgc agcatacgcg 660
 tgcgcgctgt tgttgctagt agcaagaaaa atcgtacggt caatacagcc aggtgcaagg 720
 ttttaataagg attttttgct tcaacgagtc ctggatagac aagacaacat gatgttgtgg 780
 cgtgtgctcc caatccccag ggcgttgtga agaaaacatg ctcactctgtg ttatgatttt 840
 atggatcagc gacgaaactt cccccaataa cccatgcctc cttaaatctt tgtggccgta 900
 aaccattgct agtgtcctct aaattgacag tttagcatag aggttttact tttgtatctt 960
 ctttttgaca gttagacttt attcctcaaa taatcgacca gtcgtttact cgaaaaaaaa 1020
 aaaaaaaaaa aaaaan 1036

<210> 4

<211> 1087

<212> DNA

<213> *Triticum aestivum*

<400> 4

```

atgtatgatt tcatggctct gaacggacct tcgacacctt atattgatcg tggaatagca 60
ctgcataaaa tgattagact tatcacaatg ggttttaggag gagaggggta tcttaacttt 120
atgggaaatg agttcgggca tcttgaatgg atagactttc caagaggccc acaagtactt 180
ccaactggta agttcatccc nngaaacaac aacagttacg acaaatgccg tcgaaaattt 240
gacctgggtg atgcagaatt tcttaggtat catggtatgc agcagtttga tcaggcgatg 300
cagcatcttg aggaaaaata tggcttttatg acatcagacc accagtacgt atctcggaaa 360
catgaggaag ataaggtgat cgtgtttgaa aaaggggact tggattttgt gttcaacttc 420
cactggagta atagctatct cggctaccgg gttggctgtt taaagcctgg gaagtacaag 480
gttgtcttag actcagacgc cggactcttt ggtggatttg gtaggatcca tcacactgca 540
gagcacttca cttctgactg ccaacatgac aacaggcccc attcgttctc agtgtagact 600
cctagcagaa cctgtgttgt ctatgctcca atgaactaaa cagcaaagtg cagcatatcg 660
atgcacgctg tggttgctag cactagcaag aaaaaatcgt atggtaata caaccaggtg 720
caagggttaa taagggtttt tgcttcaacg agtcctggat agacaagaca acatgatgat 780
gtgctctgtg ctcccaaatt ccagggcgct tgnngggaaa acatgctcat ctgtgttata 840
atcttatgga tcagnngga aacctcccc aaatacccat gcctccttaa acctttgtgg 900
tcctaaacca tggctactat cctctaaatt ggcagtttag catagaggtt ttacttttgt 960
aaatcttttt tgacagttaa tagactctat tctctaaata attgacatgt cctttacaag 1020
aagatgagaa ataaaatcag ggattgaaga atcccaaaag ctaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1080
aaaaaaaaa

```

1087

<210> 5

<211> 1120

<212> DNA

<213> *Triticum aestivum*

<400> 5

```

atgtatgatt tcatggcgtc gaacggacct tcgacgccta atattgatcg tggaatagca 60
ctgcataaaa tgattagact tatcacaatg ggtctaggag gagaggggta tcttaacttt 120
atgggaaatg agttcgggca tcttgaatgg atagactttc caagaggccc acaagtactt 180
ccaagtggta agttcatccc aggaacaac aacagttacg acaaatgccg tcgaagattt 240
gacctgggtg atgcagaatt tcttaggtat catggtatgc agcagtttga tcaggcaatg 300
cagcatcttg aggaaaaata tggtttttatg acatcagacc accagtacgt ttctcggaaa 360
catgaggaag ataaggtgat cgtgtttgaa aaaggggact tggattttgt gttcaacttc 420
cactggagta gtagctatct cgactaccgg gtcggctgtt taaagcctgg gaagtacaag 480
gtggtcttag actcggacgc tggactcttt ggtggatttg gtaggatcca tcacactgca 540
gagcacttca cttctgactg ccaacatgac aacaggcccc attcattctc agtgtagact 600
cctagcagaa cctgtgttgt ctatgctcca atgaactaac agcaaagtgc agcatatcgc 660
tgcgcgctgt tgttgctagt agcaagaaaa atcgtatggt caatacaacc aggtgcaagg 720
tttaataagg atttttgctt caacgagtcc tggatagaca agacaacatg atgttgtgct 780
gtgtgtctcc aatccccagg gngttgtgaa gaaaacatgc tcatctgtgt tattttatgg 840
atcagggang aaacctcccc caaanacccc tttttttttt gaaagngnga taggcccccg 900
gtntctgcat ntggatgcct ccttaaatnt ttgtagccat aaaccattgc tagtgtctn 960

```

11.05.01

7

taaattgaca gtttagaata gnggttntac ttttgtatnt tntttttgac agtttagactg 1020
tattcctcaa ataatcgaca tgttgtttac tcgaagntga gaaataaaaat cagagattgn 1080
agnaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1120

<210> 6

<211> 979

<212> DNA

<213> Triticum aestivum

<400> 6

atatgtatga tttcatggct ctggataggc cttcaactcc tcgcattgat cgtggcatag 60
cattacataa aatgatcagg cttgtcacca tgggttttagg tggatgaaggc tatcttaact 120
tcatgggaaa tgagtttggg catcctgaat ggatagattt tccaagaggc ccacaaactc 180
ttccaaccgg caaagtcttc cctggaaata acaatagtta tgataaatgc cgccatagat 240
ttgatcttgg agatgcagat tttcttagat atcgtggtat gcaagagttc gatcaggcaa 300
tgcagcatct tgaggaaaaa tatgggttta tgacatctga gcaccagtat gtttcacgga 360
aacatgagga agataagggtg atcttcttcg aaagaggaga tttggtatnt gttttcaact 420
tccactggag caatagcttt tttgactacc gtgttgggtg ttccaagcct gggaagtaca 480
aggtggcctt ggactccgac gatgcactct ttggtggatt cagcaggctt gatcatgatg 540
tcgactactt cacaaccgaa catccgcatg acaacaggcc gcactcttcc tcggtgtaca 600
ctccgagcag aactgcggtc gtgtatgccc ttacagagta agaaccagca gcggcttgtt 660
acaaggcaaa gagagaactc cagagagctc gtggatcgtg agcgaagcga cgggcaacgg 720
cgcgaggctg ctccaagcgc catgactggg aggggatcgt gcntcttccc cagatgccag 780
gaggagcaga tggataggtta gcttgttggg gagcgctcga aagaaaatgg acgggcctgg 840
gtgtttgttg tgctgactg aaccctcttc ctatcttgca cattcccggt tgtttttgta 900
catataacta ataattgccg gtgcgcttca acatgaacat ataaatattc taataggtta 960
aaaaaaaaa aaaaaaaaaa 979

<210> 7

<211> 212

<212> PRT

<213> Triticum aestivum

<400> 7

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

11.06.01

8

Asp Leu Gly Asp Ala Glu Phe Leu Arg Tyr His Gly Met Gln Gln Phe
85 90 95

Asp Gln Ala Met Gln His Leu Glu Glu Lys Tyr Gly Phe Met Thr Ser
100 105 110

Asp His Gln Tyr Val Ser Arg Lys His Glu Glu Asp Lys Val Ile Val
115 120 125

Phe Glu Lys Gly Asp Leu Val Phe Val Phe Asn Phe His Trp Ser Asn
130 135 140

Ser Tyr Phe Asp Tyr Arg Val Gly Cys Leu Lys Pro Gly Lys Tyr Lys
145 150 155 160

Val Val Leu Asp Ser Asp Ala Gly Leu Phe Gly Gly Phe Gly Arg Ile
165 170 175

His His Thr Ala Glu His Phe Thr Ser Asp Cys Gln His Asp Asn Arg
180 185 190

Pro His Ser Phe Ser Val Tyr Thr Pro Ser Arg Thr Cys Val Val Tyr
195 200 205

Ala Pro Met Asn
210

<210> 8

<211> 378

<212> DNA

<213> Triticum aestivum

<400> 8

actaacagca aggtgcagca tacgcgtgcg cgctgttggt gctagtagca agaaaaatcg 60
tacggtcaat acagccaggt gcaagggttta ataaggattt ttgcttcaa cgagtcctgg 120
atagacaaga caacatgatg ttgtggcgtg tgctcccaat cccagggcg ttgtgaagaa 180
aacatgctca tctgtgttat gattttatgg atcagcgacg aaacttcccc caaatacca 240
tgcttcttta aatctttgtg gccgtaaac attgctagtg tcttctaaat tgacagtta 300
gcatagaggt ttacttttg tatcttcttt ttgacagtta gactttattc ctcaaataat 360
cgaccagtcg ttactcg 378

<210> 9

<211> 449

<212> DNA

<213> Triticum aestivum

Arg Ile Tyr Glu Thr His Val Gly Met Ser Ser Pro Glu Pro Lys Ile
85 90 95

11.08.01

10

Asn Thr Tyr Ala Asn Phe Arg Asp Glu Val Leu Pro Arg Ile Lys Arg		
100	105	110
Leu Gly Tyr Asn Ala Val Gln Ile Met Ala Ile Gln Glu His Ser Tyr		
115	120	125
Tyr Gly Ser Phe Gly Tyr His Val Thr Asn Phe Phe Ala Pro Ser Ser		
130	135	140
Arg Phe Gly Ser Pro Glu Asp Leu Lys Ser Leu Ile Asp Arg Ala His		
145	150	155 160
Glu Leu Gly Leu Val Val Leu Met Asp Val Val His Ser His Ala Ser		
165	170	175
Asn Asn Thr Leu Asp Gly Leu Asn Gly Phe Asp Gly Thr Asp Thr His		
180	185	190
Tyr Phe His Gly Gly Ser Arg Gly His His Trp Met Trp Asp Ser Arg		
195	200	205
Val Phe Asn Tyr Gly Asn Lys Glu Val Ile Arg Phe Leu Leu Ser Asn		
210	215	220
Ala Arg Trp Trp Leu Glu Glu Tyr Lys Phe Asp Gly Phe Arg Phe Asp		
225	230	235 240
Gly Ala Thr Ser Met Met Tyr Thr His His Gly Leu Gln Val Thr Phe		
245	250	255
Thr Gly Ser Tyr His Glu Tyr Phe Gly Phe Ala Thr Asp Val Asp Ala		
260	265	270
Val Val Tyr Leu Met Leu Met Asn Asp Leu Ile His Gly Phe Tyr Pro		
275	280	285
Glu Ala Val Thr Ile Gly Glu Asp Val Ser Gly Met Pro Thr Phe Ala		
290	295	300
Leu Pro Val Gln Val Gly Gly Val Gly Phe Asp Tyr Arg Leu His Met		
305	310	315 320
Ala Val Ala Asp Lys Trp Ile Glu Leu Leu Lys Gly Asn Asp Glu Ala		
325	330	335
Trp Glu Met Gly Asn Ile Val His Thr Leu Thr Asn Arg Arg Trp Pro		
340	345	350

11.06.01

11

Glu Lys Cys Val Thr Tyr Ala Glu Ser His Asp Gln Ala Leu Val Gly
 355 360 365

Asp Lys Thr Ile Ala Phe Trp Leu Met Asp Lys Asp Met Tyr Asp Phe
 370 375 380

Met Ala Leu Asn Gly Pro Ser Thr Pro Ser Ile Asp Arg Gly Ile Ala
 385 390 395 400

Leu His Lys Met Ile Arg Leu Ile Thr Met Gly Leu Gly Gly Glu Gly
 405 410 415

Tyr Leu Asn Phe Met Gly Asn Glu Phe Gly His Pro Glu Trp Ile Asp
 420 425 430

Phe Pro Arg Gly Pro Gln Val Leu Pro Thr Gly Lys Phe Ile Pro Gly
 435 440 445

Asn Asn Asn Ser Tyr Asp Lys Cys Arg Arg Arg Phe Asp Gln Gly Asp
 450 455 460

Ala Glu Phe Leu Arg Tyr His Gly Met Gln Gln Phe Asp Gln Ala Met
 465 470 475 480

Gln His Leu Glu Glu Lys Tyr Gly Phe Met Thr Ser Asp His Gln Tyr
 485 490 495

Val Ser Arg Lys His Glu Glu Asp Lys Val Ile Val Phe Glu Lys Gly
 500 505 510

Asp Leu Val Phe Val Phe Asn Phe His Trp Ser Asn Ser Tyr Phe Asp
 515 520 525

Tyr Arg Val Gly Cys Leu Lys Pro Gly Lys Tyr Lys Val Val Leu Asp
 530 535 540

Ser Asp Ala Gly Leu Phe Gly Gly Phe Gly Arg Ile His His Thr Ala
 545 550 555 560

Glu His Phe Thr Ser Asp Cys Gln His Asp Asn Arg Pro His Ser Phe
 565 570 575

Ser Val Tyr Thr Pro Ser Arg Thr Cys Val Val Tyr Ala Pro Met Asn
 580 585 590

11.08.01

12

<210> 12

<211> 771

<212> PRT

<213> Triticum aestivum

<400> 12

Ser Arg Ala Ala Ser Pro Gly Lys Val Leu Val Pro Asp Gly Glu Ser
 1 5 10 15

Asp Asp Leu Ala Ser Pro Ala Gln Pro Glu Glu Leu Gln Ile Pro Glu
 20 25 30

Asp Ile Glu Glu Gln Thr Ala Glu Val Asn Met Thr Gly Gly Thr Ala
 35 40 45

Glu Lys Leu Glu Ser Ser Glu Pro Thr Gln Gly Ile Val Glu Thr Ile
 50 55 60

Thr Asp Gly Val Thr Lys Gly Val Lys Glu Leu Val Val Gly Glu Lys
 65 70 75 80

Pro Arg Val Val Pro Lys Pro Gly Asp Gly Gln Lys Ile Tyr Glu Ile
 85 90 95

Asp Pro Thr Leu Lys Asp Phe Arg Ser His Leu Asp Tyr Arg Tyr Ser
 100 105 110

Glu Tyr Arg Arg Ile Arg Ala Ala Ile Asp Gln His Glu Gly Gly Leu
 115 120 125

Glu Ala Phe Ser Arg Gly Tyr Glu Lys Leu Gly Phe Thr Arg Ser Ala
 130 135 140

Glu Gly Ile Thr Tyr Arg Glu Trp Ala Pro Gly Ala His Ser Ala Ala
 145 150 155 160

Leu Val Gly Asp Phe Asn Asn Trp Asn Pro Asn Ala Asp Thr Met Thr
 165 170 175

Arg Asp Asp Tyr Gly Val Trp Glu Ile Phe Leu Pro Asn Asn Ala Asp
 180 185 190

Gly Ser Pro Ala Ile Pro His Gly Ser Arg Val Lys Ile Arg Met Asp
 195 200 205

Thr Pro Ser Gly Val Lys Asp Ser Ile Ser Ala Trp Ile Lys Phe Ser

11.08.01

13

210	215	220
Val Gln Ala Pro Gly Glu Ile Pro Phe Asn Gly Ile Tyr Tyr Asp Pro		
225	230	235 240
Pro Glu Glu Glu Lys Tyr Val Phe Gln His Pro Gln Pro Lys Arg Pro		
245	250	255
Glu Ser Leu Arg Ile Tyr Glu Ser His Ile Gly Met Ser Ser Pro Glu		
260	265	270
Pro Lys Ile Asn Ser Tyr Ala Asn Phe Arg Asp Glu Val Leu Pro Arg		
275	280	285
Ile Lys Arg Leu Gly Tyr Asn Ala Val Gln Ile Met Ala Ile Gln Glu		
290	295	300
His Ser Tyr Tyr Ala Ser Phe Gly Tyr His Val Thr Asn Phe Phe Ala		
305	310	315 320
Pro Ser Ser Arg Phe Gly Thr Pro Glu Asp Leu Lys Ser Leu Ile Asp		
325	330	335
Arg Ala His Glu Leu Gly Leu Ile Val Leu Met Asp Ile Val His Ser		
340	345	350
His Ser Ser Asn Asn Thr Leu Asp Gly Leu Asn Gly Phe Asp Gly Thr		
355	360	365
Asp Thr His Tyr Phe His Gly Gly Pro Arg Gly His His Trp Met Trp		
370	375	380
Asp Ser Arg Leu Phe Asn Tyr Gly Ser Trp Glu Val Leu Arg Phe Leu		
385	390	395 400
Leu Ser Asn Ala Arg Trp Trp Leu Glu Glu Tyr Lys Phe Asp Gly Phe		
405	410	415
Arg Phe Asp Gly Val Thr Ser Met Met Tyr Thr His His Gly Leu Gln		
420	425	430
Met Thr Phe Thr Gly Asn Tyr Gly Glu Tyr Phe Gly Phe Ala Thr Asp		
435	440	445
Val Asp Ala Val Val Tyr Leu Met Leu Val Asn Asp Leu Ile His Gly		
450	455	460
Leu His Pro Asp Ala Val Ser Ile Gly Glu Asp Val Ser Gly Met Pro		

11.08.01

14

465		470		475		480
Thr Phe Cys Ile Pro Val Pro Asp Gly Gly Val Gly Leu Asp Tyr Arg						
	485		490		495	
Leu His Met Ala Val Ala Asp Lys Trp Ile Glu Leu Leu Lys Gln Ser						
	500		505		510	
Asp Glu Ser Trp Lys Met Gly Asp Ile Val His Thr Leu Thr Asn Arg						
	515		520		525	
Arg Trp Leu Glu Lys Cys Val Thr Tyr Ala Glu Ser His Asp Gln Ala						
	530		535		540	
Leu Val Gly Asp Lys Thr Ile Ala Phe Trp Leu Met Asp Lys Asp Met						
	545		550		555	560
Tyr Asp Phe Met Ala Leu Asp Arg Pro Ser Thr Pro Arg Ile Asp Arg						
	565		570		575	
Gly Ile Ala Leu His Lys Met Ile Arg Leu Val Thr Met Gly Leu Gly						
	580		585		590	
Gly Glu Gly Tyr Leu Asn Phe Met Gly Asn Glu Phe Gly His Pro Glu						
	595		600		605	
Trp Ile Asp Phe Pro Arg Gly Pro Gln Thr Leu Pro Thr Gly Lys Val						
	610		615		620	
Leu Pro Gly Asn Asn Asn Ser Tyr Asp Lys Cys Arg Arg Arg Phe Asp						
	625		630		635	640
Leu Gly Asp Ala Asp Phe Leu Arg Tyr His Gly Met Gln Glu Phe Asp						
	645		650		655	
Gln Ala Met Gln His Leu Glu Glu Lys Tyr Gly Phe Met Thr Ser Glu						
	660		665		670	
His Gln Tyr Val Ser Arg Lys His Glu Glu Asp Lys Val Ile Ile Phe						
	675		680		685	
Glu Arg Gly Asp Leu Val Phe Val Phe Asn Phe His Trp Ser Asn Ser						
	690		695		700	
Phe Phe Asp Tyr Arg Val Gly Cys Ser Arg Pro Gly Lys Tyr Lys Val						
	705		710		715	720
Ala Leu Asp Ser Asp Asp Ala Leu Phe Gly Gly Phe Ser Arg Leu Asp						

11.08.01

15

725

730

735

His Asp Val Asp Tyr Phe Thr Thr Glu His Pro His Asp Asn Arg Pro
740 745 750

Arg Ser Phe Ser Val Tyr Thr Pro Ser Arg Thr Ala Val Val Tyr Ala
755 760 765

Leu Thr Glu
770

<210> 13

<211> 797

<212> PRT

<213> Zea mays

<400> 13

Ser Cys Ala Gly Ala Pro Gly Lys Val Leu Val Pro Gly Gly Gly Ser
1 5 10 15

Asp Asp Leu Leu Ser Ser Ala Glu Pro Val Val Asp Thr Gln Pro Glu
20 25 30

Glu Leu Gln Ile Pro Glu Ala Glu Leu Thr Val Glu Lys Thr Ser Ser
35 40 45

Ser Pro Thr Gln Thr Thr Ser Ala Val Ala Glu Ala Ser Ser Gly Val
50 55 60

Glu Ala Glu Glu Arg Pro Glu Leu Ser Ser Glu Val Ile Gly Val Gly
65 70 75 80

Gly Thr Gly Gly Thr Lys Ile Asp Gly Ala Gly Ile Lys Ala Lys Ala
85 90 95

Pro Leu Val Glu Glu Lys Pro Arg Val Ile Pro Pro Pro Gly Asp Gly
100 105 110

Gln Arg Ile Tyr Glu Ile Asp Pro Met Leu Glu Gly Phe Arg Gly His
115 120 125

Leu Asp Tyr Arg Tyr Ser Glu Tyr Lys Arg Leu Arg Ala Ala Ile Asp
130 135 140

Gln His Glu Gly Gly Leu Asp Ala Phe Ser Arg Gly Tyr Glu Lys Leu
145 150 155 160

Gly Phe Thr Arg Ser Ala Glu Gly Ile Thr Tyr Arg Glu Trp Ala Pro
 165 170 175

Gly Ala Tyr Ser Ala Ala Leu Val Gly Asp Phe Asn Asn Trp Asn Pro
 180 185 190

Asn Ala Asp Ala Met Ala Arg Asn Glu Tyr Gly Val Trp Glu Ile Phe
 195 200 205

Leu Pro Asn Asn Ala Asp Gly Ser Pro Ala Ile Pro His Gly Ser Arg
 210 215 220

Val Lys Ile Arg Met Asp Thr Pro Ser Gly Val Lys Asp Ser Ile Pro
 225 230 235 240

Ala Trp Ile Lys Phe Ser Val Gln Ala Pro Gly Glu Ile Pro Tyr Asn
 245 250 255

Gly Ile Tyr Tyr Asp Pro Pro Glu Glu Glu Lys Tyr Val Phe Lys His
 260 265 270

Pro Gln Pro Lys Arg Pro Lys Ser Leu Arg Ile Tyr Glu Ser His Val
 275 280 285

Gly Met Ser Ser Pro Glu Pro Lys Ile Asn Thr Tyr Ala Asn Phe Arg
 290 295 300

Asp Glu Val Leu Pro Arg Ile Lys Lys Leu Gly Tyr Asn Ala Val Gln
 305 310 315 320

Ile Met Ala Ile Gln Glu His Ser Tyr Tyr Ala Ser Phe Gly Tyr His
 325 330 335

Val Thr Asn Phe Phe Ala Pro Ser Ser Arg Phe Gly Thr Pro Glu Asp
 340 345 350

Leu Lys Ser Leu Ile Asp Lys Ala His Glu Leu Gly Leu Leu Val Leu
 355 360 365

Met Asp Ile Val His Ser His Ser Ser Asn Asn Thr Leu Asp Gly Leu
 370 375 380

Asn Gly Phe Asp Gly Thr Asp Thr His Tyr Phe His Gly Gly Pro Arg
 385 390 395 400

Gly His His Trp Met Trp Asp Ser Arg Leu Phe Asn Tyr Gly Ser Trp
 405 410 415

11.05.01

17

Glu Val Leu Arg Phe Leu Leu Ser Asn Ala Arg Trp Trp Leu Glu Glu
 420 425 430

Tyr Lys Phe Asp Gly Phe Arg Phe Asp Gly Val Thr Ser Met Met Tyr
 435 440 445

Thr His His Gly Leu Gln Val Thr Phe Thr Gly Asn Tyr Gly Glu Tyr
 450 455 460

Phe Gly Phe Ala Thr Asp Val Asp Ala Val Val Tyr Leu Met Leu Val
 465 470 475 480

Asn Asp Leu Ile Arg Gly Leu Tyr Pro Glu Ala Val Ser Ile Gly Glu
 485 490 495

Asp Val Ser Gly Met Pro Thr Phe Cys Ile Pro Val Gln Asp Gly Gly
 500 505 510

Val Gly Phe Asp Tyr Arg Leu His Met Ala Val Pro Asp Lys Trp Ile
 515 520 525

Glu Leu Leu Lys Gln Ser Asp Glu Tyr Trp Glu Met Gly Asp Ile Val
 530 535 540

His Thr Leu Thr Asn Arg Arg Trp Leu Glu Lys Cys Val Thr Tyr Cys
 545 550 555 560

Glu Ser His Asp Gln Ala Leu Val Gly Asp Lys Thr Ile Ala Phe Trp
 565 570 575

Leu Met Asp Lys Asp Met Tyr Asp Phe Met Ala Leu Asp Arg Pro Ser
 580 585 590

Thr Pro Arg Ile Asp Arg Gly Ile Ala Leu His Lys Met Ile Arg Leu
 595 600 605

Val Thr Met Gly Leu Gly Gly Glu Gly Tyr Leu Asn Phe Met Gly Asn
 610 615 620

Glu Phe Gly His Pro Glu Trp Ile Asp Phe Pro Arg Gly Pro Gln Ser
 625 630 635 640

Leu Pro Asn Gly Ser Val Ile Pro Gly Asn Asn Asn Ser Phe Asp Lys
 645 650 655

Cys Arg Arg Arg Phe Asp Leu Gly Asp Ala Asp Tyr Leu Arg Tyr Arg
 660 665 670

110801

18

Gly Met Gln Glu Phe Asp Gln Ala Met Gln His Leu Glu Gly Lys Tyr
675 680 685

Glu Phe Met Thr Ser Asp His Ser Tyr Val Ser Arg Lys His Glu Glu
690 695 700

Asp Lys Val Ile Ile Phe Glu Arg Gly Asp Leu Val Phe Val Phe Asn
705 710 715 720

Phe His Trp Ser Asn Ser Tyr Phe Asp Tyr Arg Val Gly Cys Phe Lys
725 730 735

Pro Gly Lys Tyr Lys Ile Val Leu Asp Ser Asp Asp Gly Leu Phe Gly
740 745 750

Gly Phe Ser Arg Leu Asp His Asp Ala Glu Tyr Phe Thr Ala Asp Trp
755 760 765

Pro His Asp Asn Arg Pro Cys Ser Phe Ser Val Tyr Ala Pro Ser Arg
770 775 780

Thr Ala Val Val Tyr Ala Pro Ala Gly Ala Glu Asp Glu
785 790 795

<210> 14

<211> 747

<212> PRT

<213> Zea mays

<400> 14

Ala Ala Ala Ala Ala Arg Lys Ala Val Met Val Pro Glu Gly Glu Asn
1 5 10 15

Asp Gly Leu Ala Ser Arg Ala Asp Ser Ala Gln Phe Gln Ser Asp Glu
20 25 30

Leu Glu Val Pro Asp Ile Ser Glu Glu Thr Thr Cys Gly Ala Gly Val
35 40 45

Ala Asp Ala Gln Ala Leu Asn Arg Val Arg Val Val Pro Pro Pro Ser
50 55 60

Asp Gly Gln Lys Ile Phe Gln Ile Asp Pro Met Leu Gln Gly Tyr Lys
65 70 75 80

Tyr His Leu Glu Tyr Arg Tyr Ser Leu Tyr Arg Arg Ile Arg Ser Asp
85 90 95

110501

19

Ile Asp Glu His Glu Gly Gly Leu Glu Ala Phe Ser Arg Ser Tyr Glu
100 105 110

Lys Phe Gly Phe Asn Ala Ser Ala Glu Gly Ile Thr Tyr Arg Glu Trp
115 120 125

Ala Pro Gly Ala Phe Ser Ala Ala Leu Val Gly Asp Val Asn Asn Trp
130 135 140

Asp Pro Asn Ala Asp Arg Met Ser Lys Asn Glu Phe Gly Val Trp Glu
145 150 155 160

Ile Phe Leu Pro Asn Asn Ala Asp Gly Thr Ser Pro Ile Pro His Gly
165 170 175

Ser Arg Val Lys Val Arg Met Asp Thr Pro Ser Gly Ile Lys Asp Ser
180 185 190

Ile Pro Ala Trp Ile Lys Tyr Ser Val Gln Ala Pro Gly Glu Ile Pro
195 200 205

Tyr Asp Gly Ile Tyr Tyr Asp Pro Pro Glu Glu Val Lys Tyr Val Phe
210 215 220

Arg His Ala Gln Pro Lys Arg Pro Lys Ser Leu Arg Ile Tyr Glu Thr
225 230 235 240

His Val Gly Met Ser Ser Pro Glu Pro Lys Ile Asn Thr Tyr Val Asn
245 250 255

Phe Arg Asp Glu Val Leu Pro Arg Ile Lys Lys Leu Gly Tyr Asn Ala
260 265 270

Val Gln Ile Met Ala Ile Gln Glu His Ser Tyr Tyr Gly Ser Phe Gly
275 280 285

Tyr His Val Thr Asn Phe Phe Ala Pro Ser Ser Arg Phe Gly Thr Pro
290 295 300

Glu Asp Leu Lys Ser Leu Ile Asp Arg Ala His Glu Leu Gly Leu Leu
305 310 315 320

Val Leu Met Asp Val Val His Ser His Ala Ser Ser Asn Thr Leu Asp
325 330 335

Gly Leu Asn Gly Phe Asp Gly Thr Asp Thr His Tyr Phe His Ser Gly
340 345 350

110601

20

Pro Arg Gly His His Trp Met Trp Asp Ser Arg Leu Phe Asn Tyr Gly
355 360 365

Asn Trp Glu Val Leu Arg Phe Leu Leu Ser Asn Ala Arg Trp Trp Leu
370 375 380

Glu Glu Tyr Lys Phe Asp Gly Phe Arg Phe Asp Gly Val Thr Ser Met
385 390 395 400

Met Tyr Thr His His Gly Leu Gln Val Thr Phe Thr Gly Asn Phe Asn
405 410 415

Glu Tyr Phe Gly Phe Ala Thr Asp Val Asp Ala Val Val Tyr Leu Met
420 425 430

Leu Val Asn Asp Leu Ile His Gly Leu Tyr Pro Glu Ala Val Thr Ile
435 440 445

Gly Glu Asp Val Ser Gly Met Pro Thr Phe Ala Leu Pro Val His Asp
450 455 460

Gly Gly Val Gly Phe Asp Tyr Arg Met His Met Ala Val Ala Asp Lys
465 470 475 480

Trp Ile Asp Leu Leu Lys Gln Ser Asp Glu Thr Trp Lys Met Gly Asp
485 490 495

Ile Val His Thr Leu Thr Asn Arg Arg Trp Leu Glu Lys Cys Val Thr
500 505 510

Tyr Ala Glu Ser His Asp Gln Ala Leu Val Gly Asp Lys Thr Ile Ala
515 520 525

Phe Trp Leu Met Asp Lys Asp Met Tyr Asp Phe Met Ala Leu Asp Arg
530 535 540

Pro Ser Thr Pro Thr Ile Asp Arg Gly Ile Ala Leu His Lys Met Ile
545 550 555 560

Arg Leu Ile Thr Met Gly Leu Gly Gly Glu Gly Tyr Leu Asn Phe Met
565 570 575

Gly Asn Glu Phe Gly His Pro Glu Trp Ile Asp Phe Pro Arg Gly Pro
580 585 590

Gln Arg Leu Pro Ser Gly Lys Phe Ile Pro Gly Asn Asn Asn Ser Tyr
595 600 605

Asp Lys Cys Arg Arg Arg Phe Asp Leu Gly Asp Ala Asp Tyr Leu Arg
 610 615 620

Tyr His Gly Met Gln Glu Phe Asp Gln Ala Met Gln His Leu Glu Gln
 625 630 635 640

Lys Tyr Glu Phe Met Thr Ser Asp His Gln Tyr Ile Ser Arg Lys His
 645 650 655

Glu Glu Asp Lys Val Ile Val Phe Glu Lys Gly Asp Leu Val Phe Val
 660 665 670

Phe Asn Phe His Cys Asn Asn Ser Tyr Phe Asp Tyr Arg Ile Gly Cys
 675 680 685

Arg Lys Pro Gly Val Tyr Lys Val Val Leu Asp Ser Asp Ala Gly Leu
 690 695 700

Phe Gly Gly Phe Ser Arg Ile His His Ala Ala Glu His Phe Thr Ala
 705 710 715 720

Asp Cys Ser His Asp Asn Arg Pro Tyr Ser Phe Ser Val Tyr Thr Pro
 725 730 735

Ser Arg Thr Cys Val Val Tyr Ala Pro Val Glu
 740 745

<210> 15

<211> 50

<212> PRT

<213> Hordeum vulgare

<400> 15

Asn Asp Leu Gly Ile Trp Glu Ile Phe Leu Pro Asn Asn Ala Asp Gly
 1 5 10 15

Ser Pro Pro Ile Pro His Gly Ser Arg Val Lys Val Arg Met Asp Thr
 20 25 30

Pro Ser Gly Thr Lys Asp Ser Ile Pro Ala Trp Ile Lys Phe Ser Val
 35 40 45

Gln Ala
 50

22

<210> 16

<211> 50

<212> PRT

<213> Hordeum vulgare

<400> 16

Asp Asp Tyr Gly Val Trp Glu Ile Phe Leu Pro Asn Asn Ala Asp Gly
 1 5 10 15

Ser Pro Ala Ile Pro His Gly Ser Arg Val Lys Ile Arg Met Asp Thr
 20 25 30

Pro Ser Gly Val Lys Asp Ser Ile Ser Ala Trp Ile Lys Phe Ser Val
 35 40 45

Gln Ala
 50

<210> 17

<211> 760

<212> PRT

<213> Oryza sativa

<400> 17

Ala Ala Gly Ala Ser Gly Glu Val Met Ile Pro Glu Gly Glu Ser Asp
 1 5 10 15

Gly Met Pro Val Ser Ala Gly Ser Asp Asp Leu Gln Leu Pro Ala Leu
 20 25 30

Asp Asp Glu Leu Ser Thr Glu Val Gly Ala Glu Val Glu Ile Glu Ser
 35 40 45

Ser Gly Ala Ser Asp Val Glu Gly Val Lys Arg Val Val Glu Glu Leu
 50 55 60

Ala Ala Glu Gln Lys Pro Arg Val Val Pro Pro Thr Gly Asp Gly Gln
 65 70 75 80

Lys Ile Phe Gln Met Asp Ser Met Leu Asn Gly Tyr Lys Tyr His Leu
 85 90 95

Glu Tyr Arg Tyr Ser Leu Tyr Arg Arg Leu Arg Ser Asp Ile Asp Gln
 100 105 110

Tyr Glu Gly Gly Leu Glu Thr Phe Ser Arg Gly Tyr Glu Lys Phe Gly
 115 120 125

Phe Asn His Ser Ala Glu Gly Val Thr Tyr Arg Glu Trp Ala Pro Gly
 130 135 140

Ala His Ser Ala Ala Leu Val Gly Asp Phe Asn Asn Trp Asn Pro Asn
 145 150 155 160

Ala Asp Arg Met Ser Lys Asn Glu Phe Gly Val Trp Glu Ile Phe Leu
 165 170 175

Pro Asn Asn Ala Asp Gly Ser Ser Pro Ile Pro His Gly Ser Arg Val
 180 185 190

Lys Val Arg Met Glu Thr Pro Ser Gly Ile Lys Asp Ser Ile Pro Ala
 195 200 205

Trp Ile Lys Tyr Ser Val Gln Ala Ala Gly Glu Ile Pro Tyr Asn Gly
 210 215 220

Ile Tyr Tyr Asp Pro Pro Glu Glu Glu Lys Tyr Ile Phe Lys His Pro
 225 230 235 240

Gln Pro Lys Arg Pro Lys Ser Leu Arg Ile Tyr Glu Thr His Val Gly
 245 250 255

Met Ser Ser Thr Glu Pro Lys Ile Asn Thr Tyr Ala Asn Phe Arg Asp
 260 265 270

Glu Val Leu Pro Arg Ile Lys Lys Leu Gly Tyr Asn Ala Val Gln Ile
 275 280 285

Met Ala Ile Gln Glu His Ala Tyr Tyr Gly Ser Phe Gly Tyr His Val
 290 295 300

Thr Asn Phe Phe Ala Pro Ser Ser Arg Phe Gly Thr Pro Glu Asp Leu
 305 310 315 320

Lys Ser Leu Ile Asp Lys Ala His Glu Leu Gly Leu Val Val Leu Met
 325 330 335

Asp Val Val His Ser His Ala Ser Asn Asn Thr Leu Asp Gly Leu Asn
 340 345 350

Gly Phe Asp Gly Thr Asp Thr His Tyr Phe His Ser Gly Ser Arg Gly
 355 360 365

His His Trp Met Trp Asp Ser Arg Leu Phe Asn Tyr Gly Asn Trp Glu
 370 375 380

Val Leu Arg Phe Leu Leu Ser Asn Ala Arg Trp Trp Leu Glu Glu Tyr
 385 390 395 400

Lys Phe Asp Gly Phe Arg Phe Asp Gly Val Thr Ser Met Met Tyr Thr
 405 410 415

His His Gly Leu Gln Val Ala Phe Thr Gly Asn Tyr Ser Glu Tyr Phe
 420 425 430

Gly Phe Ala Thr Asp Ala Asp Ala Val Val Tyr Leu Met Leu Val Asn
 435 440 445

Asp Leu Ile His Gly Leu Tyr Pro Glu Ala Ile Thr Ile Gly Glu Asp
 450 455 460

Val Ser Gly Met Pro Thr Phe Ala Leu Pro Val Gln Asp Gly Gly Val
 465 470 475 480

Gly Phe Asp Tyr Arg Leu His Met Ala Val Pro Asp Lys Trp Ile Glu
 485 490 495

Leu Leu Lys Gln Ser Asp Glu Ser Trp Lys Met Gly Asp Ile Val His
 500 505 510

Thr Leu Thr Asn Arg Arg Trp Ser Glu Lys Cys Val Thr Tyr Ala Glu
 515 520 525

Ser His Asp Gln Ala Leu Val Gly Asp Lys Thr Ile Ala Phe Trp Leu
 530 535 540

Met Asp Lys Asp Met Tyr Asp Phe Met Ala Leu Asp Arg Pro Ala Thr
 545 550 555 560

Pro Ser Ile Asp Arg Gly Ile Ala Leu His Lys Met Ile Arg Leu Ile
 565 570 575

Thr Met Gly Leu Gly Gly Glu Gly Tyr Leu Asn Phe Met Gly Asn Glu
 580 585 590

Phe Gly His Pro Glu Trp Ile Asp Phe Pro Arg Ala Pro Gln Val Leu
 595 600 605

Pro Asn Gly Lys Phe Ile Pro Gly Asn Asn Asn Ser Tyr Asp Lys Cys
 610 615 620

Arg Arg Arg Phe Asp Leu Gly Asp Ala Asp Tyr Leu Arg Tyr Arg Gly
 625 630 635 640

25

Met Leu Glu Phe Asp Arg Ala Met Gln Ser Leu Glu Glu Lys Tyr Gly
645 650 655

Phe Met Thr Ser Asp His Gln Tyr Ile Ser Arg Lys His Glu Glu Asp
660 665 670

Lys Met Ile Ile Phe Glu Lys Gly Asp Leu Val Phe Val Phe Asn Phe
675 680 685

His Trp Ser Asn Ser Tyr Phe Asp Tyr Arg Val Gly Cys Leu Lys Pro
690 695 700

Gly Lys Tyr Lys Val Val Leu Asp Ser Asp Ala Gly Leu Phe Gly Gly
705 710 715 720

Phe Gly Arg Ile His His Thr Ala Glu His Phe Thr Ala Asp Cys Ser
725 730 735

His Asp Asn Arg Pro Tyr Ser Phe Ser Val Tyr Ser Pro Ser Arg Thr
740 745 750

Cys Val Val Tyr Ala Pro Ala Glu
755 760

<210> 18

<211> 844

<212> PRT

<213> *Oryza sativa*

<400> 18

Val Glu Ala Glu Arg Gly Gly Cys Arg Gly Ile Arg Ser Gly Cys Gly
1 5 10 15

Ala Gly Glu Met Ala Ala Pro Ala Ser Ala Val Pro Gly Ser Ala Ala
20 25 30

Gly Leu Arg Ala Gly Ala Val Arg Phe Pro Val Pro Ala Gly Ala Arg
35 40 45

Ser Trp Arg Ala Ala Ala Glu Leu Pro Thr Ser Arg Ser Leu Leu Ser
50 55 60

Gly Arg Arg Phe Pro Gly Ala Val Arg Val Gly Gly Ser Gly Gly Arg
65 70 75 80

Val Ala Val Arg Ala Ala Gly Ala Ser Gly Glu Val Met Ile Pro Glu

110601

26

85

90

95

Gly Glu Ser Asp Gly Met Pro Val Ser Ala Gly Ser Asp Asp Leu Gln
 100 105 110

Leu Pro Ala Leu Asp Asp Glu Leu Ser Thr Glu Val Gly Ala Glu Val
 115 120 125

Glu Ile Glu Ser Ser Gly Ala Ser Asp Val Glu Gly Val Lys Arg Val
 130 135 140

Val Glu Glu Leu Ala Ala Glu Gln Lys Pro Arg Val Val Pro Pro Thr
 145 150 155 160

Gly Asp Gly Gln Lys Ile Phe Gln Met Asp Ser Met Leu Asn Gly Tyr
 165 170 175

Lys Tyr His Leu Glu Tyr Arg Tyr Ser Leu Tyr Arg Arg Leu Arg Ser
 180 185 190

Asp Ile Asp Gln Tyr Glu Gly Gly Leu Glu Thr Phe Ser Arg Gly Tyr
 195 200 205

Glu Lys Phe Gly Phe Asn His Ser Ala Glu Gly Val Thr Tyr Arg Glu
 210 215 220

Trp Ala Pro Gly Ala His Ser Ala Ala Leu Val Gly Asp Phe Asn Asn
 225 230 235 240

Trp Asn Pro Asn Ala Asp Arg Met Ser Lys Asn Glu Phe Gly Val Trp
 245 250 255

Glu Ile Phe Leu Pro Asn Asn Ala Asp Gly Ser Ser Pro Ile Pro His
 260 265 270

Gly Ser Arg Val Lys Val Arg Met Glu Thr Pro Ser Gly Ile Lys Asp
 275 280 285

Ser Ile Pro Ala Trp Ile Lys Tyr Ser Val Gln Ala Ala Gly Glu Ile
 290 295 300

Pro Tyr Asn Gly Ile Tyr Tyr Asp Pro Pro Glu Glu Glu Lys Tyr Ile
 305 310 315 320

Phe Lys His Pro Gln Pro Lys Arg Pro Lys Ser Leu Arg Ile Tyr Glu
 325 330 335

Thr His Val Gly Met Ser Ser Thr Glu Pro Lys Ile Asn Thr Tyr Ala

11.06.01

340

27
345

350

Asn Phe Arg Asp Glu Val Leu Pro Arg Ile Lys Lys Leu Gly Tyr Asn
 355 360 365

Ala Val Gln Ile Met Ala Ile Gln Glu His Ala Tyr Tyr Gly Ser Phe
 370 375 380

Gly Tyr His Val Thr Asn Phe Phe Ala Pro Ser Ser Arg Phe Gly Thr
 385 390 395 400

Pro Glu Asp Leu Lys Ser Leu Ile Asp Lys Ala His Glu Leu Gly Leu
 405 410 415

Val Val Leu Met Asp Val Val His Ser His Ala Ser Asn Asn Thr Leu
 420 425 430

Asp Gly Leu Asn Gly Phe Asp Gly Thr Asp Thr His Tyr Phe His Ser
 435 440 445

Gly Ser Arg Gly His His Trp Met Trp Asp Ser Arg Leu Phe Asn Tyr
 450 455 460

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

Leu Glu Glu Tyr Lys Phe Asp Gly Phe Arg Phe Asp Gly Val Thr Ser
 485 490 495

Met Met Tyr Thr His His Gly Leu Gln Val Ala Phe Thr Gly Asn Tyr
 500 505 510

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

Met Leu Val Asn Asp Leu Ile His Gly Leu Tyr Pro Glu Ala Ile Thr
 530 535 540

Ile Gly Glu Asp Val Ser Gly Met Pro Thr Phe Ala Leu Pro Val Gln
 545 550 555 560

Asp Gly Gly Val Gly Phe Asp Tyr Arg Leu His Met Ala Val Pro Asp
 565 570 575

Lys Trp Ile Glu Leu Leu Lys Gln Ser Asp Glu Ser Trp Lys Met Gly
 580 585 590

Asp Ile Val His Thr Leu Thr Asn Arg Arg Trp Ser Glu Lys Cys Val

11.05.01

28

595

600

605

Thr Tyr Ala Glu Ser His Asp Gln Ala Leu Val Gly Asp Lys Thr Ile
610 615 620

Ala Phe Trp Leu Met Asp Lys Asp Met Tyr Asp Phe Met Ala Leu Asp
625 630 635 640

Arg Pro Ala Thr Pro Ser Ile Asp Arg Gly Ile Ala Leu His Lys Met
645 650 655

Ile Arg Leu Ile Thr Met Gly Leu Gly Gly Glu Gly Tyr Leu Asn Phe
660 665 670

Met Gly Asn Glu Phe Gly His Pro Glu Trp Ile Asp Phe Pro Arg Ala
675 680 685

Pro Gln Val Leu Pro Asn Gly Lys Phe Ile Pro Gly Asn Asn Asn Ser
690 695 700

Tyr Asp Lys Cys Arg Arg Arg Phe Asp Leu Gly Asp Ala Asp Tyr Leu
705 710 715 720

Arg Tyr Arg Gly Met Leu Glu Phe Asp Arg Ala Met Gln Ser Leu Glu
725 730 735

Glu Lys Tyr Gly Phe Met Thr Ser Asp His Gln Tyr Ile Ser Arg Lys
740 745 750

His Glu Glu Asp Lys Met Ile Ile Phe Glu Lys Gly Asp Leu Val Phe
755 760 765

Val Phe Asn Phe His Trp Ser Asn Ser Tyr Phe Asp Tyr Arg Val Gly
770 775 780

Cys Leu Lys Pro Gly Lys Tyr Lys Val Val Leu Asp Ser Asp Ala Gly
785 790 795 800

Leu Phe Gly Gly Phe Gly Arg Ile His His Thr Ala Glu His Phe Thr
805 810 815

Ala Asp Cys Ser His Asp Asn Arg Pro Tyr Ser Phe Ser Val Tyr Ser
820 825 830

Pro Ser Arg Thr Cys Val Val Tyr Ala Pro Ala Glu
835 840

11.05.01

29

<210> 19
<211> 857
<212> PRT
<213> Pisum sativum

<400> 19

Lys Val Leu Ile Pro Glu Asp Gln Asp Asn Ser Val Ser Leu Ala Asp
1 5 10 15

Gln Leu Glu Asn Pro Asp Ile Thr Ser Glu Asp Ala Gln Asn Leu Glu
20 25 30

Asp Leu Thr Met Lys Asp Gly Asn Lys Tyr Asn Ile Asp Glu Ser Thr
35 40 45

Ser Ser Tyr Arg Glu Val Gly Asp Glu Lys Gly Ser Val Thr Ser Ser
50 55 60

Ser Leu Val Asp Val Asn Thr Asp Thr Gln Ala Lys Lys Thr Ser Val
65 70 75 80

His Ser Asp Lys Lys Val Lys Val Asp Lys Pro Lys Ile Ile Pro Pro
85 90 95

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

His Arg Gln His Leu Asp Phe Arg Tyr Gly Gln Tyr Lys Arg Ile Arg
115 120 125

Glu Glu Ile Asp Lys Tyr Glu Gly Gly Leu Asp Ala Phe Ser Arg Gly
130 135 140

Tyr Glu Lys Phe Gly Phe Thr Arg Ser Ala Thr Gly Ile Thr Tyr Arg
145 150 155 160

Glu Trp Ala Pro Gly Ala Lys Ser Ala Ala Leu Val Gly Asp Phe Asn
165 170 175

Asn Trp Asn Pro Asn Ala Asp Val Met Thr Lys Asp Ala Phe Gly Val
180 185 190

Trp Glu Ile Phe Leu Pro Asn Asn Ala Asp Gly Ser Pro Pro Ile Pro
195 200 205

His Gly Ser Arg Val Lys Ile His Met Asp Thr Pro Ser Gly Ile Lys
210 215 220

11-05-01

30

Asp Ser Ile Pro Ala Trp Ile Lys Phe Ser Val Gln Ala Pro Gly Glu
225 230 235 240

Ile Pro Tyr Asn Gly Ile Tyr Tyr Asp Pro Pro Glu Glu Glu Lys Tyr
245 250 255

Val Phe Lys His Pro Gln Pro Lys Arg Pro Gln Ser Ile Arg Ile Tyr
260 265 270

Glu Ser His Ile Gly Met Ser Ser Pro Glu Pro Lys Ile Asn Thr Tyr
275 280 285

Ala Asn Phe Arg Asp Asp Val Leu Pro Arg Ile Lys Lys Leu Gly Tyr
290 295 300

Asn Ala Val Gln Ile Met Ala Ile Gln Glu His Ser Tyr Tyr Ala Ser
305 310 315 320

Phe Gly Tyr His Val Thr Asn Phe Phe Ala Pro Ser Ser Arg Phe Gly
325 330 335

Thr Pro Glu Asp Leu Lys Ser Leu Ile Asp Arg Ala His Glu Leu Gly
340 345 350

Leu Leu Val Leu Met Asp Ile Val His Ser His Ser Ser Asn Asn Thr
355 360 365

Leu Asp Gly Leu Asn Met Phe Asp Gly Thr Asp Gly His Tyr Phe His
370 375 380

Pro Gly Ser Arg Gly Tyr His Trp Met Trp Asp Ser Arg Leu Phe Asn
385 390 395 400

Tyr Gly Ser Trp Glu Val Leu Arg Tyr Leu Leu Ser Asn Ala Arg Trp
405 410 415

Trp Leu Asp Glu Tyr Lys Phe Asp Gly Phe Arg Phe Asp Gly Val Thr
420 425 430

Ser Met Met Tyr Thr His His Gly Leu Gln Val Ser Phe Thr Gly Asn
435 440 445

Tyr Ser Glu Tyr Phe Gly Leu Ala Thr Asp Val Glu Ala Val Val Tyr
450 455 460

Met Met Leu Val Asn Asp Leu Ile His Gly Leu Phe Pro Glu Ala Val
465 470 475 480

11.06.01

31

Ser Ile Gly Glu Asp Val Ser Gly Met Pro Thr Phe Cys Leu Pro Thr
485 490 495

Gln Asp Gly Gly Ile Gly Phe Asn Tyr Arg Leu His Met Ala Val Ala
500 505 510

Asp Lys Trp Ile Glu Leu Leu Lys Lys Gln Asp Glu Asp Trp Arg Met
515 520 525

Gly Asp Ile Val His Thr Leu Thr Asn Arg Arg Trp Leu Glu Lys Cys
530 535 540

Val Val Tyr Ala Glu Ser His Asp Gln Ala Leu Val Gly Asp Lys Thr
545 550 555 560

Leu Ala Phe Trp Leu Met Asp Lys Asp Met Tyr Asp Phe Met Ala Leu
565 570 575

Asp Arg Pro Ser Thr Pro Leu Ile Asp Arg Gly Ile Ala Leu His Lys
580 585 590

Met Ile Arg Leu Ile Thr Met Gly Leu Gly Gly Glu Gly Tyr Leu Asn
595 600 605

Phe Met Gly Asn Glu Phe Gly His Pro Glu Trp Ile Asp Phe Pro Arg
610 615 620

Gly Glu Gln His Leu Pro Asn Gly Lys Ile Val Pro Gly Asn Asn Asn
625 630 635 640

Ser Tyr Asp Lys Cys Arg Arg Arg Phe Asp Leu Gly Asp Ala Asp Tyr
645 650 655

Leu Arg Tyr His Gly Met Gln Glu Phe Asp Arg Ala Met Gln His Leu
660 665 670

Glu Glu Arg Tyr Gly Phe Met Thr Ser Glu His Gln Tyr Ile Ser Arg
675 680 685

Lys Asn Glu Gly Asp Arg Val Ile Ile Phe Glu Arg Asp Asn Leu Val
690 695 700

Phe Val Phe Asn Phe His Trp Thr Asn Ser Tyr Ser Asp Tyr Lys Val
705 710 715 720

Gly Cys Leu Lys Pro Gly Lys Tyr Lys Ile Val Leu Asp Ser Asp Asp
725 730 735

11.06.01

32

Thr Leu Phe Gly Gly Phe Asn Arg Leu Asn His Thr Ala Glu Tyr Phe
740 745 750

Thr Ser Glu Gly Trp Tyr Asp Asp Arg Pro Arg Ser Phe Leu Val Tyr
755 760 765

Ala Pro Ser Arg Thr Ala Val Val Tyr Ala Leu Ala Asp Gly Val Glu
770 775 780

Ser Glu Pro Ile Glu Leu Ser Asp Gly Val Glu Ser Glu Pro Ile Glu
785 790 795 800

Leu Ser Val Gly Val Glu Ser Glu Pro Ile Glu Leu Ser Val Glu Glu
805 810 815

Ala Glu Ser Glu Pro Ile Glu Arg Ser Val Glu Glu Val Glu Ser Glu
820 825 830

Thr Thr Gln Gln Ser Val Glu Val Glu Ser Glu Thr Thr Gln Gln Ser
835 840 845

Val Glu Val Glu Ser Glu Thr Thr Gln
850 855

<210> 20

<211> 779

<212> PRT

<213> Solanum tuberosum

<400> 20

Thr Met Ala Pro Leu Glu Glu Asp Val Lys Thr Glu Asn Ile Gly Leu
1 5 10 15

Leu Asn Leu Asp Pro Thr Leu Glu Pro Tyr Leu Asp His Phe Arg His
20 25 30

Arg Met Lys Arg Tyr Val Asp Gln Lys Met Leu Ile Glu Lys Tyr Glu
35 40 45

Gly Pro Leu Glu Glu Phe Ala Gln Gly Tyr Leu Lys Phe Gly Phe Asn
50 55 60

Arg Glu Asp Gly Cys Ile Val Tyr Arg Glu Trp Ala Pro Ala Ala Gln
65 70 75 80

Glu Asp Glu Val Ile Gly Asp Phe Asn Gly Trp Asn Gly Ser Asn His
85 90 95

11.06.01

33

Met Met Glu Lys Asp Gln Phe Gly Val Trp Ser Ile Arg Ile Pro Asp
100 105 110

Val Asp Ser Lys Pro Val Ile Pro His Asn Ser Arg Val Lys Phe Arg
115 120 125

Phe Lys His Gly Asn Gly Val Trp Val Asp Arg Ile Pro Ala Trp Ile
130 135 140

Lys Tyr Ala Thr Ala Asp Ala Thr Lys Phe Ala Ala Pro Tyr Asp Gly
145 150 155 160

Val Tyr Trp Asp Pro Pro Pro Ser Glu Arg Tyr His Phe Lys Tyr Pro
165 170 175

Arg Pro Pro Lys Pro Arg Ala Pro Arg Ile Tyr Glu Ala His Val Gly
180 185 190

Met Ser Ser Ser Glu Pro Arg Val Asn Ser Tyr Arg Glu Phe Ala Asp
195 200 205

Asp Val Leu Pro Arg Ile Lys Ala Asn Asn Tyr Asn Thr Val Gln Leu
210 215 220

Met Ala Ile Met Glu His Ser Tyr Tyr Gly Ser Phe Gly Tyr His Val
225 230 235 240

Thr Asn Phe Phe Ala Val Ser Ser Arg Tyr Gly Asn Pro Glu Asp Leu
245 250 255

Lys Tyr Leu Ile Asp Lys Ala His Ser Leu Gly Leu Gln Val Leu Val
260 265 270

Asp Val Val His Ser His Ala Ser Asn Asn Val Thr Asp Gly Leu Asn
275 280 285

Gly Phe Asp Ile Gly Gln Gly Ser Gln Glu Ser Tyr Phe His Ala Gly
290 295 300

Glu Arg Gly Tyr His Lys Leu Trp Asp Ser Arg Leu Phe Asn Tyr Ala
305 310 315 320

Asn Trp Glu Val Leu Arg Phe Leu Leu Ser Asn Leu Arg Trp Trp Leu
325 330 335

Glu Glu Tyr Asn Phe Asp Gly Phe Arg Phe Asp Gly Ile Thr Ser Met
340 345 350

11.05.01

34

Leu Tyr Val His His Gly Ile Asn Met Gly Phe Thr Gly Asn Tyr Asn
355 360 365

Glu Tyr Phe Ser Glu Ala Thr Asp Val Asp Ala Val Val Tyr Leu Met
370 375 380

Leu Ala Asn Asn Leu Ile His Lys Ile Phe Pro Asp Ala Thr Val Ile
385 390 395 400

Ala Glu Asp Val Ser Gly Met Pro Gly Leu Gly Arg Pro Val Ser Glu
405 410 415

Gly Gly Ile Gly Phe Asp Tyr Arg Leu Ala Met Ala Ile Pro Asp Lys
420 425 430

Trp Ile Asp Tyr Leu Lys Asn Lys Asn Asp Glu Asp Trp Ser Met Lys
435 440 445

Glu Val Thr Ser Ser Leu Thr Asn Arg Arg Tyr Thr Glu Lys Cys Ile
450 455 460

Ala Tyr Ala Glu Ser His Asp Gln Ser Ile Val Gly Asp Lys Thr Ile
465 470 475 480

Ala Phe Leu Leu Met Asp Lys Glu Met Tyr Ser Gly Met Ser Cys Leu
485 490 495

Thr Asp Ala Ser Pro Val Val Asp Arg Gly Ile Ala Leu His Lys Met
500 505 510

Ile His Phe Phe Thr Met Ala Leu Gly Gly Glu Gly Tyr Leu Asn Phe
515 520 525

Met Gly Asn Glu Phe Gly His Pro Glu Trp Ile Asp Phe Pro Arg Glu
530 535 540

Gly Asn Asn Trp Ser Tyr Asp Lys Cys Arg Arg Gln Trp Asn Leu Ala
545 550 555 560

Asp Ser Glu His Leu Arg Tyr Lys Phe Met Asn Ala Phe Asp Arg Ala
565 570 575

Met Asn Ser Leu Asp Glu Lys Phe Ser Phe Leu Ala Ser Gly Lys Gln
580 585 590

Ile Val Ser Ser Met Asp Asp Asp Asn Lys Val Val Val Phe Glu Arg
595 600 605

Gly Asp Leu Val Phe Val Phe Asn Phe His Pro Lys Asn Thr Tyr Glu
610 615 620

Gly Tyr Lys Val Gly Cys Asp Leu Pro Gly Lys Tyr Arg Val Ala Leu
625 630 635 640

Asp Ser Asp Ala Trp Glu Phe Gly Gly His Gly Arg Thr Gly His Asp
645 650 655

Val Asp His Phe Thr Ser Pro Glu Gly Ile Pro Gly Val Pro Glu Thr
660 665 670

Asn Phe Asn Gly Arg Gln Ile Pro Ser Lys Cys Cys Leu Leu Arg Glu
675 680 685

His Val Trp Leu Ile Thr Glu Leu Met Asn Ala Cys Gln Lys Leu Lys
690 695 700

Ile Thr Arg Gln Thr Phe Val Val Ser Tyr Tyr Gln Gln Pro Ile Ser
705 710 715 720

Arg Arg Val Thr Arg Asn Leu Lys Ile Arg Tyr Leu Gln Ile Ser Val
725 730 735

Thr Leu Thr Asn Ala Cys Gln Lys Leu Lys Phe Thr Arg Gln Thr Phe
740 745 750

Leu Val Ser Tyr Tyr Gln Gln Pro Ile Leu Arg Arg Val Thr Arg Lys
755 760 765

Leu Lys Asp Ser Leu Ser Thr Asn Ile Ser Thr
770 775

<210> 21

<211> 762

<212> PRT

<213> Triticum aestivum

<400> 21

Thr Met Ala Thr Ala Glu Asp Gly Val Gly Asp Leu Pro Ile Tyr Asp
1 5 10 15

Leu Asp Pro Lys Phe Ala Gly Phe Lys Glu His Phe Ser Tyr Arg Met
20 25 30

11.05.01

36

Lys Lys Tyr Leu Asp Gln Lys His Ser Ile Glu Lys His Glu Gly Gly
35 40 45

Leu Glu Glu Phe Ser Lys Gly Tyr Leu Lys Phe Gly Ile Asn Thr Glu
50 55 60

Asn Asp Ala Thr Val Tyr Arg Glu Trp Ala Pro Ala Ala Met Asp Ala
65 70 75 80

Gln Leu Ile Gly Asp Phe Asn Asn Trp Asn Gly Ser Gly His Arg Met
85 90 95

Thr Lys Asp Asn Tyr Gly Val Trp Ser Ile Arg Ile Ser His Val Asn
100 105 110

Gly Lys Pro Ala Ile Pro His Asn Ser Lys Val Lys Phe Arg Phe His
115 120 125

Arg Gly Asp Gly Leu Trp Val Asp Arg Val Pro Ala Trp Ile Arg Tyr
130 135 140

Ala Thr Phe Asp Ala Ser Lys Phe Gly Ala Pro Tyr Asp Gly Val His
145 150 155 160

Trp Asp Pro Pro Ser Gly Glu Arg Tyr Val Phe Lys His Pro Arg Pro
165 170 175

Arg Lys Pro Asp Ala Pro Arg Ile Tyr Glu Ala His Val Gly Met Ser
180 185 190

Gly Glu Lys Pro Glu Val Ser Thr Tyr Arg Glu Phe Ala Asp Asn Val
195 200 205

Leu Pro Arg Ile Lys Ala Asn Asn Tyr Asn Thr Val Gln Leu Met Ala
210 215 220

Ile Met Glu His Ser Tyr Tyr Ala Ser Phe Gly Tyr His Val Thr Asn
225 230 235 240

Phe Phe Ala Val Ser Ser Arg Ser Gly Thr Pro Glu Asp Leu Lys Tyr
245 250 255

Leu Val Asp Lys Ala His Ser Leu Gly Leu Arg Val Leu Met Asp Val
260 265 270

Val His Ser His Ala Ser Ser Asn Lys Thr Asp Gly Leu Asn Gly Tyr
275 280 285

110601

37

Asp Val Gly Gln Asn Thr Gln Glu Ser Tyr Phe His Thr Gly Glu Arg
 290 295 300

Gly Tyr His Lys Leu Trp Asp Ser Arg Leu Phe Asn Tyr Ala Asn Trp
 305 310 315 320

Glu Val Leu Arg Phe Leu Leu Ser Asn Leu Arg Tyr Trp Met Asp Glu
 325 330 335

Phe Met Phe Asp Gly Phe Arg Phe Asp Gly Val Thr Ser Met Leu Tyr
 340 345 350

Asn His His Gly Ile Asn Met Ser Phe Ala Gly Ser Tyr Lys Glu Tyr
 355 360 365

Phe Gly Leu Asp Thr Asp Val Asp Ala Val Val Tyr Leu Met Leu Ala
 370 375 380

Asn His Leu Met His Lys Leu Leu Pro Glu Ala Thr Val Val Ala Glu
 385 390 395 400

Asp Val Ser Gly Met Pro Val Leu Cys Arg Ser Val Asp Glu Gly Gly
 405 410 415

Val Gly Phe Asp Tyr Arg Leu Ala Met Ala Ile Pro Asp Arg Trp Ile
 420 425 430

Asp Tyr Leu Lys Asn Lys Asp Asp Leu Glu Trp Ser Met Ser Gly Ile
 435 440 445

Ala His Thr Leu Thr Asn Arg Arg Tyr Thr Glu Lys Cys Ile Ala Tyr
 450 455 460

Ala Glu Ser His Asp Gln Ser Ile Val Gly Asp Lys Thr Met Ala Phe
 465 470 475 480

Leu Leu Met Asp Lys Glu Met Tyr Thr Gly Met Ser Asp Leu Gln Pro
 485 490 495

Ala Ser Pro Thr Ile Asp Arg Gly Ile Ala Leu Gln Lys Met Ile His
 500 505 510

Phe Ile Thr Met Ala Leu Gly Gly Asp Gly Tyr Leu Asn Phe Met Gly
 515 520 525

Asn Glu Phe Gly His Pro Glu Trp Ile Asp Phe Pro Arg Glu Gly Asn
 530 535 540

110601

38

Asn Trp Ser Tyr Asp Lys Cys Arg Arg Gln Trp Ser Leu Ala Asp Ile
545 550 555 560

Asp His Leu Arg Tyr Lys Tyr Met Asn Ala Phe Asp Gln Ala Met Asn
565 570 575

Ala Leu Asp Asp Lys Phe Ser Phe Leu Ser Ser Ser Lys Gln Ile Val
580 585 590

Ser Asp Met Asn Glu Glu Lys Lys Ile Ile Val Phe Glu Arg Gly Asp
595 600 605

Leu Val Phe Val Phe Asn Phe His Pro Ser Lys Thr Tyr Asp Gly Tyr
610 615 620

Lys Val Gly Cys Asp Leu Pro Gly Lys Tyr Lys Val Ala Leu Asp Ser
625 630 635 640

Asp Ala Leu Met Phe Gly Gly His Gly Arg Val Ala His Asp Asn Asp
645 650 655

His Phe Thr Ser Pro Glu Gly Val Pro Gly Val Pro Glu Thr Asn Phe
660 665 670

Asn Asn Arg Pro Asn Ser Phe Lys Ile Leu Ser Pro Ser Arg Thr Cys
675 680 685

Val Ala Tyr Tyr Arg Val Glu Glu Lys Ala Glu Lys Pro Lys Asp Glu
690 695 700

Gly Ala Ala Ser Trp Gly Lys Thr Ala Leu Gly Tyr Ile Asp Val Glu
705 710 715 720

Ala Thr Gly Val Lys Asp Ala Ala Asp Gly Glu Ala Thr Ser Gly Ser
725 730 735

Glu Lys Ala Ser Thr Gly Gly Asp Ser Ser Lys Lys Gly Ile Asn Phe
740 745 750

Val Phe Leu Ser Pro Asp Lys Asp Asn Lys
755 760

<210> 22

<211> 703

<212> PRT

<213> Triticum aestivum

110601

39

<400> 22

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

Thr Met Leu Cys Leu Ser Ser Ser Leu Leu Pro Arg Pro Ser Ala Ala
 20 25 30

Ala Asp Arg Pro Leu Pro Gly Ile Ile Ala Gly Gly Gly Gly Gly Lys
 35 40 45

Arg Leu Ser Val Val Pro Ser Val Pro Phe Leu Leu Arg Trp Leu Trp
 50 55 60

Pro Arg Lys Ala Lys Ser Lys Ser Phe Val Ser Val Thr Ala Arg Gly
 65 70 75 80

Asn Lys Ile Ala Ala Thr Thr Gly Tyr Gly Ser Asp His Leu Pro Ile
 85 90 95

Tyr Asp Leu Asp Leu Lys Leu Ala Glu Phe Lys Asp His Phe Asp Tyr
 100 105 110

Thr Arg Asn Arg Tyr Ile Glu Gln Lys His Leu Ile Glu Lys His Glu
 115 120 125

Gly Ser Leu Glu Glu Phe Ser Lys Gly Tyr Leu Lys Phe Gly Ile Asn
 130 135 140

Thr Glu His Gly Ala Ser Val Tyr Arg Glu Trp Ala Pro Ala Ala Glu
 145 150 155 160

Glu Ala Gln Leu Val Gly Asp Phe Asn Asn Trp Asn Gly Ser Gly His
 165 170 175

Lys Met Ala Lys Asp Asn Phe Gly Val Trp Ser Ile Arg Ile Ser His
 180 185 190

Val Asn Gly Lys Pro Ala Ile Pro His Asn Ser Lys Val Lys Phe Arg
 195 200 205

Phe Arg His His Gly Val Trp Val Glu Gln Ile Pro Ala Trp Ile Arg
 210 215 220

Tyr Ala Thr Val Thr Ala Ser Glu Ser Gly Ala Pro Tyr Asp Gly Leu
 225 230 235 240

His Trp Asp Pro Pro Ser Ser Glu Arg Tyr Val Phe Asn His Pro Arg
 245 250 255

1105.01

40

Pro Pro Lys Pro Asp Val Pro Arg Ile Tyr Glu Ala His Val Gly Val
260 265 270

Ser Gly Gly Lys Leu Glu Ala Gly Thr Tyr Arg Glu Phe Pro Asp Asn
275 280 285

Val Leu Pro Cys Leu Arg Ala Thr Asn Tyr Asn Thr Val Gln Leu Met
290 295 300

Gly Ile Met Glu His Ser Asp Ser Ala Ser Phe Gly Tyr His Val Thr
305 310 315 320

Asn Phe Phe Ala Val Ser Ser Arg Ser Gly Thr Pro Glu Asp Leu Lys
325 330 335

Tyr Leu Ile Asp Lys Ala His Ser Leu Gly Leu Arg Val Leu Met Asp
340 345 350

Val Val His Ser His Ala Ser Asn Asn Val Ile Asp Gly Leu Asn Gly
355 360 365

Tyr Asp Val Gly Gln Ser Ala His Glu Ser Tyr Phe Tyr Thr Gly Asp
370 375 380

Lys Gly Tyr Asn Lys Met Trp Asn Gly Arg Met Phe Asn Tyr Ala Asn
385 390 395 400

Trp Glu Val Leu Arg Phe Leu Leu Ser Asn Leu Arg Tyr Trp Met Asp
405 410 415

Glu Phe Met Phe Asp Gly Phe Arg Phe Val Gly Val Thr Ser Met Leu
420 425 430

Tyr Asn His Asn Gly Ile Asn Met Ser Phe Asn Gly Asn Tyr Lys Asp
435 440 445

Tyr Ile Gly Leu Asp Thr Asn Val Asp Ala Phe Val Tyr Met Met Leu
450 455 460

Ala Asn His Leu Met His Lys Leu Phe Pro Glu Ala Ile Val Val Ala
465 470 475 480

Val Asp Val Ser Gly Met Pro Val Leu Cys Trp Pro Val Asp Glu Gly
485 490 495

Gly Leu Gly Phe Asp Tyr Arg Gln Ala Met Thr Ile Pro Asp Arg Trp
500 505 510

11.05.01

41

Ile Asp Tyr Leu Glu Asn Lys Gly Asp Gln Gln Trp Ser Met Ser Ser
515 520 525

Val Ile Ser Gln Thr Leu Thr Asn Arg Arg Tyr Pro Glu Lys Phe Ile
530 535 540

Ala Tyr Ala Glu Arg Gln Asn His Ser Ile Ile Gly Ser Lys Thr Met
545 550 555 560

Ala Phe Leu Leu Met Glu Trp Glu Thr Tyr Ser Gly Met Ser Ala Met
565 570 575

Asp Pro Asp Ser Pro Thr Ile Asp Arg Ala Ile Ala Leu Gln Lys Met
580 585 590

Ile His Phe Ile Thr Met Ala Phe Gly Gly Asp Ser Tyr Leu Lys Phe
595 600 605

Met Gly Asn Glu Tyr Met Asn Ala Phe Val Gln Ala Val Asp Thr Pro
610 615 620

Ser Asp Lys Cys Ser Phe Leu Ser Ser Ser Asn Gln Thr Ala Ser His
625 630 635 640

Met Asn Glu Glu Glu Lys Gly Ser Ala Leu Thr Lys Gly Tyr Thr His
645 650 655

Leu Arg Ser Gly Cys Phe Asp Pro Ser Leu Pro Ser Thr Ser Ser Cys
660 665 670

Ala Phe Leu Gly Pro Ser Asn Gln Ser Pro Phe Ser Lys Pro Phe Ile
675 680 685

Gly Phe Pro Gly Cys Ile Phe Cys Cys Gly Leu Phe Lys Gly Glu
690 695 700

<210> 23

<211> 752

<212> PRT

<213> Zea mays

<400> 23

Thr Met Ala Thr Ala Lys Gly Asp Val Asp His Leu Pro Ile Tyr Asp
1 5 10 15

Leu Asp Pro Lys Leu Glu Ile Phe Lys Asp His Phe Arg Tyr Arg Met

110501

	20		42		30
			25		
Lys Arg Phe Leu Glu Gln Lys Gly Ser Ile Glu Glu Asn Glu Gly Ser	35	40	45		
Leu Glu Ser Phe Ser Lys Gly Tyr Leu Lys Phe Gly Ile Asn Thr Asn	50	55	60		
Glu Asp Gly Thr Val Tyr Arg Glu Trp Ala Pro Ala Ala Gln Glu Ala	65	70	75	80	
Glu Leu Ile Gly Asp Phe Asn Asp Trp Asn Gly Ala Asn His Lys Met	85	90	95		
Glu Lys Asp Lys Phe Gly Val Trp Ser Ile Lys Ile Asp His Val Lys	100	105	110		
Gly Lys Pro Ala Ile Pro His Asn Ser Lys Val Lys Phe Arg Phe Leu	115	120	125		
His Gly Gly Val Trp Val Asp Arg Ile Pro Ala Leu Ile Arg Tyr Ala	130	135	140		
Thr Val Asp Ala Ser Lys Phe Gly Ala Pro Tyr Asp Gly Val His Trp	145	150	155	160	
Asp Pro Pro Ala Ser Glu Arg Tyr Thr Phe Lys His Pro Arg Pro Ser	165	170	175		
Lys Pro Ala Ala Pro Arg Ile Tyr Glu Ala His Val Gly Met Ser Gly	180	185	190		
Glu Lys Pro Ala Val Ser Thr Tyr Arg Glu Phe Ala Asp Asn Val Leu	195	200	205		
Pro Arg Ile Arg Ala Asn Asn Tyr Asn Thr Val Gln Leu Met Ala Val	210	215	220		
Met Glu His Ser Tyr Tyr Ala Ser Phe Gly Tyr His Val Thr Asn Phe	225	230	235	240	
Phe Ala Val Ser Ser Arg Ser Gly Thr Pro Glu Asp Leu Lys Tyr Leu	245	250	255		
Val Asp Lys Ala His Ser Leu Gly Leu Arg Val Leu Met Asp Val Val	260	265	270		
His Ser His Ala Ser Asn Asn Val Thr Asp Gly Leu Asn Gly Tyr Asp					

Circumstances	Percentage of respondents
Self-defense	95
To protect others	85
To protect property	75
To protect the community	65
To protect the environment	55

110601

44

530

535

540

Trp Ser Tyr Asp Lys Cys Arg Arg Gln Trp Ser Leu Val Asp Thr Asp
545 550 555 560

His Leu Arg Tyr Lys Tyr Met Asn Ala Phe Asp Gln Ala Met Asn Ala
565 570 575

Leu Asp Glu Arg Phe Ser Phe Leu Ser Ser Ser Lys Gln Ile Val Ser
580 585 590

Asp Met Asn Asp Glu Glu Lys Val Ile Val Phe Glu Arg Gly Asp Leu
595 600 605

Val Phe Val Phe Asn Phe His Pro Lys Lys Thr Tyr Glu Gly Tyr Lys
610 615 620

Val Gly Cys Asp Leu Pro Gly Lys Tyr Arg Val Ala Leu Asp Ser Asp
625 630 635 640

Ala Leu Val Phe Gly Gly His Gly Arg Val Gly His Asp Val Asp His
645 650 655

Phe Thr Ser Pro Glu Gly Val Pro Gly Val Pro Glu Thr Asn Phe Asn
660 665 670

Asn Arg Pro Asn Ser Phe Lys Val Leu Ser Pro Pro Arg Thr Cys Val
675 680 685

Ala Tyr Tyr Arg Val Asp Glu Ala Gly Ala Gly Arg Arg Leu His Ala
690 695 700

Lys Ala Glu Thr Gly Lys Thr Ser Pro Ala Glu Ser Ile Asp Val Lys
705 710 715 720

Ala Ser Arg Ala Ser Ser Lys Glu Asp Lys Glu Ala Thr Ala Gly Gly
725 730 735

Lys Lys Gly Trp Lys Phe Ala Arg Gln Pro Ser Asp Gln Asp Thr Lys
740 745 750

<210> 24

<211> 756

<212> PRT

110501

<213> Oryza sativa

45

<400> 24

Thr Met Val Thr Val Val Glu Glu Val Asp His Leu Pro Ile Tyr Asp
 1 5 10 15

Leu Asp Pro Lys Leu Glu Glu Phe Lys Asp His Phe Asn Tyr Arg Ile
 20 25 30

Lys Arg Tyr Leu Asp Gln Lys Cys Leu Ile Glu Lys His Glu Gly Gly
 35 40 45

Leu Glu Glu Phe Ser Lys Gly Tyr Leu Lys Phe Gly Ile Asn Thr Val
 50 55 60

Asp Gly Ala Thr Ile Tyr Arg Glu Trp Ala Pro Ala Ala Gln Glu Ala
 65 70 75 80

Gln Leu Ile Gly Glu Phe Asn Asn Trp Asn Gly Ala Lys His Lys Met
 85 90 95

Glu Lys Asp Lys Phe Gly Ile Trp Ser Ile Lys Ile Ser His Val Asn
 100 105 110

Gly Lys Pro Ala Ile Pro His Asn Ser Lys Val Lys Phe Arg Phe Arg
 115 120 125

His Gly Gly Gly Ala Trp Val Asp Arg Ile Pro Ala Trp Ile Arg Tyr
 130 135 140

Ala Thr Phe Asp Ala Ser Lys Phe Gly Ala Pro Tyr Asp Gly Val His
 145 150 155 160

Trp Asp Pro Pro Ala Cys Glu Arg Tyr Val Phe Lys His Pro Arg Pro
 165 170 175

Pro Lys Pro Asp Ala Pro Arg Ile Tyr Glu Ala His Val Gly Met Ser
 180 185 190

Gly Glu Glu Pro Glu Val Ser Thr Tyr Arg Glu Phe Ala Asp Asn Val
 195 200 205

Leu Pro Arg Ile Arg Ala Asn Asn Tyr Asn Thr Val Gln Leu Met Ala
 210 215 220

Ile Met Glu His Ser Tyr Tyr Ala Ser Phe Gly Tyr His Val Thr Asn
 225 230 235 240

110501

46
Phe Phe Ala Val Ser Ser Arg Ser Gly Thr Pro Glu Asp Leu Lys Tyr
245 250 255

Leu Val Asp Lys Ala His Ser Leu Gly Leu Arg Val Leu Met Asp Val
260 265 270

Val His Ser His Ala Ser Asn Asn Val Thr Asp Gly Leu Asn Gly Tyr
275 280 285

Asp Val Gly Gln Asn Thr His Glu Ser Tyr Phe His Thr Gly Asp Arg
290 295 300

Gly Tyr His Lys Leu Trp Asp Ser Arg Leu Phe Asn Tyr Ala Asn Trp
305 310 315 320

Glu Val Leu Arg Phe Leu Leu Ser Asn Leu Arg Tyr Trp Met Asp Glu
325 330 335

Phe Met Phe Asp Gly Phe Arg Phe Asp Gly Val Thr Ser Met Leu Tyr
340 345 350

His His His Gly Ile Asn Lys Gly Phe Thr Gly Asn Tyr Lys Glu Tyr
355 360 365

Phe Ser Leu Asp Thr Asp Val Asp Ala Ile Val Tyr Met Met Leu Ala
370 375 380

Asn His Leu Met His Lys Leu Leu Pro Glu Ala Thr Ile Val Ala Glu
385 390 395 400

Asp Val Ser Gly Met Pro Val Leu Cys Arg Pro Val Asp Glu Gly Gly
405 410 415

Val Gly Phe Asp Phe Arg Leu Ala Met Ala Ile Pro Asp Arg Trp Ile
420 425 430

Asp Tyr Leu Lys Asn Lys Glu Asp Arg Lys Trp Ser Met Ser Glu Ile
435 440 445

Val Gln Thr Leu Thr Asn Arg Arg Tyr Thr Glu Lys Cys Ile Ala Tyr
450 455 460

Ala Glu Ser His Asp Gln Ser Ile Val Gly Asp Lys Thr Ile Ala Phe
465 470 475 480

Leu Leu Met Asp Lys Glu Met Tyr Thr Gly Met Ser Asp Leu Gln Pro
485 490 495

110501

Ala Ser Pro Thr Ile Asn Arg Gly Ile Ala Leu Gln Lys Met Ile His
500 505 510

Phe Ile Thr Met Ala Leu Gly Gly Asp Gly Tyr Leu Asn Phe Met Gly
515 520 525

Asn Glu Phe Gly His Pro Glu Trp Ile Asp Phe Pro Arg Glu Gly Asn
530 535 540

Asn Trp Ser Tyr Asp Lys Cys Arg Arg Gln Trp Ser Leu Val Asp Thr
545 550 555 560

Asp His Leu Arg Tyr Lys Tyr Met Asn Ala Phe Asp Gln Ala Met Asn
565 570 575

Ala Leu Glu Glu Glu Phe Ser Phe Leu Ser Ser Ser Lys Gln Ile Val
580 585 590

Ser Asp Met Asn Glu Lys Asp Lys Val Ile Val Phe Glu Arg Gly Asp
595 600 605

Leu Val Phe Val Phe Asn Phe His Pro Asn Lys Thr Tyr Lys Gly Tyr
610 615 620

Lys Val Gly Cys Asp Leu Pro Gly Lys Tyr Arg Val Ala Leu Asp Ser
625 630 635 640

Asp Ala Leu Val Phe Gly Gly His Gly Arg Val Gly His Asp Val Asp
645 650 655

His Phe Thr Ser Pro Glu Gly Met Pro Gly Val Pro Glu Thr Asn Phe
660 665 670

Asn Asn Arg Pro Asn Ser Phe Lys Val Leu Ser Pro Pro Arg Thr Cys
675 680 685

Val Ala Tyr Tyr Arg Val Asp Glu Asp Arg Glu Glu Leu Arg Arg Gly
690 695 700

Gly Ala Val Ala Ser Gly Lys Ile Val Thr Glu Tyr Ile Asp Val Glu
705 710 715 720

Ala Thr Ser Gly Glu Thr Ile Ser Gly Gly Trp Lys Gly Ser Glu Lys
725 730 735

Asp Asp Cys Gly Lys Lys Gly Met Lys Phe Val Phe Arg Ser Ser Asp
740 745 750

Glu Asp Cys Lys

48

755

<210> 25

<211> 762

<212> PRT

<213> Pisum sativum

<400> 25

Thr Met Pro Ser Val Glu Glu Asp Phe Glu Asn Ile Gly Ile Leu Asn
 1 5 10 15

Val Asp Ser Ser Leu Glu Pro Phe Lys Asp His Phe Lys Tyr Arg Leu
 20 25 30

Lys Arg Tyr Leu His Gln Lys Lys Leu Ile Glu Glu Tyr Glu Gly Gly
 35 40 45

Leu Gln Glu Phe Ala Lys Gly Tyr Leu Lys Phe Gly Phe Asn Arg Glu
 50 55 60

Glu Asp Gly Ile Ser Tyr Arg Glu Trp Ala Pro Ala Ala Gln Glu Ala
 65 70 75 80

Gln Ile Ile Gly Asp Phe Asn Gly Trp Asn Gly Ser Asn Leu His Met
 85 90 95

Glu Lys Asp Gln Phe Gly Val Trp Ser Ile Gln Ile Pro Asp Ala Asp
 100 105 110

Gly Asn Pro Ala Ile Pro His Asn Ser Arg Val Lys Phe Arg Phe Lys
 115 120 125

His Ser Asp Gly Val Trp Val Asp Arg Ile Pro Ala Trp Ile Lys Tyr
 130 135 140

Ala Thr Val Asp Pro Thr Arg Phe Ala Ala Pro Tyr Asp Gly Val Tyr
 145 150 155 160

Trp Asp Pro Pro Leu Ser Glu Arg Tyr Gln Phe Lys His Pro Arg Pro
 165 170 175

Pro Lys Pro Lys Ala Pro Arg Ile Tyr Glu Ala His Val Gly Met Ser
 180 185 190

Ser Ser Glu Pro Arg Ile Asn Ser Tyr Arg Glu Phe Ala Asp Asp Val
 195 200 205

Leu Pro Arg Ile Arg Glu Asn Asn Tyr Asn Thr Val Gln Leu Met Ala
 210 215 220

Val Met Glu His Ser Tyr Tyr Ala Ser Phe Trp Tyr His Val Thr Lys
 225 230 235 240

Pro Phe Phe Ala Val Ser Ser Arg Ser Gly Ser Pro Glu Asp Leu Lys
 245 250 255

Tyr Leu Ile Asp Lys Ala His Ser Leu Gly Leu Asn Val Leu Met Asp
 260 265 270

Val Ile His Ser His Ala Ser Asn Asn Val Thr Asp Gly Leu Asn Gly
 275 280 285

Phe Asp Val Gly Gln Ser Ser Gln Gln Ser Tyr Phe His Ala Gly Asp
 290 295 300

Arg Gly Tyr His Lys Leu Trp Asp Ser Arg Leu Phe Asn Tyr Ala Asn
 305 310 315 320

Trp Lys Ser Ser Phe Leu Leu Ser Asn Leu Arg Trp Trp Leu Glu Glu
 325 330 335

Tyr Lys Phe Asp Gly Phe Arg Phe Asp Gly Val Thr Ser Met Leu Tyr
 340 345 350

His His His Gly Ile Asn Met Ala Phe Thr Gly Asp Tyr Asn Glu Tyr
 355 360 365

Phe Ser Glu Glu Thr Asp Val Asp Ala Val Val Tyr Leu Met Leu Ala
 370 375 380

Asn Ser Leu Val His Asp Ile Leu Pro Asp Ala Thr Asp Ile Ala Glu
 385 390 395 400

Asp Val Ser Gly Met Pro Gly Leu Gly Arg Pro Val Ser Glu Val Gly
 405 410 415

Ile Gly Phe Asp Tyr Arg Leu Ala Met Ala Ile Pro Asp Lys Trp Ile
 420 425 430

Asp Tyr Leu Lys Asn Lys Lys Asp Ser Glu Trp Ser Met Lys Glu Ile
 435 440 445

Ser Leu Asn Leu Thr Asn Arg Arg Tyr Thr Glu Lys Cys Val Ser Tyr
 450 455 460

11.05.01

50

Ala Glu Ser His Asp Gln Ser Ile Val Gly Asp Lys Thr Ile Ala Phe
465 470 475 480

Leu Leu Met Asp Glu Glu Met Tyr Ser Ser Met Ser Cys Leu Thr Met
485 490 495

Leu Ser Pro Thr Ile Glu Arg Gly Ile Ser Leu His Lys Met Ile His
500 505 510

Phe Ile Thr Leu Ala Leu Gly Gly Glu Gly Tyr Leu Asn Phe Met Gly
515 520 525

Asn Glu Phe Gly His Pro Glu Trp Ile Asp Phe Pro Arg Glu Gly Asn
530 535 540

Gly Trp Ser Tyr Glu Lys Cys Arg Leu Thr Gln Trp Asn Leu Val Asp
545 550 555 560

Thr Asn His Leu Arg Tyr Lys Phe Met Asn Ala Phe Asp Arg Ala Met
565 570 575

Asn Leu Leu Asp Asp Lys Phe Ser Ile Leu Ala Ser Thr Lys Gln Ile
580 585 590

Val Ser Ser Thr Asn Asn Glu Asp Lys Val Ile Val Phe Glu Arg Gly
595 600 605

Asp Leu Val Phe Val Phe Asn Phe His Pro Glu Asn Thr Tyr Glu Gly
610 615 620

Tyr Lys Val Gly Cys Asp Leu Pro Gly Lys Tyr Arg Val Ala Leu Asp
625 630 635 640

Ser Asp Ala Thr Glu Phe Gly Gly His Gly Arg Val Gly His Asp Ala
645 650 655

Asp Gln Phe Thr Ser Pro Glu Gly Ile Pro Gly Ile Pro Glu Thr Asn
660 665 670

Phe Asn Asn Arg Pro Asn Ser Phe Lys Val Leu Ser Pro Pro His Thr
675 680 685

Cys Val Val Tyr Tyr Arg Val Asp Glu Arg Gln Glu Glu Ser Asn Asn
690 695 700

Pro Asn Leu Gly Ser Val Glu Glu Thr Phe Ala Ala Ala Asp Thr Asp
705 710 715 720

Val Ala Arg Ile Pro Asp Val Ser Met Glu Ser Glu Asp Ser Asn Leu
 725 730 735

Asp Arg Ile Glu Asp Asn Ser Glu Asp Ala Val Asp Ala Gly Ile Leu
 740 745 750

Lys Val Glu Arg Glu Val Val Gly Asp Asn
 755 760

<210> 26

<211> 984

<212> DNA

<213> Triticum aestivum

<400> 26

```

atatgtatga ttccatggct ctggatagac cttcaactcc tcgcattgat cgtggcatag 60
cattacataa aatgatcagg cttgtcacca tgggttttagg tggcgaaggc tatcttaact 120
tcatgggaaa tgagtttggg catcctgaat ggatagattt tccaagaggt ccgcaaactc 180
ttccaaccgg caaagttctc cctggaaata acaatagtta tgataaatgc cgccgtagat 240
ttgatcttgg agatgcagat tttcttagat atcgtggtat gcaagagtcg gaccaggcaa 300
tgcagcatct tgaggaaaaa tatgggttta tgacatctga gcaccagtat gtttcacgga 360
aacatgagga agataaggtg atcatcttcg aaagaggaga tttggtattc gttttcaact 420
tccaccggag caatagcttt tttgactacc gtgttgggtg ttccaggcct gggaagtaca 480
aggtggcctt agactccgac gatgcactct ttggtggatt cagcaggcct gatcatgatg 540
tcgactactt cacaaccgaa catccgcatg acaacaggcc gcgctcttc tcggtgtaca 600
ctccgagcag aactgcggtc gtgtatgcc ttacagagta agaaccagca gctgcttgtt 660
acaaggcaaa gagagaactc cagagagctc gtggatcgtg agcgaagcga cgggcaaccg 720
cgcgaggctg ctctaagcgc catgactggg aggggatcgt gcctcttccc cagatgccag 780
gaggagcaga tggataggta gotttgttgg gagcgctcga aagaaaatgg acgggacctg 840
gtgtttgtcg tgctgcacta cctcctcct atcttgaca ttcccgggtg tctttgtaca 900
tataactaat aattgcccgt gcgctcaacg tgaacatata aatattctaa taataggtta 960
tcccgtgaaa aaaaaaaaaa aaaa 984

```

<210> 27

<211> 977

<212> DNA

<213> Triticum aestivum

<400> 27

```

atatgtatga ttccatggct ctggatagac cttcaactcc tcgcattgat cgtggcatag 60
cattacataa aatgatcagg cttgtcacca tgggttttagg tggcgaaggc tatcttaact 120
tcatgggaaa tgagtttggg catcctgaat ggatagattt tccaagaggt ccgcaaactc 180
ttccaaccgg caaagttctc cctggaaata acaatagtta tgataaatgc cgccgtagat 240
ttgatcttgg agatgcagat tttcttagat atcgtggtat gcaagagttc gaccaggcaa 300
tgcagcatct tgaggaaaaa tatgggttta tgacatctga gcaccagtat gtttcacgga 360
aacatgagga agataaggtg atcatcttcg aaagaggaga tttggtattt gttttcaact 420

```

tccactggag caatagcttt ttgactacc gtgttgggtg ttccaagcct gggaagtaca 480
 aggtggcctt agactccgac gatgcactct ttggtggatt cagcaggctt gatcatgatg 540
 tcgactactt cacaaccgaa catccgcatg acaataggcc gcgctctttc ttggtgtaca 600
 ctccctagcag aactgcggtc gtgtatgccc ttacagagta agaaccagca ggggcttgtt 660
 acaaggcaaa gagagaactc cagggagctc gtggattgtg agcgaagcga cgggcaactg 720
 cgtgaggctg ctctaagcgc catgactggg aggggatcgt gcctcttccc ctgatgccag 780
 gaggatcaga tggataggta gcttggttggg gagcgctcga aagaaaatgg acgggcctgg 840
 gtgtttgtcg tgctgcactt aaccctcctc ctatgttgca cattcccggg tgtttttgta 900
 catataacta ataattgccc gtgcgcttca acatgaacat ataaatatcc tatataaaaa 960
 aaaaaaaaaa aaaaaaa 977

<210> 28

<211> 212

<212> PRT

<213> Triticum aestivum

<400> 28

Met Tyr Asp Phe Met Ala Leu Asp Arg Pro Ser Thr Pro Arg Ile Asp
 1 5 10 15

Arg Gly Ile Ala Leu His Lys Met Ile Arg Leu Val Thr Met Gly Leu
 20 25 30

Gly Gly Glu Gly Tyr Leu Asn Phe Met Gly Asn Glu Phe Gly His Pro
 35 40 45

Glu Trp Ile Asp Phe Pro Arg Gly Pro Gln Thr Leu Pro Thr Gly Lys
 50 55 60

Val Leu Pro Gly Asn Asn Asn Ser Tyr Asp Lys Cys Arg Arg Arg Phe
 65 70 75 80

Asp Leu Gly Asp Ala Asp Phe Leu Arg Tyr Arg Gly Met Gln Glu Phe
 85 90 95

Asp Gln Ala Met Gln His Leu Glu Glu Lys Tyr Gly Phe Met Thr Ser
 100 105 110

Glu His Gln Tyr Val Ser Arg Lys His Glu Glu Asp Lys Val Ile Ile
 115 120 125

Phe Glu Arg Gly Asp Leu Val Phe Val Phe Asn Phe His Trp Ser Asn
 130 135 140

Ser Phe Phe Asp Tyr Arg Val Gly Cys Ser Lys Pro Gly Lys Tyr Lys
 145 150 155 160

Val Ala Leu Asp Ser Asp Asp Ala Leu Phe Gly Gly Phe Ser Arg Leu

110501

53

165

170

175

Asp His Asp Val Asp Tyr Phe Thr Thr Glu His Pro His Asp Asn Arg
180 185 190

Pro Arg Ser Phe Leu Val Tyr Thr Pro Ser Arg Thr Ala Val Val Tyr
195 200 205

Ala Leu Thr Glu
210

<210> 29

<211> 212

<212> PRT

<213> Zea mays

<400> 29

Met Tyr Asp Phe Met Ala Leu Asp Arg Pro Ser Thr Pro Thr Ile Asp
1 5 10 15

Arg Gly Ile Ala Leu His Lys Met Ile Arg Leu Ile Thr Met Gly Leu
20 25 30

Gly Gly Glu Gly Tyr Leu Asn Phe Met Gly Asn Glu Phe Gly His Pro
35 40 45

Glu Trp Ile Asp Phe Pro Arg Gly Pro Gln Arg Leu Pro Ser Gly Lys
50 55 60

Phe Ile Pro Gly Asn Asn Asn Ser Tyr Asp Lys Cys Arg Arg Arg Phe
65 70 75 80

Asp Leu Gly Asp Ala Asp Tyr Leu Arg Tyr His Gly Met Gln Glu Phe
85 90 95

Asp Gln Ala Met Gln His Leu Glu Gln Lys Tyr Glu Phe Met Thr Ser
100 105 110

Asp His Gln Tyr Ile Ser Arg Lys His Glu Glu Asp Lys Val Ile Val
115 120 125

Phe Glu Lys Gly Asp Leu Val Phe Val Phe Asn Phe His Cys Asn Asn
130 135 140

Ser Tyr Phe Asp Tyr Arg Ile Gly Cys Arg Lys Pro Gly Val Tyr Lys
145 150 155 160

110501

54
Val Val Leu Asp Ser Asp Ala Gly Leu Phe Gly Gly Phe Ser Arg Ile
165 170 175

His His Ala Ala Glu His Phe Thr Ala Asp Cys Ser His Asp Asn Arg
180 185 190

Pro Tyr Ser Phe Ser Val Tyr Thr Pro Ser Arg Thr Cys Val Val Tyr
195 200 205

Ala Pro Val Glu
210

<210> 30
<211> 216
<212> PRT
<213> Zea mays

<400> 30
Met Tyr Asp Phe Met Ala Leu Asp Arg Pro Ser Thr Pro Arg Ile Asp
1 5 10 15

Arg Gly Ile Ala Leu His Lys Met Ile Arg Leu Val Thr Met Gly Leu
20 25 30

Gly Gly Glu Gly Tyr Leu Asn Phe Met Gly Asn Glu Phe Gly His Pro
35 40 45

Glu Trp Ile Asp Phe Pro Arg Gly Pro Gln Ser Leu Pro Asn Gly Ser
50 55 60

Val Ile Pro Gly Asn Asn Asn Ser Phe Asp Lys Cys Arg Arg Arg Phe
65 70 75 80

Asp Leu Gly Asp Ala Asp Tyr Leu Arg Tyr Arg Gly Met Gln Glu Phe
85 90 95

Asp Gln Ala Met Gln His Leu Glu Gly Lys Tyr Glu Phe Met Thr Ser
100 105 110

Asp His Ser Tyr Phe Ser Arg Lys His Glu Glu Asp Lys Val Ile Ile
115 120 125

Phe Glu Arg Gly Asp Leu Val Phe Val Phe Asn Phe His Trp Ser Asn
130 135 140

Ser Tyr Phe Asp Tyr Arg Val Gly Cys Phe Lys Pro Gly Lys Tyr Lys
145 150 155 160

55

Ile Val Leu Asp Ser Asp Asp Gly Leu Phe Gly Gly Phe Ser Arg Leu
 165 170 175

Asp His Asp Ala Glu Tyr Phe Thr Ala Asp Trp Pro His Asp Asn Arg
 180 185 190

Pro Cys Ser Phe Ser Val Tyr Ala Pro Ser Arg Thr Ala Val Val Tyr
 195 200 205

Ala Pro Ala Gly Ala Glu Asp Glu
 210 215

<210> 31

<211> 217

<212> DNA

<213> Zea mays

<400> 31

tagcgggggta ctcgttgctg cgcggcatgt gtggggctgt cgatgtgagg aaaaaccttc 60
 ttccaaaacc ggcagatgca tgcattgcatg ctacaataag gttctgatac tttaatcgat 120
 gctggaaagc ccatgcatct cgctgcgttg tctctcttat atatataaga ccttcaaggt 180
 gtcaattaaa catagagttt tcgttttttcg ctttctct 217

<210> 32

<211> 686

<212> PRT

<213> Triticum aestivum

<400> 32

Met Leu Cys Leu Ser Ser Ser Leu Leu Pro Arg Pro Ser Ala Ala Ala
 1 5 10 15

Asp Arg Pro Leu Pro Gly Ile Ile Ala Gly Gly Gly Gly Gly Lys Arg
 20 25 30

Leu Ser Val Val Pro Ser Val Pro Phe Leu Leu Arg Trp Leu Trp Pro
 35 40 45

Arg Lys Ala Lys Ser Lys Ser Phe Val Ser Val Thr Ala Arg Gly Asn
 50 55 60

Lys Ile Ala Ala Thr Thr Gly Tyr Gly Ser Asp His Leu Pro Ile Tyr
 65 70 75 80

Asp Leu Asp Leu Lys Leu Ala Glu Phe Lys Asp His Phe Asp Tyr Thr
 85 90 95

110601

56

Arg Asn Arg Tyr Ile Glu Gln Lys His Leu Ile Glu Lys His Glu Gly		
100	105	110
Ser Leu Glu Glu Phe Ser Lys Gly Tyr Leu Lys Phe Gly Ile Asn Thr		
115	120	125
Glu His Gly Ala Ser Val Tyr Arg Glu Trp Ala Pro Ala Ala Glu Glu		
130	135	140
Ala Gln Leu Val Gly Asp Phe Asn Asn Trp Asn Gly Ser Gly His Lys		
145	150	155 160
Met Ala Lys Asp Asn Phe Gly Val Trp Ser Ile Arg Ile Ser His Val		
165	170	175
Asn Gly Lys Pro Ala Ile Pro His Asn Ser Lys Val Lys Phe Arg Phe		
180	185	190
Arg His His Gly Val Trp Val Glu Gln Ile Pro Ala Trp Ile Arg Tyr		
195	200	205
Ala Thr Val Thr Ala Ser Glu Ser Gly Ala Pro Tyr Asp Gly Leu His		
210	215	220
Trp Asp Pro Pro Ser Ser Glu Arg Tyr Val Phe Asn His Pro Arg Pro		
225	230	235 240
Pro Lys Pro Asp Val Pro Arg Ile Tyr Glu Ala His Val Gly Val Ser		
245	250	255
Gly Gly Lys Leu Glu Ala Gly Thr Tyr Arg Glu Phe Pro Asp Asn Val		
260	265	270
Leu Pro Cys Leu Arg Ala Thr Asn Tyr Asn Thr Val Gln Leu Met Gly		
275	280	285
Ile Met Glu His Ser Asp Ser Ala Ser Phe Gly Tyr His Val Thr Asn		
290	295	300
Phe Phe Ala Val Ser Ser Arg Ser Gly Thr Pro Glu Asp Leu Lys Tyr		
305	310	315 320
Leu Ile Asp Lys Ala His Ser Leu Gly Leu Arg Val Leu Met Asp Val		
325	330	335
Val His Ser His Ala Ser Asn Asn Val Ile Asp Gly Leu Asn Gly Tyr		
340	345	350

11.06.01

57

Asp Val Gly Gln Ser Ala His Glu Ser Tyr Phe Tyr Thr Gly Asp Lys
355 360 365

Gly Tyr Asn Lys Met Trp Asn Gly Arg Met Phe Asn Tyr Ala Asn Trp
370 375 380

Glu Val Leu Arg Phe Leu Leu Ser Asn Leu Arg Tyr Trp Met Asp Glu
385 390 395 400

Phe Met Phe Asp Gly Phe Arg Phe Val Gly Val Thr Ser Met Leu Tyr
405 410 415

Asn His Asn Gly Ile Asn Met Ser Phe Asn Gly Asn Tyr Lys Asp Tyr
420 425 430

Ile Gly Leu Asp Thr Asn Val Asp Ala Phe Val Tyr Met Met Leu Ala
435 440 445

Asn His Leu Met His Lys Leu Phe Pro Glu Ala Ile Val Val Ala Val
450 455 460

Asp Val Ser Gly Met Pro Val Leu Cys Trp Pro Val Asp Glu Gly Gly
465 470 475 480

Leu Gly Phe Asp Tyr Arg Gln Ala Met Thr Ile Pro Asp Arg Trp Ile
485 490 495

Asp Tyr Leu Glu Asn Lys Gly Asp Gln Gln Trp Ser Met Ser Ser Val
500 505 510

Ile Ser Gln Thr Leu Thr Asn Arg Arg Tyr Pro Glu Lys Phe Ile Ala
515 520 525

Tyr Ala Glu Arg Gln Asn His Ser Ile Ile Gly Ser Lys Thr Met Ala
530 535 540

Phe Leu Leu Met Glu Trp Glu Thr Tyr Ser Gly Met Ser Ala Met Asp
545 550 555 560

Pro Asp Ser Pro Thr Ile Asp Arg Ala Ile Ala Leu Gln Lys Met Ile
565 570 575

His Phe Ile Thr Met Ala Phe Gly Gly Asp Ser Tyr Leu Lys Phe Met
580 585 590

Gly Asn Glu Tyr Met Asn Ala Phe Val Gln Ala Val Asp Thr Pro Ser
595 600 605

110601

58

Asp Lys Cys Ser Phe Leu Ser Ser Ser Asn Gln Thr Ala Ser His Met
610 615 620

Asn Glu Glu Glu Lys Gly Ser Ala Leu Thr Lys Gly Tyr Thr His Leu
625 630 635 640

Arg Ser Gly Cys Phe Asp Pro Ser Leu Pro Ser Thr Ser Ser Cys Ala
645 650 655

Phe Leu Gly Pro Ser Asn Gln Ser Pro Phe Ser Lys Pro Phe Ile Gly
660 665 670

Phe Pro Gly Cys Ile Phe Cys Cys Gly Leu Phe Lys Gly Glu
675 680 685

<210> 33

<211> 830

<212> PRT

<213> Triticum aestivum

<400> 33

Met Leu Cys Leu Thr Ala Pro Ser Cys Ser Pro Ser Leu Pro Pro Arg
1 5 10 15

Pro Ser Arg Pro Ala Ala Asp Arg Pro Gly Pro Gly Ile Ser Gly Gly
20 25 30

Gly Asn Val Arg Leu Ser Ala Val Pro Ala Pro Ser Ser Leu Arg Trp
35 40 45

Ser Trp Pro Arg Lys Ala Lys Ser Lys Phe Ser Val Pro Val Ser Ala
50 55 60

Pro Arg Asp Tyr Thr Met Ala Thr Ala Glu Asp Gly Val Gly Asp Leu
65 70 75 80

Pro Ile Tyr Asp Leu Asp Pro Lys Phe Ala Gly Phe Lys Glu His Phe
85 90 95

Ser Tyr Arg Met Lys Lys Tyr Leu Asp Gln Lys His Ser Ile Glu Lys
100 105 110

His Glu Gly Gly Leu Glu Glu Phe Ser Lys Gly Tyr Leu Lys Phe Gly
115 120 125

Ile Asn Thr Glu Asn Asp Ala Thr Val Tyr Arg Glu Trp Ala Pro Ala

110601

59

130

135

140

Ala Met Asp Ala Gln Leu Ile Gly Asp Phe Asn Asn Trp Asn Gly Ser
 145 150 155 160

Gly His Arg Met Thr Lys Asp Asn Tyr Gly Val Trp Ser Ile Arg Ile
 165 170 175

Ser His Val Asn Gly Lys Pro Ala Ile Pro His Asn Ser Lys Val Lys
 180 185 190

Phe Arg Phe His Arg Gly Asp Gly Leu Trp Val Asp Arg Val Pro Ala
 195 200 205

Trp Ile Arg Tyr Ala Thr Phe Asp Ala Ser Lys Phe Gly Ala Pro Tyr
 210 215 220

Asp Gly Val His Trp Asp Pro Pro Ser Gly Glu Arg Tyr Val Phe Lys
 225 230 235 240

His Pro Arg Pro Arg Lys Pro Asp Ala Pro Arg Ile Tyr Glu Ala His
 245 250 255

Val Gly Met Ser Gly Glu Lys Pro Glu Val Ser Thr Tyr Arg Glu Phe
 260 265 270

Ala Asp Asn Val Leu Pro Arg Ile Lys Ala Asn Asn Tyr Asn Thr Val
 275 280 285

Gln Leu Met Ala Ile Met Glu His Ser Tyr Tyr Ala Ser Phe Gly Tyr
 290 295 300

His Val Thr Asn Phe Phe Ala Val Ser Ser Arg Ser Gly Thr Pro Glu
 305 310 315 320

Asp Leu Lys Tyr Leu Val Asp Lys Ala His Ser Leu Gly Leu Arg Val
 325 330 335

Leu Met Asp Val Val His Ser His Ala Ser Ser Asn Lys Thr Asp Gly
 340 345 350

Leu Asn Gly Tyr Asp Val Gly Gln Asn Thr Gln Glu Ser Tyr Phe His
 355 360 365

Thr Gly Glu Arg Gly Tyr His Lys Leu Trp Asp Ser Arg Leu Phe Asn
 370 375 380

Tyr Ala Asn Trp Glu Val Leu Arg Phe Leu Leu Ser Asn Leu Arg Tyr

110601

60

385	390	395	400
Trp Met Asp Glu Phe Met Phe Asp Gly Phe Arg Phe Asp Gly Val Thr	405	410	415
Ser Met Leu Tyr Asn His His Gly Ile Asn Met Ser Phe Ala Gly Ser	420	425	430
Tyr Lys Glu Tyr Phe Gly Leu Asp Thr Asp Val Asp Ala Val Val Tyr	435	440	445
Leu Met Leu Ala Asn His Leu Met His Lys Leu Leu Pro Glu Ala Thr	450	455	460
Val Val Ala Glu Asp Val Ser Gly Met Pro Val Leu Cys Arg Ser Val	465	470	475
Asp Glu Gly Gly Val Gly Phe Asp Tyr Arg Leu Ala Met Ala Ile Pro	485	490	495
Asp Arg Trp Ile Asp Tyr Leu Lys Asn Lys Asp Asp Leu Glu Trp Ser	500	505	510
Met Ser Gly Ile Ala His Thr Leu Thr Asn Arg Arg Tyr Thr Glu Lys	515	520	525
Cys Ile Ala Tyr Ala Glu Ser His Asp Gln Ser Ile Val Gly Asp Lys	530	535	540
Thr Met Ala Phe Leu Leu Met Asp Lys Glu Met Tyr Thr Gly Met Ser	545	550	555
Asp Leu Gln Pro Ala Ser Pro Thr Ile Asp Arg Gly Ile Ala Leu Gln	565	570	575
Lys Met Ile His Phe Ile Thr Met Ala Leu Gly Gly Asp Gly Tyr Leu	580	585	590
Asn Phe Met Gly Asn Glu Phe Gly His Pro Glu Trp Ile Asp Phe Pro	595	600	605
Arg Glu Gly Asn Asn Trp Ser Tyr Asp Lys Cys Arg Arg Gln Trp Ser	610	615	620
Leu Ala Asp Ile Asp His Leu Arg Tyr Lys Tyr Met Asn Ala Phe Asp	625	630	635
Gln Ala Met Asn Ala Leu Asp Asp Lys Phe Ser Phe Leu Ser Ser Ser			640

110601

61

645

650

655

Lys Gln Ile Val Ser Asp Met Asn Glu Glu Lys Lys Ile Ile Val Phe
660 665 670

Glu Arg Gly Asp Leu Val Phe Val Phe Asn Phe His Pro Ser Lys Thr
675 680 685

Tyr Asp Gly Tyr Lys Val Gly Cys Asp Leu Pro Gly Lys Tyr Lys Val
690 695 700

Ala Leu Asp Ser Asp Ala Leu Met Phe Gly Gly His Gly Arg Val Ala
705 710 715 720

His Asp Asn Asp His Phe Thr Ser Pro Glu Gly Val Pro Gly Val Pro
725 730 735

Glu Thr Asn Phe Asn Asn Arg Pro Asn Ser Phe Lys Ile Leu Ser Pro
740 745 750

Ser Arg Thr Cys Val Ala Tyr Tyr Arg Val Glu Glu Lys Ala Glu Lys
755 760 765

Pro Lys Asp Glu Gly Ala Ala Ser Trp Gly Lys Thr Ala Leu Gly Tyr
770 775 780

Ile Asp Val Glu Ala Thr Gly Val Lys Asp Ala Ala Asp Gly Glu Ala
785 790 795 800

Thr Ser Gly Ser Glu Lys Ala Ser Thr Gly Gly Asp Ser Ser Lys Lys
805 810 815

Gly Ile Asn Phe Val Phe Leu Ser Pro Asp Lys Asp Asn Lys
820 825 830

<210> 34

<211> 818

<212> PRT

<213> Triticum aestivum

<400> 34

Met Ala Thr Phe Ala Val Ser Gly Trp Thr Leu Gly Val Ala Arg Pro
1 5 10 15

Ala Gly Ala Gly Gly Gly Leu Leu Pro Arg Ser Gly Ser Glu Arg Arg
20 25 30

110601

62

Gly Gly Val Asp Leu Pro Ser Leu Leu Leu Arg Lys Lys Asp Ser Ser
 35 40 45

Arg Ala Ala Ser Pro Gly Lys Val Leu Val Pro Asp Gly Glu Ser Asp
 50 55 60

Asp Leu Ala Ser Pro Ala Gln Pro Glu Glu Leu Gln Ile Pro Glu Asp
 65 70 75 80

Ile Glu Glu Gln Thr Ala Glu Val Asn Met Thr Gly Gly Thr Ala Glu
 85 90 95

Lys Leu Glu Ser Ser Glu Pro Thr Gln Gly Ile Val Glu Thr Ile Thr
 100 105 110

Asp Gly Val Thr Lys Gly Val Lys Glu Leu Val Val Gly Glu Lys Pro
 115 120 125

Arg Val Val Pro Lys Pro Gly Asp Gly Gln Lys Ile Tyr Glu Ile Asp
 130 135 140

Pro Thr Leu Lys Asp Phe Arg Ser His Leu Asp Tyr Arg Tyr Ser Glu
 145 150 155 160

Tyr Arg Arg Ile Arg Ala Ala Ile Asp Gln His Glu Gly Gly Leu Glu
 165 170 175

Ala Phe Ser Arg Gly Tyr Glu Lys Leu Gly Phe Thr Arg Ser Ala Glu
 180 185 190

Gly Ile Thr Tyr Arg Glu Trp Ala Pro Gly Ala His Ser Ala Ala Leu
 195 200 205

Val Gly Asp Phe Asn Asn Trp Asn Pro Asn Ala Asp Thr Met Thr Arg
 210 215 220

Asp Asp Tyr Gly Val Trp Glu Ile Phe Leu Pro Asn Asn Ala Asp Gly
 225 230 235 240

Ser Pro Ala Ile Pro His Gly Ser Arg Val Lys Ile Arg Met Asp Thr
 245 250 255

Pro Ser Gly Val Lys Asp Ser Ile Ser Ala Trp Ile Lys Phe Ser Val
 260 265 270

Gln Ala Pro Gly Glu Ile Pro Phe Asn Gly Ile Tyr Tyr Asp Pro Pro
 275 280 285

Glu Glu Glu Lys Tyr Val Phe Gln His Pro Gln Pro Lys Arg Pro Glu
 290 295 300

Ser Leu Arg Ile Tyr Glu Ser His Ile Gly Met Ser Ser Pro Glu Pro
 305 310 315 320

Lys Ile Asn Ser Tyr Ala Asn Phe Arg Asp Glu Val Leu Pro Arg Ile
 325 330 335

Lys Arg Leu Gly Tyr Asn Ala Val Gln Ile Met Ala Ile Gln Glu His
 340 345 350

Ser Tyr Tyr Ala Ser Phe Gly Tyr His Val Thr Asn Phe Phe Ala Pro
 355 360 365

Ser Ser Arg Phe Gly Thr Pro Glu Asp Leu Lys Ser Leu Ile Asp Arg
 370 375 380

Ala His Glu Leu Gly Leu Ile Val Leu Met Asp Ile Val His Ser His
 385 390 395 400

Ser Ser Asn Asn Thr Leu Asp Gly Leu Asn Gly Phe Asp Gly Thr Asp
 405 410 415

Thr His Tyr Phe His Gly Gly Pro Arg Gly His His Trp Met Trp Asp
 420 425 430

Ser Arg Leu Phe Asn Tyr Gly Ser Trp Glu Val Leu Arg Phe Leu Leu
 435 440 445

Ser Asn Ala Arg Trp Trp Leu Glu Glu Tyr Lys Phe Asp Gly Phe Arg
 450 455 460

Phe Asp Gly Val Thr Ser Met Met Tyr Thr His His Gly Leu Gln Met
 465 470 475 480

Thr Phe Thr Gly Asn Tyr Gly Glu Tyr Phe Gly Phe Ala Thr Asp Val
 485 490 495

Asp Ala Val Val Tyr Leu Met Leu Val Asn Asp Leu Ile His Gly Leu
 500 505 510

His Pro Asp Ala Val Ser Ile Gly Glu Asp Val Ser Gly Met Pro Thr
 515 520 525

Phe Cys Ile Pro Val Pro Asp Gly Gly Val Gly Leu Asp Tyr Arg Leu
 530 535 540

His Met Ala Val Ala Asp Lys Trp Ile Glu Leu Leu Lys Gln Ser Asp
 545 550 555 560
 Glu Ser Trp Lys Met Gly Asp Ile Val His Thr Leu Thr Asn Arg Arg
 565 570 575
 Trp Leu Glu Lys Cys Val Thr Tyr Ala Glu Ser His Asp Gln Ala Leu
 580 585 590
 Val Gly Asp Lys Thr Ile Ala Phe Trp Leu Met Asp Lys Asp Met Tyr
 595 600 605
 Asp Phe Met Ala Leu Asp Arg Pro Ser Thr Pro Arg Ile Asp Arg Gly
 610 615 620
 Ile Ala Leu His Lys Met Ile Arg Leu Val Thr Met Gly Leu Gly Gly
 625 630 635 640
 Glu Gly Tyr Leu Asn Phe Met Gly Asn Glu Phe Gly His Pro Glu Trp
 645 650 655
 Ile Asp Phe Pro Arg Gly Pro Gln Thr Leu Pro Thr Gly Lys Val Leu
 660 665 670
 Pro Gly Asn Asn Asn Ser Tyr Asp Lys Cys Arg Arg Arg Phe Asp Leu
 675 680 685
 Gly Asp Ala Asp Phe Leu Arg Tyr His Gly Met Gln Glu Phe Asp Gln
 690 695 700
 Ala Met Gln His Leu Glu Glu Lys Tyr Gly Phe Met Thr Ser Glu His
 705 710 715 720
 Gln Tyr Val Ser Arg Lys His Glu Glu Asp Lys Val Ile Ile Phe Glu
 725 730 735
 Arg Gly Asp Leu Val Phe Val Phe Asn Phe His Trp Ser Asn Ser Phe
 740 745 750
 Phe Asp Tyr Arg Val Gly Cys Ser Arg Pro Gly Lys Tyr Lys Val Ala
 755 760 765
 Leu Asp Ser Asp Asp Ala Leu Phe Gly Gly Phe Ser Arg Leu Asp His
 770 775 780
 Asp Val Asp Tyr Phe Thr Thr Glu His Pro His Asp Asn Arg Pro Arg
 785 790 795 800

11.06.01

65

Ser Phe Ser Val Tyr Thr Pro Ser Arg Thr Ala Val Val Tyr Ala Leu
805 810 815

Thr Glu

<210> 35

<211> 813

<212> DNA

<213> Escherichia coli

<400> 35

gagctccgtt tcgcatgatt gaacaagatg gattgcacgc aggtttctccg gccgcttggg 60
tggagaggct attcggctat gactgggcac aacagacaat cggctgctct gatgccgccg 120
tgttccggct gtcagcgag gggcgcccg ttctttttgt caagaccgac ctgtccggtg 180
ccctgaatga actgcaggac gaggcagcgc ggctatcgtg gctggccacg acgggcgttc 240
cttgcgagc tgtgctcgac gttgtcactg aagcgggaag ggactggctg ctattggggc 300
aagtgccggg gcaggatctc ctgtcatctc accttgctcc tgccgagaaa gtatccatca 360
tggctgatgc aatgcggcgg ctgcatacgc ttgatccggc tacctgccc ttcgaccacc 420
aagcgaaaca tcgcatcgag cgagcacgta ctccgatgga agccggctct gtcgatcagg 480
atgatctgga cgaagagcat caggggctcg cgccagccga actgttcgcc aggctcaagg 540
cgcgcatgcc cgacggcgag gatctcgtcg tgacccatgg cgatgcctgc ttgccgaata 600
tcatggtgga aaatggccgc ttttctggat tcatcgactg tggccggctg ggtgtggcgg 660
accgctatca ggacatagcg ttggetaccc gtgatattgc tgaagagctt ggcggcgaat 720
gggctgaccg cttcctcgtg ctttacggta tcgccgctcc cgattcgcag cgcatcgcct 780
tctatgcct tcttgacgag ttcttctgag ctc 813

<210> 36

<211> 7

<212> PRT

<213> Triticum aestivum

<400> 36

Met Asp Lys Asp Met Tyr Asp

1

5

<210> 37

<211> 40

<212> DNA

<213> Vykonstruovaná sekvence

<220>

<223> Popis vykonstruované sekvence: syntetický oligonukleotid

<400> 37

66

aaggatccgt cgacategat aataggactc acttatagga

40

<210> 38

<211> 17

<212> DNA

<213> Vykonstruovaná sekvence

<220>

<223> Popis vykonstruované sekvence: syntetický oligonukleotid

<400> 38

aaggatccgt cgacatc

17

<210> 39

<211> 20

<212> DNA

<213> Vykonstruovaná sekvence

<220>

<223> Popis vykonstruované sekvence: syntetický oligonukleotid

<400> 39

atggacaagg atatgtatga

20

<210> 40

<211> 21

<212> DNA

<213> Vykonstruovaná sekvence

<220>

<223> Popis vykonstruované sekvence: syntetický oligonukleotid

<400> 40

ttttcttcac aacgcctctgg g

21

<210> 41

<211> 21

<212> DNA

<213> Vykonstruovaná sekvence

<220>

<223> Popis vykonstruované sekvence: syntetický oligonukleotid

67

<400> 41

tggttgggag atcttctcc c

21

<210> 42

<211> 8

<212> PRT

<213> Triticum aestivum

<400> 42

Gly Val Trp Glu Ile Phe Leu Pro

1

5

<210> 43

<211> 10

<212> DNA

<213> Vykonstruovaná sekvence

<220>

<223> Popis vykonstruované sekvence: syntetický oligonukleotid

<400> 43

cgggatcccg

10

<210> 44

<211> 34

<212> DNA

<213> Vykonstruovaná sekvence

<220>

<223> Popis vykonstruované sekvence: syntetický oligonukleotid

<400> 44

gatgagctcc gtttcgcatg attgaacaag atgg

34

<210> 45

<211> 30

<212> DNA

<213> Vykonstruovaná sekvence

<220>

<223> Popis vykonstruované sekvence: syntetický oligonukleotid

<400> 45

gtcagagctca gaagaactcg tcaagaaggc

30

<210> 46

<211> 27

<212> DNA

<213> Vykonstruovaná sekvence

<220>

<223> Popis vykonstruované sekvence: syntetický oligonukleotid

<400> 46

cccgacggcg aggatctcgt gctgacc

27

<210> 47

<211> 35

<212> DNA

<213> Vykonstruovaná sekvence

<220>

<223> Popis vykonstruované sekvence: syntetický oligonukleotid

<400> 47

catgggtcac gacgagatcc tcgacgtcgg gcatg

35

<210> 48

<211> 30

<212> DNA

<213> Vykonstruovaná sekvence

<220>

<223> Popis vykonstruované sekvence: syntetický oligonukleotid

<400> 48

attaggtacc ggacttgctc cgtgtcggc

30

<210> 49

<211> 30

<212> DNA

<213> Vykonstruovaná sekvence

<220>

<223> Popis vykonstruované sekvence: syntetický oligonukleotid

<400> 49

tataggtacc gaggcagcga cagagatgcc

30

<210> 50
 <211> 21
 <212> DNA

<213> Vykonstruovaná sekvence

<220>

<223> Popis vykonstruované sekvence: syntetický oligonukleotid

<400> 50
 agctgaatcc ggccggcatgg c

21

<210> 51
 <211> 21
 <212> DNA

<213> Vykonstruovaná sekvence

<220>

<223> Popis vykonstruované sekvence: syntetický oligonukleotid

<400> 51
 tgatagtctt gccagtcagg g

21

<210> 52
 <211> 2037
 <212> DNA
 <213> Zea mays

<400> 52
 ttagctgaat ccggcggcat ggcaaggtag actgcagtgc agcgtgaccc ggtcgtgccc 60
 ctctctagag ataatgagca ttgcatgtct aagttataaa aaattaccac atattttttt 120
 tgtcacactt gtttgaagtg cagtttatct atctttatac atatatataa actttactct 180
 acgaataata taatctatag tactacaata atatcagtgt tttagagaat catataaatg 240
 aacagttaga catggtctaa aggacaattg gtattttgac aacaggactc tacagtttta 300
 tcttttttagt gtgcatgtgt tctccttttt ttttttgcaa atagcttcac ctatataata 360
 cttcatccat tttattagta catccattta gggtttaggg ttaatggttt ttatagacta 420
 atttttttag tacatctatt ttattctatt ttagcctcta aattaagaaa actaaaactc 480
 tatttttagtt tttttattta ataatttaga tataaaatag aataaaataa agtgactaaa 540
 aattaatacaa atacccttta agaaattaaa aaaactaagg aaacattttt cttgtttcga 600
 gtagataatg ccagcctgtt aaacgcgcgt gacgcagtct aacggacacc aaccagcgaa 660
 ccagcagcgt cgcgtcgggc caagcgaagc agacggcacg gcatctctgt cgtgcctcgt 720
 gtaccggact tcgtccgctg tcggcatcca gaaattgcgt ggcggagcgg cagacgtgag 780
 ccggcacggc aggcggcctc ctccctctct cacggcaccc gcagctacgg gggattcctt 840
 tcccacccgt ccttcgcttt cccttcctcg ccgcgcgtaa taaatagaca cccctccac 900
 accctctttc cccaacctcg tggtgttcgg agcgcacaca cacacaacca gatctcccc 960
 aaatccaccc gtcggcacct ccgcttcaag gtacgcgcgt cgtcctcccc cccctctct 1020

```

accttctcta gatcggcgtt ccggtccatg gttagggccc ggtagttcta cttctgttca 1080
tgtttgtgtt agatccgtgt ttgtgttaga tccgtgctgc tagcgttcgt acacggatgc 1140
gacctgtacg tcagacacgt tctgattgct aacttgccag tgtttctctt tggggaatcc 1200
tgggatggct ctagccgttc cgcagacggg atcgatttca tgattttttt tgtttcgttg 1260
cataggggtt ggtttgccct ttccctttat ttcaatatat gccgtgcaact tgtttgtcgg 1320
gtcatctttt catgcttttt ttgtcttggt ttgtgatgat gtggtctggt tgggcggtcg 1380
ttctagatcg gagtagaatt ctgtttcaaa ctacctgggtg gatttattaa ttttggatct 1440
gtatgtgtgt gccatacata ttcatagtta cgaattgaag atgatggatg gaaatatcga 1500
tctaggatag gtatacatgt tgatgcgggt tttactgatg catatacaga gatgcttttg 1560
ttcgcttggt tgtgatgatg tgggtgtggt gggcggtcgt tcattcggtc tagatcggag 1620
tagaatactg tttcaaacta cctgggtgat ttattaattt tggaaactgta tgtgtgtgtc 1680
atacatcttc atagttacga gtttaagatg gatggaaata tcgatctagg ataggtatac 1740
atgttgatgt gggttttact gatgcatata catgatggca tatgcagcat ctattcatat 1800
gctctaacct tgagtaccta tctattataa taaacaagta tgttttataa ttattttgat 1860
cttgatatac ttggatgatg gcatatgcag cagctatatg tggatttttt tagccctgcc 1920
ttcatacgtt atttatttgc ttggtactgt ttcttttgtc gatgctcacc ctgttgtttg 1980
gtgttacttc tgcagatgca gatctttgtg aaaaccctga ctggcaagac tatcacc 2037

```

<210> 53

<211> 1085

<212> DNA

<213> *Triticum aestivum*

<400> 53

```

atatgtatga tttcatggct ctggatggac cttcgactcc tgctattgat cgtggcatag 60
cattgcataa aatgattagg cttgtcacca tgggttttagg tggagagggg tatcttaact 120
ttatgggaaa tgagtttggt catcctgaat ggatagattt tccaagaggc ccacaagttc 180
ttccaactgg taagtctctc cctggaaata acaatagtta tgataaatgc cgtcgtagat 240
ttgatcttgg tgatgcagat tttcttaggt atcgtggtat gcaggagttt gatcaggcaa 300
tgcagcatct tgaggaaaaa tatgggttta tgacatctga gcaccagtat gtttctcgga 360
aacatgagga agataaggtg atcgtgtttg aaagagggga tttggtatth gttttcaact 420
tccactggag taatagcttt ttgactacc gtgttggtg tttcaagcct gggaagtaca 480
aggtggtctt agactccgac gctggactct ttggtggatt tggtaggctt gatcatgctg 540
tcgagtactt cacttctgac tgtccgcarg acaacaggcc gcattctttc tcggtgtaca 600
ctcctagcag aacttggtgt gtgtatgctc ttatggagta agcagcaagt gcagcatatc 660
ctgccgctgt tgttgctagt agcaaggaga gatcgtaggc cactacacca ggtgcagggt 720
ttgatatgga tttttgcttg agcaggtcct ggatgggcaa gacagcgtga tgctgtgtgt 780
gctcccaaat cgccatggcg ttgggagggg atcgtgcttc tttgtgttat gctttgtgga 840
tcaggatgga actccoctag gtagccttgt tggtagcgc tcgaaagaaa atggacgggc 900
ctgggtgttt gcttaaatth tgttgcccta aaccctcgct cctatcttgt acattgccgg 960
tttagatagg gtttgttttt gtacattttt ttgatagtta atagacttat tgctcgtgtg 1020
cttgacgttt tacatgaaca tataaatatt ctaaatagggt taaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1080
aaaaa 1085

```

<210> 54

<211> 888

<212> PRT

<213> *Triticum aestivum*

110801

71

<400> 54

Met Leu Cys Leu Ser Xaa Ser Leu Leu Pro Arg Pro Ser Arg Ala Ala
 1 5 10 15

Ala Asp Arg Pro Xaa Leu Pro Gly Ile Xaa Gly Gly Gly Xaa Xaa Arg
 20 25 30

Leu Ser Ala Val Pro Ala Pro Xaa Xaa Leu Arg Trp Xaa Trp Pro Arg
 35 40 45

Lys Ala Lys Ser Lys Ser Ser Val Pro Val Xaa Ala Xaa Xaa Xaa Xaa
 50 55 60

Ile Xaa Ala Thr Xaa Xaa Xaa Gly Val Xaa Xaa Leu Pro Ile Tyr Asp
 65 70 75 80

Leu Asp Pro Lys Leu Ala Xaa Phe Lys Xaa His Phe Asp Tyr Arg Xaa
 85 90 95

Xaa Xaa Tyr Xaa Xaa Gln Lys His Xaa Ile Glu Lys His Glu Gly Gly
 100 105 110

Leu Glu Glu Phe Ser Lys Gly Tyr Leu Lys Phe Gly Ile Asn Thr Glu
 115 120 125

Xaa Xaa Ala Xaa Val Tyr Arg Glu Trp Ala Pro Ala Ala Xaa Xaa Ala
 130 135 140

Gln Leu Val Gly Asp Phe Asn Asn Trp Asn Gly Ser Gly His Xaa Met
 145 150 155 160

Thr Lys Asp Asn Phe Gly Val Trp Ser Ile Arg Leu Ser Asn Asn Ala
 165 170 175

Asp Gly Ser Pro Ala Ile Pro His Gly Ser Lys Val Lys Phe Arg Phe
 180 185 190

Asp Thr Pro Ser Gly Val Trp Val Asp Ser Ile Pro Ala Trp Ile Lys
 195 200 205

Tyr Ala Val Gln Thr Ala Gly Glu Ile Gly Ala Pro Tyr Asp Gly Ile
 210 215 220

His Tyr Asp Pro Pro Ser Glu Glu Lys Tyr Val Phe Lys His Pro Gln
 225 230 235 240

Pro Lys Lys Pro Asp Ser Leu Arg Ile Tyr Glu Ala His Val Gly Met

11.08.01

72

245

250

255

Ser Gly Pro Glu Pro Glu Ile Asn Thr Tyr Ala Glu Phe Arg Asp Glu
 260 265 270

Val Leu Pro Arg Ile Lys Ala Leu Gly Tyr Asn Ala Val Gln Leu Met
 275 280 285

Ala Ile Gln Glu His Ser Tyr Tyr Ala Ser Phe Gly Tyr His Val Thr
 290 295 300

Asn Phe Phe Ala Val Ser Ser Arg Ser Gly Thr Pro Glu Asp Leu Lys
 305 310 315 320

Ser Leu Ile Asp Lys Ala His Ser Leu Gly Leu Arg Val Leu Met Asp
 325 330 335

Val Val His Ser His Ala Ser Asn Asn Thr Leu Asp Gly Leu Asn Gly
 340 345 350

Phe Asp Val Gly Gln Gly Thr Asp Thr Ser Tyr Phe His Gly Gly Xaa
 355 360 365

Arg Gly His His Lys Met Trp Asp Ser Arg Leu Phe Asn Tyr Gly Asn
 370 375 380

Trp Glu Val Leu Arg Phe Leu Leu Ser Asn Ala Arg Tyr Trp Leu Asp
 385 390 395 400

Glu Phe Lys Phe Asp Gly Phe Arg Phe Asp Gly Val Thr Ser Met Leu
 405 410 415

Tyr Thr His His Gly Leu Asn Met Ser Phe Thr Gly Ser Tyr Lys Glu
 420 425 430

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

Ala Asn Asp Leu Ile His Gly Leu Xaa Pro Glu Ala Val Val Val Gly
 450 455 460

Glu Asp Val Ser Gly Met Pro Val Leu Cys Xaa Pro Val Asp Glu Gly
 465 470 475 480

Gly Val Gly Phe Asp Tyr Arg Leu Ala Met Ala Val Ala Asp Lys Trp
 485 490 495

Ile Asp Leu Leu Lys Asn Lys Asp Asp Xaa Trp Ser Met Gly Xaa Ile

11.08.01

73

500

505

510

Val His Thr Leu Thr Asn Arg Arg Tyr Pro Glu Lys Cys Val Ala Tyr
 515 520 525

Ala Glu Ser His Asp Gln Ala Leu Val Gly Asp Lys Thr Ile Ala Phe
 530 535 540

Leu Leu Met Asp Lys Asp Met Tyr Asp Gly Met Ala Leu Xaa Xaa Pro
 545 550 555 560

Ser Ser Pro Thr Ile Asp Arg Gly Ile Ala Leu Gln Lys Met Ile His
 565 570 575

Leu Ile Thr Met Gly Leu Gly Gly Asp Gly Tyr Leu Asn Phe Met Gly
 580 585 590

Asn Glu Phe Gly His Pro Glu Trp Ile Asp Phe Pro Arg Gly Pro Gln
 595 600 605

Leu Pro Thr Gly Lys Pro Gly Asn Asn Asn Ser Tyr Asp Lys Cys Arg
 610 615 620

Arg Arg Phe Asp Leu Gly Asp Ala Asp Phe Leu Arg Tyr His Gly Met
 625 630 635 640

Asn Ala Phe Asp Gln Ala Met Gln His Leu Glu Asp Lys Tyr Gly Phe
 645 650 655

Leu Ser Ser Ser His Gln Tyr Val Ser Arg Lys Asn Glu Glu Asp Lys
 660 665 670

Val Ile Val Phe Glu Lys Gly Asp Leu Val Phe Val Phe Asn Phe His
 675 680 685

Trp Ser Asn Ser Tyr Phe Asp Tyr Arg Val Gly Cys Xaa Xaa Pro Gly
 690 695 700

Lys Tyr Lys Val Ala Leu Asp Ser Asp Ala Xaa Leu Phe Gly Gly Phe
 705 710 715 720

Gly Arg Xaa Xaa His Asp Xaa Asp His Phe Thr Ser Glu Xaa Xaa His
 725 730 735

Asp Asn Arg Pro Xaa Ser Phe Ser Val Leu Thr Pro Ser Arg Thr Cys
 740 745 750

Val Val Tyr Ala Pro Xaa Glu Xaa Ala Ala Xaa Val Thr Lys Xaa Tyr

755

760

765

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Leu Xaa Arg Xaa Xaa Gly Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 770 775 780

Xaa Phe Leu Xaa Pro Xaa Lys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Leu
 785 790 795 800

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Pro Xaa Xaa Xaa Pro Xaa Ile Xaa Phe Xaa
 805 810 815

Xaa Xaa Gly Gly Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Lys Xaa
 820 825 830

Xaa Xaa Xaa Ala Val Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Ser Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 835 840 845

Xaa Ile Leu Xaa Leu Xaa Xaa Xaa Xaa Ile Ile Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 850 855 860

Xaa Xaa Leu Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 865 870 875 880

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys
 885

<210> 55

<211> 1488

<212> DNA

<213> Zea mays

<400> 55

aagcttgcat gcctgcaggt cgactctaga ccaaatttca tggtagttgg gagcctaccc 60
 agatttcattg attaactgtg ctattgaatt gttgaaaatg gttgtgtctg tcgtatccga 120
 cggataacgg aaaccctgcc gaaattcaat gggcatgggc atagatatag atttgtaccc 180
 actactagta tggtcgcagg cggatattgg ttgcaaccgc agatatagtt tcggggaaaa 240
 ggattaggct cagctccatc cctagacccc acttgtgtgt gtgggggggt ctacccttca 300
 aaaggaaaaa aaactacaca cagtgcataa aagaagatga atattccaaa attcagcagt 360
 caagaagccc tgataaactg tctggcatag ctagtacttt atacacttca agacaaaaag 420
 aaatcactaa gtacagattt tagtgactcg taagtacaga tatcatctta caaggcccg 480
 cccagcgacc tattacacag cccgctcggg cccgcgacgt cgggacacat cttcttcccc 540
 cttttggtga agctctgctc gcagctgtcc ggctgcttgg acgttcgtgt ggcagattca 600
 tctgtcgtct cgtctcctgt gcttctcggg tagcttgtgc agtggagctg acatggctctg 660
 agcaggctta aaatttgctc gtagacgagg agtaccagca cagcacgttg cggatttctc 720
 tgccctgtgaa gtgcaacgtc taggattgtc acacgccttg gtcgcgtcga tgcggtggtg 780
 agcagagcag caacagctgg gcggcccaaa gttggcttcc gtgtcttcgt cgtacgtacg 840
 cgcgcgccgg ggacacgcag agagcggaga gcgagccgtg cacgggggag gtggtgtgca 900

agtgcagccg cgcgcccgcg cccgcgcccg gtgggcaacc caaaaagtac ccacgacaag 960
cgaaggcgcc aaagcgatcc aagctccgga acgcatcagc cacaagcagc cgagaaccga 1020
accggtgggc gacgcgtcgt gggacggacg cgggcgacgc ttccaaacgg ggccacgtac 1080
gccggcgtgt gcgtgcgtgc gtgcagacga caagccaagg cgaggcagcc cccgatcggg 1140
aaagcgtttt gggcgcgagc gctggcgtgc gggtcagtcg ctggtgcgca gtgcccgggg 1200
gaacgggtat cgtggggggc gcggcgagga agagcgtggc gaggccgaga gcagcgcgcg 1260
gccgggtcac gcaacgcgcc ccacgtactg ccctcccct cgcgcgcgc tagaaatacc 1320
gaggcctgga ccggggggcc ccccgtcaca tccatccatc gaccgatcga tcgccacagc 1380
caacaccacc cgcgcgagcg acgcgacagc cgccaggagg aaggaataaa ctactgcc 1440
gccagtgaag ggggagaagt gtactgctcc gtcgactcta gaggatcc 1488