(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 103327809 B
(45)授权公告日 2017.04.26

(21)申请号 201180048304.X
(22)申请日 2011.08.02
(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 103327809 A
(43)申请公布日 2013.09.25
(30)优先权数据
61/370,436 2010.08.03 US
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2013.04.03
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2011/046330 2011.08.02
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2012/018862 EN 2012.02.09
(73)专利权人 希博斯美国有限公司
地址 美国加利福尼亚州
专利权人 希博斯欧洲有限公司
(72)发明人 G·F·W·勾卡尔 P·R·比塞姆 A·施波克 S·杜姆 J·伯尔斯 C·施波克 K·A·沃克
(74)专利代理机构 北京市铸成律师事务所 11313
代理人 孟锐
(51)Int.Cl.
C12N 15/82(2006.01)
A01H 5/00(2006.01)
(56)对比文件
WO 01/68826 A2,2001.09.20,摘要、实施例14、TABLE1A-1B.
WO 2009/046334 A1,2009.04.09,摘要,0013,0055,0076段.
US 2001/016956 A1,2001.08.23,全文.
US 2010/0100988 A1,2010.04.22,全文.
审查员 王岩
权利要求书3页 说明书81页 附图32页

(54)发明名称

突变型原卟啉原IX氧化酶(PPX)基因

(57)摘要

提供的是涉及转基因或非转基因植物中的基因和/或蛋白突变的组合物和方法。在某些实施方案中,本公开涉及原卟啉原IX(PPX)基因中的突变。在一些实施方案中,本公开涉及具有除草剂抗性的植物。

CN 103327809 B

1.一种用于产生植物细胞的方法，所述方法包括使植物细胞包含突变型原卟啉原IX氧化酶(PPX)基因，其中所述基因编码在对应于SEQ ID NO:1的144位置和220位置的氨基酸位置处仅包含两个突变的蛋白，

其中，在对应于SEQ ID NO:1的位置144的位置处精氨酸突变为半胱氨酸，和在对应于SEQ ID NO:1的位置220的位置处丙氨酸突变为苏氨酸。

2.如权利要求1所述的方法，其中所述植物细胞是非转基因植物细胞。

3.一种用于产生植物的方法，所述方法包括使植物包含突变型原卟啉原IX氧化酶(PPX)基因，其中所述基因编码在对应于SEQ ID NO:1的144位置和220位置的氨基酸位置处仅包含两个突变的蛋白，其中，在对应于SEQ ID NO:1的位置144的位置处精氨酸突变为半胱氨酸，和在对应于SEQ ID NO:1的位置220的位置处丙氨酸突变为苏氨酸。

4.如权利要求3所述的方法，其中所述植物选自如下：土豆、向日葵、甜菜、玉米、棉花、大豆、小麦、黑麦、燕麦、稻米、油菜、水果、蔬菜、烟草、大麦、高粱、番茄、芒果、桃子、苹果、梨、草莓、香蕉、甜瓜、胡萝卜、莴苣、洋葱、豆类、甘蔗、豌豆、芸豆、白杨、葡萄、柑橘、苜蓿、黑麦、燕麦、草坪草和牧草、亚麻、芸苔、黄瓜、牵牛花、香油、胡椒、茄子、金盏花、荷花、甘蓝、雏菊、康乃馨、矮牵牛花、郁金香、蝴蝶花、百合和产坚果植物。

5.如权利要求3所述的方法，其中所述植物是选自马铃薯、栽培稻和玉米的物种。

6.如权利要求3所述的方法，其中所述植物是黄褐色伯班克马铃薯品种。

7.如权利要求3-6中任一项所述的方法，其中所述植物是无性繁殖的。

8.如权利要求7所述的方法，其中所述植物由块茎产生的。

9.如权利要求3-6中任一项所述的方法，其中所述植物对一种或多种除草剂有抗性。

10.如权利要求9所述的方法，其中所述植物对一种或多种抑制PPX的除草剂有抗性。

11.如权利要求9所述的方法，其中所述植物对选自三氟羧草醚-Na、治草醚、甲氧除草醚、乙羧氟草醚、氟黄胺草醚、Halosafen、乳氟禾草灵、乙氧氟草醚、异丙吡草酯、吡草醚、吲哚酮草酯、丙炔氟草胺、氟亚胺草酯、氟噻甲草酯、噻二唑草胺、噁草酮、炔噁草酮、唑啶草酮、唑酮草酯、磺酰唑草酮、环戊噁草酮、双苯嘧草酮、氟丙嘧草酯、嘧啶肟草醚、双唑草腈、氟唑草胺的一种或多种除草剂有抗性。

12.如权利要求9所述的方法，其中所述植物对选自如下的一种或多种除草剂有抗性：丙炔氟草胺、甲磺草胺和嘧啶肟草醚。

13.如权利要求3-6中任一项所述的方法，其中所述植物是非转基因植物。

14.一种用于产生具有突变型PPX基因的非转基因植物细胞的方法，包括将在原卟啉原IX氧化酶(PPX)基因中具有靶向突变的基因修复寡核碱基(GRON)引入植物细胞中以产生具有PPX基因的植物细胞，所述PPX基因表达在对应于SEQ ID NO:1的144位置和220位置的氨基酸位置处仅包含两个突变的PPX蛋白，

其中，在对应于SEQ ID NO:1的位置144的位置处精氨酸突变为半胱氨酸，和在对应于SEQ ID NO:1的位置220的位置处丙氨酸突变为苏氨酸。

15.如权利要求14所述的方法，其中所述植物细胞为选自如下植物的植物细胞：土豆、向日葵、甜菜、玉米、棉花、大豆、小麦、黑麦、燕麦、稻米、油菜、水果、蔬菜、烟草、大麦、高粱、番茄、芒果、桃子、苹果、梨、草莓、香蕉、甜瓜、胡萝卜、莴苣、洋葱、豆类、甘蔗、豌豆、芸豆、白杨、葡萄、柑橘、苜蓿、黑麦、燕麦、草坪草和牧草、亚麻、芸苔、黄瓜、牵牛花、香油、胡椒、茄

子、金盏花、荷花、甘蓝、雏菊、康乃馨、矮牵牛花、郁金香、蝴蝶花、百合和产坚果植物。

16.如权利要求14所述的方法，其中所述植物细胞为选自马铃薯、栽培稻、蜀黍、蓖麻、甘蓝型油菜、黄豆和玉米的物种。

17.如权利要求14所述的方法，其中所述植物细胞为黄褐色伯班克马铃薯品种。

18.如权利要求14-17中任一项所述的方法，其中所述植物对一种或多种除草剂有抗性。

19.如权利要求18所述的方法，其中所述植物对一种或多种抑制PPX的除草剂有抗性。

20.如权利要求18所述的方法，其中所述植物对选自三氟羧草醚-Na、治草醚、甲氧除草醚、乙羧氟草醚、氟黄胺草醚、Halosafen、乳氟禾草灵、乙氧氟草醚、异丙吡草酯、吡草醚、吲哚酮草酯、丙炔氟草胺、氟亚胺草酯、氟噻甲草酯、噻二唑草胺、噁草酮、炔噁草酮、唑啶草酮、唑酮草酯、磺酰唑草酮、环戊噁草酮、双苯嘧草酮、氟丙嘧草酯、嘧啶肟草醚、双唑草腈、氟唑草胺的一种或多种除草剂有抗性。

21.如权利要求18所述的方法，其中所述植物对选自如下的一种或多种除草剂有抗性：丙炔氟草胺、甲磺草胺和嘧啶肟草醚。

22.如权利要求14-17中任一项所述的方法，其中所述植物是无性繁殖的。

23.如权利要求22所述的方法，其中所述植物从块茎产生。

24.一种用于产生抗除草剂植物的方法，其包括

(i)将在原卟啉原IX氧化酶(PPX)基因中具有靶向突变的基因修复寡核碱基(GRON)引入植物细胞以产生具有PPX基因的植物细胞，所述PPX基因表达在对应于SEQ ID NO:1的144位置和220位置的氨基酸位置处仅包含两个突变的PPX蛋白，

其中，在对应于SEQ ID NO:1的位置144的位置处精氨酸突变为半胱氨酸，和在对应于SEQ ID NO:1的位置220的位置处丙氨酸突变为苏氨酸；

(ii)鉴定植物细胞，所述植物细胞在除草剂存在下与相应野生型植物细胞相比具有基本上正常的生长和催化活性；和

(iii)再生非转基因抗除草剂植物，其具有来自所述植物细胞的突变型PPX基因。

25.如权利要求24所述的方法，其中所述植物选自如下：土豆、向日葵、甜菜、玉米、棉花、大豆、小麦、黑麦、燕麦、稻米、油菜、水果、蔬菜、烟草、大麦、高粱、番茄、芒果、桃子、苹果、梨、草莓、香蕉、甜瓜、胡萝卜、莴苣、洋葱、豆类、甘蔗、豌豆、芸豆、白杨、葡萄、柑橘、苜蓿、黑麦、燕麦、草坪草和牧草、亚麻、芸苔、黄瓜、牵牛花、香油、胡椒、茄子、金盏花、荷花、甘蓝、雏菊、康乃馨、矮牵牛花、郁金香、蝴蝶花、百合和产坚果植物。

26.如权利要求24所述的方法，其中所述植物为选自马铃薯、栽培稻和玉米的物种。

27.如权利要求24所述的方法，其中所述植物为黄褐色伯班克马铃薯品种。

28.如权利要求24-27中任一项所述的方法，其中所述植物是无性繁殖的。

29.如权利要求28所述的方法，其中所述植物从块茎产生。

30.如权利要求24-27中任一项所述的方法，其中所述植物对一种或多种除草剂有抗性。

31.如权利要求30所述的方法，其中所述植物对一种或多种抑制PPX的除草剂有抗性。

32.如权利要求30所述的方法，其中所述植物对选自三氟羧草醚-Na、治草醚、甲氧除草醚、乙羧氟草醚、氟黄胺草醚、Halosafen、乳氟禾草灵、乙氧氟草醚、异丙吡草酯、吡草醚、吲

哚酮草酯、丙炔氟草胺、氟亚胺草酯、氟噻甲草酯、噻二唑草胺、噁草酮、炔噁草酮、唑啶草酮、唑酮草酯、磺酰唑草酮、环戊噁草酮、双苯嘧草酮、氟丙嘧草酯、嘧啶肟草醚、双唑草腈、氟唑草胺的一种或多种除草剂有抗性。

33.如权利要求30所述的方法，其中所述植物对选自如下的一种或多种除草剂有抗性：丙炔氟草胺、甲磺草胺和嘧啶肟草醚。

突变型原卟啉原IX氧化酶(PPX)基因

发明领域

[0001] 本公开至少部分涉及植物的基因和/或蛋白突变。

[0002] 发明背景

[0003] 下列描述仅仅作为对理解本发明的帮助而提供并且不允许描述或构成现有技术。

[0004] 已经报导植物PPX基因中的某些突变的实例。例如,美国专利No.5,767,373公开了"编码具有除草剂耐受性的天然原卟啉原氧化酶(protox)或该酶修饰形式的真核DNA序列";美国专利No.6,282,837公开了"编码具有除草剂耐受性的天然原卟啉原氧化酶(protox)或该酶修饰形式的真核DNA序列以及使用具有赋予除草剂耐受性的改变protox活性的植物来控制杂草的方法";美国专利No.6,308,458公开了"用于控制不希望植物的生长的方法,其包括将有效量的抑制protox的除草剂施加至用编码对抑制protox的除草剂耐受的修饰protox酶的DNA序列转化的转基因植物或植物种子的种群或施加至栽培转基因植物或植物种子的种群的场所";美国专利No.6,905,852公开了"[a]对光漂白除草剂及其衍生物耐受的原卟啉原氧化酶,其包含具有由SEQ ID No.2[PPX蛋白]或通过缺失、添加、置换等上述氨基酸序列中的一个或多个氨基酸从其衍生的突变肽所示的氨基酸序列并且具有基本上与原卟啉原氧化酶相当的活性的多肽";美国专利No.公开了"对作物植株上的抑制原卟啉原的除草剂赋予抗性的方法。通过对植物遗传工程化以表达编码对卟啉除草剂有抗性的原卟啉原氧化酶的克隆DNA而赋予抗性";美国专利申请公布No.20020086395公开了"[a]用于评价抑制原卟啉原氧化酶活性的化合物的能力的方法,其包括以下步骤:(1)在存在和缺少测试化合物的每个比较系统中,在基本上不含正铁血红素化合物的培养基中培养表达存在于DNA片段中的原卟啉原氧化酶基因的转化体以测量在每种条件下转化体的生长率,所述转化体由缺乏基于用DNA片段转化的原卟啉原氧化酶活性的生长能力的宿主细胞产生,其中在宿主细胞中具有功能性的启动子和原卟啉原氧化酶基因可操作地连接,和(2)通过比较生长率测定化合物抑制原卟啉原氧化酶活性的能力;等";Patzoldt WL等人,PNAS USA103:12329-34(2006)公开了PPX的"对应于G210密码子的3-bp缺失";和Li X等人,Plant Physiology133:736-47(2003)公开了"植物原卟啉原氧化酶(PPO)基因的分离和抗除草剂突变体的分离"。术语PPO和PPX在本文可互换使用。

[0005] 发明概述

[0006] 本公开至少部分涉及涉及植物中的基因和蛋白突变的方法和组合物。在一些方面和实施方案中,本公开还可涉及用于产生抗除草剂植物的组合物和方法。本公开方法和组合物至少部分涉及原卟啉原IX氧化酶(PPX)基因中的突变。

[0007] 在一个方面,提供了包括突变型PPX基因的植物或植物细胞。在某些实施方案中,突变型PPX基因编码突变型PPX蛋白。在某些实施方案中,具有包括突变型PPX基因的植物细胞的植物可以是抗除草剂的;例如,对抑制PPX的除草剂有抗性。在某些实施方案中,该植物或植物细胞是非转基因的。在某些实施方案中,该植物或植物细胞是转基因的。本公开还提供包括此类突变型PPX基因的重组载体,以及含有此类突变型PPX基因的转基因植物。

[0008] 如本文所用,术语"PPX基因"是指能够生成PPX多肽的DNA序列,所述生成PPX多肽

与氨基酸序列SEQ ID NO:1共享同源性和/或氨基酸同一性，和/或编码表现出PPX活性的蛋白。在某些实施方案中，PPX基因与特异性PPX基因具有70%;75%;80%;85%;90%;95%;96%;97%;98%;99%;或100%同一性;例如，线粒体黄褐色伯班克PPX基因，例如StmPPX1或StmPPX2;或例如，质体黄褐色伯班克PPX基因，例如，StcPPX1。在某些实施方案中，PPX基因与选自图2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、34、36、38、41、43和45中的序列的序列具有60%;70%;75%;80%;85%;90%;95%;96%;97%;98%;99%;或100%同一性。在一些实施方案中，PPX基因为线粒体PPX基因;例如，StmPPX1或StmPPX2。在一些实施方案中，PPX基因为质体PPX基因;例如，StcPPX1。在一些实施方案中，PPX基因为线粒体PPX基因等位基因;例如，StmPPX2.1或StmPPX2.2。在一些实施方案中，PPX基因为质体PPX基因等位基因;例如，StcPPX1或StcPPX1.1。在一些植物中，例如水麻(water hemp)，单个PPX基因的蛋白产物为线粒体和质体两者，如在Patzoldt WL等人，PNAS USA103:12329-34(2006)中公开。

[0009] 如本文所用，术语“突变”是指相对于正规序列或野生型序列或参考序列例如SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:2，核酸序列中的至少单个核苷酸变异和/或多肽中的单个氨基酸变异。在一些实施方案中，突变是指相对于非抗除草剂的PPX蛋白的核苷酸或氨基酸序列，核酸序列中的至少单个核苷酸变异和/或多肽中的单个氨基酸变异。在某些实施方案中，突变可包括置换、缺失、倒位或插入。在一些实施方案中，置换、缺失、插入、或倒位可包括1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23或24个核苷酸的变异。在一些实施方案中，置换、缺失、插入、或倒位可包括在1、2、3、4、5、6、7或8个氨基酸位置处的变异。术语“核酸”或“核酸序列”是指寡核苷酸、核苷酸或多核苷酸和其片段或部分，其可以是单链或双链，并且表示有义或反义链。核酸可包括DNA或RNA，并且可以具有天然或合成来源。例如，核酸可包括mRNA或cDNA。核酸可包括已被扩增(例如，使用聚合酶链反应)的核酸。协约“NTwt###NTmut”用来表示导致在核酸中位置###处的野生型核苷酸NTwt被突变体NTmut替换的突变。核苷酸的单字母代码如美国专利局专利审查程序手册第2422节表1中所述。在这一点上，核苷酸名称“R”意指嘌呤例如鸟嘌呤或腺嘌呤，“Y”意指嘧啶例如胞嘧啶或胸腺嘧啶(如果是RNA则为尿嘧啶)；“M”意指腺嘌呤或胞嘧啶；“K”意指鸟嘌呤或胸腺嘧啶；以及“W”意指腺嘌呤或胸腺嘧啶。

[0010] 如本文所用，术语“突变型PPX基因”是指在相对于参考PPX核酸序列的核苷酸位置处具有一个或多个突变的PPX基因。在某些实施方案中，突变型PPX基因相对于相应野生型PPX序列具有一个或多个突变。如本文所用，术语“野生型”可用于指定在基因座处的标准等位基因，或在特定种群中具有最高频率的等位基因。在一些例子中，野生型等位基因可以由特定氨基酸或核酸序列表示。例如，野生型土豆质体PPX蛋白可由SEQ ID NO:7表示。例如，野生型土豆线粒体PPX蛋白可由SEQ ID NO:9表示。在一些实施方案中，突变型PPX基因相对于参考PPX核酸序列例如SEQ ID NO:2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、34、36、38、41、43或45或在其种内同源基因的同源位置处具有一个或多个突变。在一些实施方案中，该突变型PPX基因用至少一个突变修饰。在其他实施方案中，该突变型PPX基因用至少两个突变修饰。在其他实施方案中，该突变型PPX基因用至少三个突变修饰。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括选自表2、3a和3b的两个或更多个核酸序列突变。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码一个或多个突变型线粒体PPX蛋白。在其他实施方案中，突变型PPX基因编码一个或多个突变型质

体PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因为突变型线粒体PPX基因；例如，突变型StmPPX1。在一些实施方案中，突变型PPX基因为突变型线粒体PPX基因；例如，突变型StmPPX2。在一些实施方案中，突变型PPX基因为突变型质体PPX基因；例如，突变型StcPPX1。在一些实施方案中，突变型PPX基因为突变型线粒体PPX基因等位基因；例如，突变型StmPPX2.1或突变型StmPPX2.2。在一些实施方案中，突变型PPX基因为突变型质体PPX基因等位基因；例如，突变型StcPPX1或突变型StcPPX1.1。在一些实施方案中，在质体PPX基因中有至少一个突变并且在线粒体PPX基因中有至少一个突变。在一些实施方案中，PPX基因中的一个或多个突变导致除草剂抗性；例如，对抑制PPX的除草剂有抗性。在一些实施方案中，该突变型PPX基因编码与参考PPX蛋白相比具有增加的对一种或多种除草剂的抗性的突变型PPX蛋白。

[0011] 在一些实施方案中，突变型PPX基因中的突变编码具有两个或更多个突变的组合的蛋白。在某些实施方案中，至少一个突变是在质体PPX基因中并且至少一个突变是在线粒体PPX基因中。在某些实施方案中，所述组合选自表4a和4b。在一些实施方案中，突变型PPX基因中的突变编码具有三个或更多个突变的组合(例如，选自表4a和4b的组合)的蛋白。在一些实施方案中，质体PPX基因中的至少一个突变和线粒体PPX基因中的至少一个突变处于相同的对应位置。在其他实施方案中，质体PPX基因中的至少一个突变和线粒体PPX基因中的至少一个突变处于不同的对应位置。

[0012] 如本文所用，术语“PPX蛋白”是指与SEQ ID NO:1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、29、31、33、35、37、39、40、42或44的PPX蛋白具有同源性和/或氨基酸同一性和/或表现出PPX活性的蛋白。在某些实施方案中，PPX蛋白与特异性PPX蛋白具有70%；75%；80%；85%；90%；95%；96%；97%；98%；99%；或100%同一性，例如，线粒体黄褐色伯班克PPX蛋白或质体黄褐色伯班克PPX蛋白。在某些实施方案中，PPX蛋白与选自图1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、29、31、33、35、37、39、40、42或44中的序列的序列具有70%；75%；80%；85%；90%；95%；96%；97%；98%；99%；或100%同一性。

[0013] 如本文所用，术语“突变型PPX蛋白”是指在相对于参考PPX氨基酸序列的氨基酸的位置处或在其种内同源基因的同源位置处具有一个或多个突变的PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白相对于参考PPX氨基酸序列(例如具有SEQ ID NO:1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、29、31、33、35、37、39、40、42或44的参考PPX氨基酸序列或其部分)具有一个或多个突变。在某些实施方案中，突变型PPX蛋白相对于相应野生型蛋白具有一个或多个突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白相对于非抗除草剂的相应蛋白具有一个或多个突变。在一些实施方案中，PPX蛋白用至少一个突变修饰。在其他实施方案中，PPX蛋白用至少两个突变修饰。在其他实施方案中，PPX蛋白用至少三个突变修饰。在一些实施方案中，一个或多个线粒体PPX蛋白发生突变。在其他实施方案中，一个或多个质体PPX蛋白发生突变。在又一个实施方案中，一个或多个线粒体PPX蛋白和一个或多个质体PPX蛋白发生突变。在一些实施方案中，术语突变型PPX蛋白是指与参考蛋白相比具有增加的对一种或多种除草剂的抗性的PPX蛋白。

[0014] 在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于选自如下位置的一个或多个氨基酸位置处的突变：SEQ ID NO:1的52、85、105、111、130、139、143、144、145、147、165、167、170、180、185、192、193、199、206、212、219、220、221、226、228、229、230、237、244、256、257、

270、271、272、305、311、316、318、332、343、354、357、359、360、366、393、403、424、426、430、438、440、444、455、457、470、478、483、484、485、487、490、503、508和525。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于选自如下位置的一个或多个氨基酸位置处的突变：SEQ ID NO:9的58、64、74、84、93、97、98、101、119、121、124、139、150151、157、164、170、177、187、188、195、214、215、229、230、271、274、278、283、292、296、307、324、330、396、404、406、410、421、423、434、447、448、449、451、454、465、470和500。在一些实施方案中，植物或植物细胞可包括突变型原卟啉原IX氧化酶(PPX)基因，其中所述基因编码包括在对应于选自如下位置的一个或多个氨基酸位置处的突变的蛋白：SEQ ID NO:1的G52、N85、N105、E111、G130、D139、P143、R144、F145、L147、F165、L167、I170、A180、P185、E192、S193、R199、V206、E212、Y219、A220、G221、L226、M228、K229、A230、K237、S244、R256、R257、K270、P271、Q272、S305、E311、T316、T318、S332、S343、A354、L357、K359、L360、A366、L393、L403、L424、Y426、S430、K438、E440、V444、L455、K457、V470、F478、F483、D484、I485、D487、K490、L503、V508和I525。在一些实施方案中，植物或植物细胞可包括突变型原卟啉原IX氧化酶(PPX)基因，其中所述基因编码包括在对应于选自如下位置的一个或多个氨基酸位置处的突变的蛋白：SEQ ID NO:9的D58、E64、G74、G84、L93、K97、K98、A101、S119、F121、T124、N139、E150、S151、Q157、V164、D170、C177、H187、L188、N195、P214、I215、K229、K230、C271、D274、F283、A292、S296、C307、N324、D330、S396、A404、R406、K410、L421、A423、C434、D447、S448、V449、D451、D454、Y465、K470和T500。在一些实施方案中，PPX蛋白为拟南芥(Arabidopsis thalian)PPX蛋白(例如PPX蛋白可以是土豆PPX蛋白)的种内同源基因并且PPX蛋白可以具有在对应于SEQID NO:1的位置52的位置处的N，其中所述N被除N之外的氨基酸取代；在对应于SEQ ID NO:1的位置272的位置处的K，其中所述K被除K之外的氨基酸取代；在对应于SEQ ID NO:1的位置359的位置处的S，其中所述S被除S之外的氨基酸取代；和/或在对应于SEQ ID NO:1的位置525的位置处的S，其中所述S被除S之外的氨基酸取代。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括两个或更多个突变，其至少一个突变在对应于选自如下位置的氨基酸位置处：SEQ ID NO:1的G52、N85、N105、E111、G130、D139、P143、R144、F145、L147、F165、L167、I170、A180、P185、E192、S193、R199、V206、E212、Y219、A220、G221、L226、M228、K229、A230、K237、S244、R256、R257、K270、P271、Q272、S305、E311、T316、T318、S332、S343、A354、L357、K359、L360、A366、L393、L403、L424、Y426、S430、K438、E440、V444、L455、K457、V470、F478、F483、D484、I485、D487、K490、L503、V508和I525。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括两个或更多个突变，其至少一个突变在对应于选自如下位置的氨基酸位置处：SEQ ID NO:9的D58、E64、G74、G84、L93、K97、K98、A101、S119、F121、T124、N139、E150、S151、Q157、V164、D170、C177、H187、L188、N195、P214、I215、K229、K230、C271、D274、F283、A292、S296、C307、N324、D330、S396、A404、R406、K410、L421、A423、C434、D447、S448、V449、D451、D454、Y465、K470和T500。在一些实施方案中，PPX蛋白为拟南芥PPX蛋白(例如PPX蛋白可以是土豆PPX蛋白)的种内同源基因并且PPX蛋白具有两个或更多个突变并且具有如下的一个或多个：(1)在对应于SEQ ID NO:1的位置52的位置处的N，其中所述N被除N之外的氨基酸取代；(2)在对应于SEQ ID NO:1的位置272的位置处的K，其中所述K被除K之外的氨基酸取代；(3)在对应于SEQ ID NO:1的位置359的位置处的S，其中所述S被除S之外的氨基酸取代；和/或(4)在对应于SEQ ID NO:1的位置525的位置处的S，其中所述S被除S之外的氨基酸取代。在一些实施方案中，突变

型PPX蛋白包括三个或更多个突变，其至少一个突变在对应于选自如下位置的氨基酸位置处：SEQ ID NO:1的G52、N85、N105、E111、G130、D139、P143、R144、F145、L147、F165、L167、I170、A180、P185、E192、S193、R199、V206、E212、Y219、A220、G221、L226、M228、K229、A230、K237、S244、R256、R257、K270、P271、Q272、S305、E311、T316、T318、S332、S343、A354、L357、K359、L360、A366、L393、L403、L424、Y426、S430、K438、E440、V444、L455、K457、V470、F478、F483、D484、I485、D487、K490、L503、V508和I525。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括三个或更多个突变，其至少一个突变在对应于选自如下位置的氨基酸位置处：SEQ ID NO:9的D58、E64、G74、G84、L93、K97、K98、A101、S119、F121、T124、N139、E150、S151、Q157、V164、D170、C177、H187、L188、N195、P214、I215、K229、K230、C271、D274、F283、A292、S296、C307、N324、D330、S396、A404、R406、K410、L421、A423、C434、D447、S448、V449、D451、D454、Y465、K470和T500。在一些实施方案中，PPX蛋白为拟南芥PPX蛋白(例如PPX蛋白可以是土豆PPX蛋白)的种内同源基因并且PPX蛋白具有三个或更多个突变并且具有如下的一个或多个：(1)在对应于SEQ ID NO:1的位置52的位置处的N，其中所述N被除N之外的氨基酸取代；(2)在对应于SEQ ID NO:1的位置272的位置处的K，其中所述K被除K之外的氨基酸取代；(3)在对应于SEQ ID NO:1的位置359的位置处的S，其中所述S被除S之外的氨基酸取代；和/或(4)在对应于SEQ ID NO:1的位置525的位置处的S，其中所述S被除S之外的氨基酸取代。

[0015] 结合本文公开的各个方面、实施方案、组合物和方法，突变型PPX蛋白包括选自表1、2、3a、3b、4a、4b、8a-f、9a-d和10的一个或多个氨基酸突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括选自表1、2、3a、3b、4a、4b、8a-f、9a-d和10的两个或更多个氨基酸突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括选自表1、2、3a、3b、4a、4b、8a-f、9a-d和10的三个或更多个氨基酸突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括选自表2、3a和3b的一个或多个核酸序列突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白中的一个或多个突变包括选自如下的一个或多个突变、两个或更多个突变、或三个或更多个突变：在对应于SEQ ID NO:1的位置52的位置处甘氨酸突变为赖氨酸；在对应于SEQ ID NO:1的位置85的位置处天冬酰胺突变为天冬氨酸；在对应于SEQ ID NO:1的位置111的位置处谷氨酸突变为缬氨酸；在对应于SEQ ID NO:1的位置130的位置处甘氨酸突变为天冬酰胺；在对应于SEQ ID NO:1的位置139的位置处天冬氨酸突变为组氨酸；在对应于SEQ ID NO:1的位置143的位置处脯氨酸突变为精氨酸；在对应于SEQ ID NO:1的位置144的位置处精氨酸突变为半胱氨酸；在对应于SEQ ID NO:1的位置144的位置处精氨酸突变为亮氨酸；在对应于SEQ ID NO:1的位置144的位置处精氨酸突变为组氨酸；在对应于SEQ ID NO:1的位置145的位置处苯丙氨酸突变为亮氨酸；在对应于SEQ ID NO:1的位置145的位置处苯丙氨酸突变为酪氨酸；在对应于SEQ ID NO:1的位置147的位置处亮氨酸突变为缬氨酸；在对应于SEQ ID NO:1的位置165的位置处苯丙氨酸突变为天冬酰胺；在对应于SEQ ID NO:1的位置180的位置处丙氨酸突变为苏氨酸；在对应于SEQ ID NO:1的位置185的位置处脯氨酸突变为精氨酸；在对应于SEQ ID NO:1的位置185的位置处脯氨酸突变为组氨酸；在对应于SEQ ID NO:1的位置185的位置处脯氨酸突变为酪氨酸；在对应于SEQ ID NO:1的位置192的位置处谷氨酸突变为天冬氨酸；在对应于SEQ ID NO:1的位置192的位置处谷氨酸突变为赖氨酸；在对应于SEQ ID NO:1的位置193的位置处丝氨酸突变为苏氨酸；在对应于SEQ ID NO:1的位置199的位置处精氨酸突变为亮氨酸；在对应于SEQ ID NO:1的位置206的位置处缬氨酸突变为苯丙氨酸；在对应于SEQ ID NO:1的

位置219的位置处酪氨酸突变为丝氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置220的位置处丙氨酸突变为半胱氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置220的位置处丙氨酸突变为异亮氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置220的位置处丙氨酸突变为亮氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置220的位置处丙氨酸突变为苏氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置220的位置处丙氨酸突变为缬氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置226的位置处亮氨酸突变为蛋氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置228的位置处蛋氨酸突变为亮氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置229的位置处赖氨酸突变为谷氨酰胺;在对应于SEQ ID NO:1的位置230的位置处丙氨酸突变为苯丙氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置244的位置处丝氨酸突变为甘氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置244的位置处丝氨酸突变为苏氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置256的位置处精氨酸突变为组氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置256的位置处精氨酸突变为丝氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置270的位置处赖氨酸突变为谷氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置270的位置处赖氨酸突变为谷氨酰胺;在对应于SEQ ID NO:1的位置271的位置处脯氨酸突变为精氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置272的位置处谷氨酰胺突变为苯丙氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置305的位置处丝氨酸突变为亮氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置311的位置处谷氨酸突变为精氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置316的位置处苏氨酸突变为甘氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置318的位置处苏氨酸突变为甘氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置332的位置处丝氨酸突变为半胱氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置357的位置处亮氨酸突变为异亮氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置359的位置处赖氨酸突变为精氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置359的位置处赖氨酸突变为苏氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置360的位置处亮氨酸突变为天冬氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置360的位置处亮氨酸突变为赖氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置366的位置处丙氨酸突变为谷氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置393的位置处亮氨酸突变为蛋氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置393的位置处亮氨酸突变为丝氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置393的位置处亮氨酸突变为缬氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置403的位置处亮氨酸突变为精氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置403的位置处亮氨酸突变为丝氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置424的位置处亮氨酸突变为丝氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为半胱氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为苯丙氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为组氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为异亮氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为亮氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为精氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为苏氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为缬氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置430的位置处丝氨酸突变为亮氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置438的位置处赖氨酸突变为丝氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置440的位置处谷氨酸突变为赖氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置444的位置处缬氨酸突变为异亮氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置455的位置处亮氨酸突变为缬氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置457的位置处赖氨酸突变为缬氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置470的位置处缬氨酸突变为丝氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置470的位置处缬氨酸突变为酪氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置478的位置处苯丙氨酸突变为丝氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置483的位置处苯丙氨酸突变为甘氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置484的位置处天冬氨酸突变为丙氨

酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置485的位置处异亮氨酸突变为谷氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置487的位置处天冬氨酸突变为甘氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置490的位置处赖氨酸突变为天冬酰胺;在对应于SEQ ID NO:1的位置503的位置处亮氨酸突变为苯丙氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置508的位置处缬氨酸突变为苏氨酸;和在对应于SEQ ID NO:1的位置525的位置处异亮氨酸突变为苏氨酸。在一些实施方案中,PPX蛋白为拟南芥PPX蛋白(例如PPX蛋白可以是土豆PPX蛋白)的种内同源基因并且PPX蛋白可以具有在对应于SEQ ID NO:1的位置52的位置处的N,其中所述N被除N之外的氨基酸取代;在对应于SEQ ID NO:1的位置272的位置处的K,其中所述K被除K之外的氨基酸取代;在对应于SEQ ID NO:1的位置359的位置处的S,其中所述S被除S之外的氨基酸取代;和/或在对应于SEQ ID NO:1的位置525的位置处的S,其中所述S被除S之外的氨基酸取代。在此类实施方案中,突变型PPX蛋白中的一个或多个突变包括选自如下的一个或多个突变、两个或更多个突变、或三个或更多个突变:在对应于SEQ ID NO:1的位置52的位置处天冬酰胺突变为赖氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置85的位置处天冬酰胺突变为天冬氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置144的位置处精氨酸突变为半胱氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置144的位置处精氨酸突变为组氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置145的位置处苯丙氨酸突变为亮氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置145的位置处苯丙氨酸突变为酪氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置180的位置处丙氨酸突变为苏氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置185的位置处脯氨酸突变为精氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置185的位置处脯氨酸突变为组氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置220的位置处丙氨酸突变为半胱氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置220的位置处丙氨酸突变为异亮氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置220的位置处丙氨酸突变为亮氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置220的位置处丙氨酸突变为苏氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置220的位置处丙氨酸突变为缬氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置226的位置处亮氨酸突变为蛋氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置228的位置处蛋氨酸突变为亮氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置244的位置处丝氨酸突变为甘氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置244的位置处丝氨酸突变为苏氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置272的位置处赖氨酸突变为苯丙氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置305的位置处丝氨酸突变为亮氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置332的位置处丝氨酸突变为半胱氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置357的位置处亮氨酸突变为异亮氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置359的位置处丝氨酸突变为精氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置359的位置处丝氨酸突变为苏氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置393的位置处亮氨酸突变为蛋氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置393的位置处亮氨酸突变为丝氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置393的位置处亮氨酸突变为缬氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置403的位置处亮氨酸突变为精氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置403的位置处亮氨酸突变为丝氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置424的位置处亮氨酸突变为丝氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为半胱氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为苯丙氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为组氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为异亮氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为亮氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为精氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为苏氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为缬氨酸;在对应

于SEQ ID NO:1的位置478的位置处苯丙氨酸突变为丝氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置525的位置处异亮氨酸突变为苏氨酸;在对应于SEQ ID NO:9的位置58的位置处天冬氨酸突变为天冬酰胺;在对应于SEQ ID NO:9的位置64的位置处谷氨酸突变为缬氨酸;在对应于SEQ ID NO:9的位置74的位置处甘氨酸突变为半胱氨酸;在对应于SEQ ID NO:9的位置84的位置处甘氨酸突变为天冬酰胺;在对应于SEQ ID NO:9的位置93的位置处亮氨酸突变为组氨酸;在对应于SEQ ID NO:9的位置97的位置处赖氨酸突变为精氨酸;在对应于SEQ ID NO:9的位置98的位置处精氨酸突变为组氨酸;在对应于SEQ ID NO:9的位置98的位置处精氨酸突变为半胱氨酸;在对应于SEQ ID NO:9的位置98的位置处精氨酸突变为亮氨酸;在对应于SEQ ID NO:9的位置101的位置处丙氨酸突变为缬氨酸;在对应于SEQ ID NO:9的位置119的位置处丝氨酸突变为天冬酰胺;在对应于SEQ ID NO:9的位置121的位置处苯丙氨酸突变为亮氨酸;在对应于SEQ ID NO:9的位置124的位置处苏氨酸突变为异亮氨酸;在对应于SEQ ID NO:9的位置139的位置处天冬酰胺突变为酪氨酸;在对应于SEQ ID NO:9的位置139的位置处天冬酰胺突变为精氨酸;在对应于SEQ ID NO:9的位置139的位置处天冬酰胺突变为组氨酸;在对应于SEQ ID NO:9的位置150的位置处谷氨酸突变为天冬氨酸;在对应于SEQ ID NO:9的位置150的位置处谷氨酸突变为赖氨酸;在对应于SEQ ID NO:9的位置151的位置处丝氨酸突变为苏氨酸;在对应于SEQ ID NO:9的位置157的位置处谷氨酰胺突变为亮氨酸;在对应于SEQ ID NO:9的位置164的位置处缬氨酸突变为苯丙氨酸;在对应于SEQ ID NO:9的位置164的位置处缬氨酸突变为丙氨酸;在对应于SEQ ID NO:9的位置170的位置处天冬氨酸突变为谷氨酸;在对应于SEQ ID NO:9的位置177的位置处半胱氨酸突变为丝氨酸;在对应于SEQ ID NO:9的位置187的位置处组氨酸突变为谷氨酰胺;在对应于SEQ ID NO:9的位置188的位置处亮氨酸突变为苯丙氨酸;在对应于SEQ ID NO:9的位置195的位置处天冬酰胺突变为赖氨酸;在对应于SEQ ID NO:9的位置214的位置处脯氨酸突变为丝氨酸;在对应于SEQ ID NO:9的位置214的位置处脯氨酸突变为组氨酸;在对应于SEQ ID NO:9的位置215的位置处异亮氨酸突变为丝氨酸;在对应于SEQ ID NO:9的位置215的位置处异亮氨酸突变为组氨酸;在对应于SEQ ID NO:9的位置229的位置处赖氨酸突变为谷氨酸;在对应于SEQ ID NO:9的位置229的位置处赖氨酸突变为谷氨酰胺;在对应于SEQ ID NO:9的位置230的位置处赖氨酸突变为精氨酸;在对应于SEQ ID NO:9的位置271的位置处半胱氨酸突变为精氨酸;在对应于SEQ ID NO:9的位置274的位置处天冬氨酸突变为甘氨酸;在对应于SEQ ID NO:9的位置283的位置处苯丙氨酸突变为甘氨酸;在对应于SEQ ID NO:9的位置292的位置处丙氨酸突变为甘氨酸;在对应于SEQ ID NO:9的位置296的位置处丝氨酸突变为亮氨酸;在对应于SEQ ID NO:9的位置307的位置处半胱氨酸突变为丝氨酸;在对应于SEQ ID NO:9的位置324的位置处天冬酰胺突变为天冬氨酸;在对应于SEQ ID NO:9的位置324的位置处天冬酰胺突变为赖氨酸;在对应于SEQ ID NO:9的位置330的位置处天冬氨酸突变为谷氨酸;在对应于SEQ ID NO:9的位置396的位置处丝氨酸突变为亮氨酸;在对应于SEQ ID NO:9的位置404的位置处丙氨酸突变为丝氨酸;在对应于SEQ ID NO:9的位置406的位置处精氨酸突变为赖氨酸;在对应于SEQ ID NO:9的位置410的位置处精氨酸突变为异亮氨酸;在对应于SEQ ID NO:9的位置421的位置处亮氨酸突变为缬氨酸;在对应于SEQ ID NO:9的位置423的位置处丙氨酸突变为缬氨酸;在对应于SEQ ID NO:9的位置434的位置处半胱氨酸突变为丝氨酸;在对应于SEQ ID NO:9的位置434的位置处半胱氨酸突变为酪氨酸;在对

应于SEQ ID NO:9的位置447的位置处天冬氨酸突变为甘氨酸;在对应于SEQ ID NO:9的位置448的位置处丝氨酸突变为丙氨酸;在对应于SEQ ID NO:9的位置449的位置处缬氨酸突变为谷氨酸;在对应于SEQ ID NO:9的位置451的位置处天冬氨酸突变为甘氨酸;在对应于SEQ ID NO:9的位置454的位置处天冬氨酸突变为天冬酰胺;在对应于SEQ ID NO:9的位置465的位置处酪氨酸突变为苯丙氨酸;在对应于SEQ ID NO:9的位置470的位置处赖氨酸突变为苏氨酸;和在对应于SEQ ID NO:9的位置500的位置处苏氨酸突变为丝氨酸。

[0016] 结合本文公开的方面、实施方案、方法和/或组合物中的任一个,在某些实施方案中,突变型PPX蛋白可包括突变的组合;例如选自表4a和4b的突变的组合。在一些实施方案中,该突变型PPX蛋白包括两个或更多个突变的组合;例如,选自表4a和4b的组合。在一些实施方案中,该突变型PPX蛋白包括三个或更多个突变的组合;例如,选自表4a和4b的组合。在一些实施方案中,突变型PPX基因中突变的组合编码具有在对应于SEQ ID NO:1的Y426的位置处的突变和在对应于选自如下位置的一个或多个氨基酸位置处的突变的蛋白:SEQ ID NO:1的N85、R144、F145、A180、A220、L226和S244。在一些实施方案中,突变型PPX基因中突变的组合编码具有在对应于SEQ ID NO:1的L393的位置处的突变和在对应于选自如下位置的一个或多个氨基酸位置处的突变的蛋白:SEQ ID NO:1的R144、F145、A220、S224和S244。在一些实施方案中,突变的组合编码具有在对应于SEQ ID NO:1的L403的位置处的突变和在对应于选自如下位置的一个或多个氨基酸位置处的突变的蛋白:SEQ ID NO:1的F145、A220和L226。在一些实施方案中,突变的组合编码具有在对应于SEQ ID NO:1的R144的位置处的蛋白和在对应于选自如下位置的一个或多个氨基酸位置处的突变的蛋白:SEQ ID NO:1的G52、N85、A220、S244、L226、M228、K272、S332、L393、L424、Y426和I525。在一些实施方案中,突变的组合编码在对应于SEQ ID NO:1的N85的位置处的突变和在对应于选自如下位置的一个或多个氨基酸位置处的突变的蛋白:SEQ ID NO:1的R144、F145、A180、A220、L226、M228和Q272。在一些实施方案中,突变的组合编码在对应于SEQ ID NO:1的L424的位置处的突变和在对应于选自如下位置的氨基酸位置处的突变的蛋白:SEQ ID NO:1的R144、F145、A220、L226和L393。在一些实施方案中,突变的组合编码具有在对应于SEQ ID NO:1的I525的位置处的突变和在对应于SEQ ID NO:1的位置N85、F144、F145、A180、L226和S244的氨基酸位置处的突变的蛋白。在一些实施方案中,突变的组合编码在对应于SEQ ID NO:1的R144的位置处的突变和在对应于SEQ ID NO:1的A220的位置处的氨基酸位置的突变的蛋白。在一些实施方案中,PPX蛋白为拟南芥PPX蛋白(例如PPX蛋白可以是土豆PPX蛋白)的种内同源基因并且PPX蛋白可具有在对应于SEQ ID NO:1的位置52的位置处的N,其中所述N被除N之外的氨基酸取代;在对应于SEQ ID NO:1的位置272的位置处的K,其中所述K被除K之外的氨基酸取代;在对应于SEQ ID NO:1的位置359的位置处的S,其中所述S被除S之外的氨基酸取代;和/或在对应于SEQ ID NO:1的位置525的位置处的S,其中所述S被除S之外的氨基酸取代。在此类实施方案中,突变型PPX蛋白包括两个或更多个突变的组合;例如,选自表4a和4b的组合。在此类实施方案中,突变型PPX蛋白包括三个或更多个突变的组合;例如,选自表4a和4b的组合。在一些实施方案中,突变型PPX基因中的突变的组合编码具有在对应于SEQ ID NO:1的Y426的位置处的突变和在对应于选自如下位置的一个或多个氨基酸位置处的突变的蛋白:SEQ ID NO:1的N85、R144、F145、A180、A220、L226和S244。在一些实施方案中,突变型PPX基因中突变的组合编码具有在对应于SEQ ID NO:1的L393的位置处的突变和在对应于选自

如下位置的一个或多个氨基酸位置处的突变的蛋白:SEQ ID NO:1的R144、F145、A220、S244和S224。在一些实施方案中,突变的组合编码具有在对应于SEQ ID NO:1的L403的位置处的突变和在对应于选自如下位置的一个或多个氨基酸位置处的突变和蛋白:SEQ ID NO:1的F145、A220和L226。在一些实施方案中,突变的组合编码具有在对应于SEQ ID NO:1的R144的位置处的突变和在对应于选自如下位置的一个或多个氨基酸位置处的突变的蛋白:SEQ ID NO:1的N52、N85、A220、S244、L226、M228、K272、S332、L393、L424、Y426和S525。在一些实施方案中,突变的组合编码具有在对应于SEQ ID NO:1的N85的位置处的突变和在对应于选自如下位置的一个或多个氨基酸位置处的突变的蛋白:SEQ ID NO:1的R144、F145、A180、A220、L226、M228和K272。在一些实施方案中,突变的组合编码具有在对应于SEQ ID NO:1的L424的位置处的突变和在对应于选自如下位置的氨基酸位置处的突变的蛋白:SEQ ID NO:1的R144、F145、A220、L226和L393。在一些实施方案中,突变的组合编码具有在对应于SEQ ID NO:1的位置S525的位置处的突变和在对应于SEQ ID NO:1的位置N85、F144、F145、A180、L226和S244的氨基酸位置处的突变的蛋白。在一些实施方案中,突变的组合编码具有在对应于SEQ ID NO:9的98的位置处的突变和在对应于选自如下位置的氨基酸位置处的突变的蛋白:SEQ ID NO:9的74、93、97、98、119、121、124、139、150、151、164、188、214、229、230、271、274、292、307、324、396、410、423、434、447、448、451、465、470和500。在某些实施方案中,突变的组合编码具有在对应于SEQ ID NO:9的98的位置处的突变和在对应于选自如下位置的氨基酸位置处的突变的蛋白:SEQ ID NO:9的271、274、292、307、324、330、396、404、406、410、423、434、447、448、454、465、470和500。在某些实施方案中,突变的组合编码具有在对应于SEQ ID NO:9的98的位置处的突变和在对应于选自如下位置的氨基酸位置处的突变的蛋白:SEQ ID NO:9的307和423。在某些实施方案中,突变的组合编码具有在对应于SEQ ID NO:9的98的位置处的突变和在对应于选自如下位置的氨基酸位置处的突变的蛋白:SEQ ID NO:9的124、188、214和229。

[0017] 结合本文公开的方面、实施方案、方法和/或组合物中的任一个,PPX蛋白可以是拟南芥PPX蛋白(例如PPX蛋白可以是土豆线粒体PPX蛋白)的种内同源基因并且PPX蛋白可以具有一个或多个与SEQ ID NO:9相应的PPX氨基酸。结合本文公开的方面、实施方案、方法和/或组合物中的任一个,突变型PPX基因中的一个或多个突变可以编码具有选自如下的一个或多个突变、两个或更多个突变、三个或更多个突变的突变型PPX蛋白:突变型PPX蛋白可包括在对应于选自如下的一个或多个位置的氨基酸位置处的一个或多个突变:SEQ ID NO:9的58、64、74、84、93、97、98、101、119、121、124、139、150151、157、164、170、177、187、188、195、214、215、229、230、271、274、278、283、292、296、307、324、330、396、404、406、410、421、423、434、447、448、449、451、454、465、470和500。

[0018] 结合本文公开的方面、实施方案、方法和/或组合物中的任一个,植物细胞可以具有突变型PPX基因。在某些实施方案中,该突变型PPX基因编码突变型PPX蛋白。在某些实施方案中,植物细胞可以是抗除草剂植物的一部分。该方法可包括将基因修复寡核碱基(GRON)引入植物细胞;例如,使用在PPX基因中具有靶向突变的GRON。在某些实施方案中,得自该方法的植物细胞可包括能够表达突变型PPX蛋白的PPX基因。该方法可进一步包括鉴定植物细胞或包括植物细胞的植物,所述植物细胞包括(1)突变型PPX基因和/或(2)与相应野生型植物细胞相比正常的生长和/或催化活性。可在抑制PPX的除草剂存在下鉴定具有植物

细胞(例如本文所述的植物细胞)的抗除草剂植物。在一些实施方案中,植物细胞是非转基因的。在一些实施方案中,植物细胞是转基因的。包括植物细胞(例如本文所述的植物细胞)的植物可以是非-转基因或转基因抗除草剂植物;例如,植物和/或植物细胞可以具有对至少一种除草剂产生抗性的突变型PPX基因。在一些实施方案中,具有如本文所述的植物细胞的植物可以无性产生;例如,从一个或多个植物细胞或从由一个或多个植物细胞构成的植物组织例如从块茎无性产生。在其他实施方案中,具有植物细胞(例如本文所述的植物细胞)的植物可以有性产生。

[0019] 在另一方面,提供了用于产生抗除草剂植物的方法。该方法可包括将基因修复寡核碱基(GRON)引入植物细胞;例如,使用在PPX基因中设计有靶向突变的GRON。突变型PPX基因可表达突变型PPX蛋白。该方法可进一步包括鉴定与相应野生型植物细胞相比具有正常的生长和/或催化活性的植物。可在抑制PPX的除草剂存在下鉴定植物。在一些实施方案中,该植物是非转基因的。在一些实施方案中,该植物可以是非转基因抗除草剂植物;例如,该植物可包括对至少一种除草剂产生抗性或耐受性的突变型PPX基因。

[0020] 在另一方面提供了包括突变型PPX基因的种子。在一些实施方案中,该种子具有突变型PPX基因。在一些实施方案中,该突变型PPX编码突变型PPX蛋白。在一些实施方案中,突变型PPX蛋白可对除草剂例如,抑制PPX的除草剂有抗性。在一些实施方案中,由种子生长的植物对至少一种除草剂例如,抑制PPX的除草剂有抗性。

[0021] 在另一方面,提供了通过如下来增加植物的除草剂抗性的方法:(a)将第一植物与第二植物杂交,其中第一植物包括突变型PPX基因,其中该基因编码突变型PPX蛋白;(b)筛选得自杂交的种群中增加的除草剂抗性;例如,增加的对抑制PPX的除草剂的抗性;(c)选择得自杂交的具有增加的除草剂抗性的成员;和/或(d)产生得自所述杂交的种子。在一些实施方案中,杂交种子通过任意方法(例如本文所述的方法)产生。在一些实施方案中,植物由任意方法(例如本文所述的方法)产生的种子生长。在一些实施方案中,该植物和/或种子是非-转基因的。在一些实施方案中,该植物和/或种子是转基因的。

[0022] 在另一方面,提供了控制含有植物的田地中的杂草的方法,通过将有效量的至少一种除草剂施加至含有杂草和植物的田地。在该方法的一些实施方案中,至少一种除草剂是抑制PPX的除草剂。在该方法的一些实施方案中,田地中的一种或多种植物包括突变型PPX基因;例如本文所述的突变型PPX基因。在该方法的一些实施方案中,田地中的一种或多种植物包括具有突变型PPX基因(例如本文所述的突变型PPX基因)的非-转基因或转基因植物。在一些实施方案中,该突变型PPX基因编码突变型PPX蛋白。在一些实施方案中,田地中的一种或多种植物是抗除草剂的;例如,对抑制PPX的除草剂有抗性。

[0023] 在另一方面,提供了编码PPX蛋白或其部分的分离核酸。在一些实施方案中,该分离核酸包括一个或多个PPX基因突变(例如本文所述的PPX基因突变)。在一些实施方案中,该分离核酸编码如本文所述的突变型PPX蛋白。在某些实施方案中,该分离核酸编码抗除草剂(例如,对抑制PPX的除草剂有抗性)的PPX蛋白。

[0024] 在另一方面,提供了含有突变型PPX基因的分离核酸的表达载体。在一些实施方案中,该表达载体含有编码PPX蛋白的分离核酸。在一些实施方案中,该分离核酸编码具有选自示于表1、2、3a、3b、4a、4b、8a-f、9a-d和10的突变的突变的蛋白。在某些实施方案中,该分离核酸编码具有两个或更多个突变的蛋白。在一些实施方案中,两个或更多个突变选自表

1、2、3a、3b、4a、4b、8a-f、9a-d和10。在某些实施方案中，该分离核酸编码抗除草剂(例如，对抑制PPX的除草剂有抗性)的PPX蛋白。

[0025] 如本文所用，术语“除草剂”是指可以杀死植物或可以阻止或降低植物的生长和/或生存力的任何化学品或物质。在一些实施方案中，除草剂抗性是植物在用将通常杀死或严重损害未改性的野生型植物的浓度的除草剂处理后存活并繁殖的可基因遗传的能力。在一些实施方案中，结合本文公开的方面、实施方案、方法和/或组合物中的任一个，该除草剂为抑制PPX的除草剂。在一些实施方案中，抑制PPX的除草剂为来自选自列于表5中的化学品家族的化学品家族的除草剂。在一些实施方案中，抑制PPX的除草剂为来自选自由N-苯基邻苯二甲酰亚胺、三唑啉酮和嘧啶二酮组成的化学品家族的化学品家族的除草剂。在一些实施方案中，抑制PPX的除草剂选自列于表5中的除草剂的组。在一些实施方案中，抑制PPX的除草剂选自由丙炔氟草胺、甲磺草胺和嘧啶肟草醚组成的除草剂的组。在其他实施方案中，抑制PPX的除草剂为丙炔氟草胺除草剂。在其他实施方案中，抑制PPX的除草剂为甲磺草胺除草剂。在其他实施方案中，抑制PPX的除草剂为嘧啶肟草醚除草剂。

[0026] 结合本文公开的方面、实施方案、方法和/或组合物中的任一个，该植物或植物细胞来自选自如下的植物作物：土豆、向日葵、甜菜、玉米、棉花、大豆、小麦、黑麦、燕麦、稻米、油菜、水果、蔬菜、烟草、大麦、高粱、番茄、芒果、桃子、苹果、梨、草莓、香蕉、甜瓜、胡萝卜、莴苣、洋葱、豆类、甘蔗、豌豆、芸豆、白杨、葡萄、柑橘、苜蓿、黑麦、燕麦、草坪草和牧草、亚麻、芸苔、黄瓜、牵牛花、香油、胡椒、茄子、金盏花、荷花、甘蓝、雏菊、康乃馨、矮牵牛花、郁金香、蝴蝶花、百合和产坚果植物，只要它们以前未被明确提及。在一些实施方案中，该植物或植物细胞为选自表6的物种。在一些实施方案中，该植物或植物细胞为选自拟南芥、马铃薯(Solanum tuberosum)、二倍体栽培种富利亚薯(Solanum phureja)、栽培稻(Oryza sativa)、糙果苋(Amaranthus tuberculatus)、玉米(Zea mays)、甘蓝型油菜(Brassica napus)和黄豆(Glycine max)的物种。在一些实施方案中，该植物或植物细胞为黄褐色伯班克马铃薯品种。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码黄褐色伯班克PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码拟南芥PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码马铃薯PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码二倍体栽培种富利亚薯PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码玉米PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码栽培稻PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码糙果苋PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码蜀黍PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码蓖麻PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码甘蓝型油菜PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码黄豆PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因At4g01690编码拟南芥PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因At5g14220编码拟南芥PPX蛋白。

[0027] 在本文公开的任何方面、实施方案、方法和/或组合物中，可包括一个或多个突变型PPX基因。在一些实施方案中，该方法和组合物包括编码一个或多个线粒体PPX蛋白的一个或多个突变型PPX基因。在其他实施方案中，该方法和组合物包括编码一个或多个质体PPX蛋白的一个或多个突变型PPX基因。在一些实施方案中，该方法和组合物包括编码一个或多个质体PPX蛋白和线粒体PPX蛋白的一个或多个突变型PPX基因。在一些实施方案中，该方法和组合物包括线粒体突变型PPX基因tmPPX1。在一些实施方案中，该方法和组合物包括线粒体突变型PPX基因tmPPX2。在一些实施方案中，该植物具有质体突变型PPX基因tcPPX1。

在一些实施方案中，该方法和组合物包括线粒体突变型PPX基因等位基因tcPPX2.1。在一些实施方案中，该方法和组合物包括线粒体突变型PPX基因等位基因tcPPX2.2。在一些实施方案中，该方法和组合物包括质体突变型PPX基因等位基因tcPPX1。在一些实施方案中，该方法和组合物包括质体突变型PPX基因等位基因tcPPX1.1。

[0028] 如本文所用，术语“基因”是指DNA序列，该序列包含RNA产生所必需的控制和编码序列，其可以具有非编码功能(例如，核糖体RNA或转运RNA)或其可以编码多肽或多肽前体。RNA或多肽可以由全长编码序列或由编码序列的任意部分编码，只要保留期望的活性或功能。

[0029] 如本文所用，术语“编码序列”是指核酸或其互补体或其部分的序列，该序列可以被转录和/或翻译以产生mRNA和/或其多肽或片段。编码序列包括基因组DNA或未成熟的初级RNA转录物中的外显子，它们通过细胞的生物化学机制连接在一起以提供成熟的mRNA。反义链是这种核酸的互补体，以及编码序列可以由其进行推导。

[0030] 如本文所用，术语“非-编码序列”是指核酸或其互补体或其部分的序列，其在体内不被转录成氨基酸，或其中tRNA不相互作用以放置或试图放置氨基酸。非-编码序列包括包括基因组DNA中或未成熟的初级RNA转录物中的内含子，以及基因相关序列如启动子、增强子、沉默基因等。

[0031] 核碱基(nucleobase)是碱基，所述碱基在某些优选的实施方案中是嘌呤、嘧啶或其衍生物或类似物。核苷是含有戊呋喃糖基部分，例如任选取代的核苷或2′-脱氧核苷的核苷碱基。该部分可以是与不具有部分的核苷相比增加DNA结合和/或减少核酸酶降解的任何基团。核苷可以通过几个连接部分之一进行连接，所述连接部分可以含有磷或可以不含有磷。通过未取代的磷酸二酯键连接的核苷被称为核苷酸。如本文所用，术语“核碱基”包括肽核碱基、肽核酸的亚单位和吗啉核碱基以及核苷和核苷酸。

[0032] 寡核碱基是包含核碱基的聚合物；优选地该寡核碱基的至少一部分可以通过Watson-Crick碱基配对与具有互补序列的DNA杂交。寡核碱基链可以具有一个5′端和3′端，它们是聚合物的最终的核碱基。特定的寡核碱基链可以包含所有类型的核碱基。寡核碱基化合物是包含一个或多个寡核碱基链的化合物，所述寡核碱基链可以是互补的并且通过Watson-Crick碱基配对杂交。脱氧核糖型核碱基包括含有核碱基的戊糖呋喃糖基，其中2’碳是被羟基、烷氧基或卤素取代的亚甲基。脱氧核糖型核碱基是除核糖型核碱基之外的核碱基并且包括不含有戊呋喃糖基部分的所有核碱基。

[0033] 结合本文公开的方面、实施方案、方法和/或组合物中的任一个，寡核碱基链可以包括寡核碱基链和寡核碱基链的区段或区域。寡核碱基链可以具有3′末端和5′末端，以及当寡核碱基链(strand)与链(chain)共同延伸时，该链(strand)的3′和5′末端也是该链(chain)的3′和5′端。

[0034] 如本文所用，术语“基因修复寡核碱基”或“GRON”是指寡核碱基，其包括混合双链体寡核苷酸、不含核苷酸的分子、单链寡脱氧核苷酸和其它基因修复分子。

[0035] 如本文所用，术语“转基因”是指具有由插入到其基因组中的另一个生物衍生的DNA的生物体或细胞。例如，在一些实施方案中，转基因生物体或细胞包括插入的DNA，所述DNA包括外源启动子和/或编码区。

[0036] 如本文所用，术语“非-转基因”是指不具有由插入到其基因组中的另一个生物体

衍生的DNA的生物体或细胞，尽管非转基因植物或细胞可具有一个或多个人工引入的靶向突变。

[0037] 如本文所用，术语“分离”，当提及核酸(例如，寡核苷酸如RNA、DNA或混合聚合物)时，是指这样的核酸，所述核酸与其天然存在于其中的基因组的实质部分分开和/或与天然伴随该核酸的其它细胞组分基本上分离。例如，已经通过合成(如通过连续碱基缩合)而产生的任意核酸被认为是分离的。同样地，重组表达的核酸、克隆的核酸、通过引物延伸反应(例如PCR)产生的核酸或另外切离基因组的核酸也被认为是分离的。

[0038] 如本文所用，术语“氨基酸序列”是指多肽或蛋白序列。协约“AAwt###AAmut”用来表示导致在多肽中位置###处的野生型氨基酸AAwt被突变体AAmut替换的突变。

[0039] 如本文所用，术语“互补体(complement)”是指根据标准Watson/Crick配对规则的核酸的互补序列。互补体序列也可以是与DNA序列或其互补体序列互补的RNA序列，以及也可以是cDNA。

[0040] 如本文所用，术语“基本上互补”是指两个序列在近似严格杂交条件下杂交。熟练技术人员将了解，基本上互补的序列不需要沿着它们的整个长度进行杂交。

[0041] 如本文所用，术语“密码子”是指组成遗传密码的三个邻近的核苷酸(RNA或DNA)的序列，所述遗传密码决定了在蛋白合成期间多肽链中特定氨基酸的插入或终止蛋白合成的信号。术语“密码子”还用来指在原始DNA转录成的信使RNA中三个核苷酸的对应的(以及互补的)序列。

[0042] 如本文所用，术语“同源性”是指蛋白和DNA之间的序列相似性。术语“同源性”或“同源的”是指同一性程度。可以存在部分同源性或完全同源性。部分同源的序列是与另一序列相比时具有小于100%序列同一性的序列。

[0043] 如本文所用，定量术语中的术语“约”是指加或减10%。例如，“约3%”将包括2.7-3.3%并且“约10%”将包括9-11%。而且，当“约”在本文与定量术语结合使用时，应理解的是，除该值加或减10%之外，还考虑并描述定量术语的精确值。例如，术语“约3%”特别地考虑、描述并精确包括3%。

[0044] 附图描述

[0045] 图1是拟南芥叶绿体(质体)PPX蛋白的氨基酸序列(SEQ ID NO:1)。

[0046] 图2是拟南芥叶绿体(质体)PPX cDNA的核酸序列(SEQ ID NO:2)。

[0047] 图3是拟南芥线粒体PPX蛋白的氨基酸序列(SEQ ID NO:3)。

[0048] 图4是拟南芥线粒体PPX cDNA的核酸序列(SEQ ID NO:4)。

[0049] 图5是糙果苋线粒体PPX蛋白的氨基酸序列(SEQ ID NO:5)。

[0050] 图6是糙果苋线粒体PPX cDNA的核酸序列(SEQ ID NO:6)。

[0051] 图7是马铃薯质体PPX蛋白StcPPX的氨基酸序列(SEQ ID NO:7)。

[0052] 图8是马铃薯质体PPX cDNA的核酸序列(SEQ ID NO:8)。

[0053] 图9是马铃薯线粒体PPX蛋白的氨基酸序列(SEQ ID NO:9)。

[0054] 图10是马铃薯线粒体PPX cDNA的核酸序列(SEQ ID NO:10)。

[0055] 图11是玉米质体PPX蛋白的氨基酸序列(SEQ ID NO:11)。

[0056] 图12是玉米质体PPX cDNA的核酸序列(SEQ ID NO:12)。

[0057] 图13是玉米线粒体PPX蛋白的氨基酸序列(SEQ ID NO:13)。

[0058] 图14是玉米线粒体PPX cDNA的核酸序列(SEQ ID NO:14)。

[0059] 图15是栽培稻质体PPX蛋白的氨基酸序列(SEQ ID NO:15)。

[0060] 图16是栽培稻质体PPX cDNA的核酸序列(SEQ ID NO:16)。

[0061] 图17是栽培稻线粒体PPX蛋白cDNA的氨基酸序列(SEQ ID NO:17)。

[0062] 图18是栽培稻线粒体PPX cDNA的核酸序列(SEQ ID NO:18)。

[0063] 图19是蜀黍质体PPX蛋白的氨基酸序列(SEQ ID NO:19)。

[0064] 图20是蜀黍质体PPX cDNA的核酸序列(SEQ ID NO:20)。

[0065] 图21是蜀黍线粒体PPX蛋白的氨基酸序列(SEQ ID NO:21)。

[0066] 图22是蜀黍线粒体PPX cDNA的核酸序列(SEQ ID NO:22)。

[0067] 图23是蓖麻质体PPX蛋白的氨基酸序列(SEQ ID NO:23)。

[0068] 图24是蓖麻质体PPX cDNA的核酸序列(SEQ ID NO:24)。

[0069] 图25是蓖麻线粒体PPX蛋白的氨基酸序列(SEQ ID NO:25)。

[0070] 图26是蓖麻线粒体PPX cDNA的核酸序列(SEQ ID NO:26)。

[0071] 图27是马铃薯线粒体PPX蛋白StmPPX1的氨基酸序列(SEQ ID NO:27)。

[0072] 图28是马铃薯线粒体PPX cDNA StmPPX1的核酸序列(SEQ ID NO:28)。

[0073] 图29是马铃薯线粒体PPX蛋白StmPPX2.1的氨基酸序列(SEQ ID NO:29)。

[0074] 图30是马铃薯线粒体PPX cDNA StmPPX2.1的核酸序列(SEQ ID NO:30)。

[0075] 图31是马铃薯线粒体PPX蛋白StmPPX2.2的氨基酸序列(SEQ ID NO:31)。

[0076] 图32是马铃薯线粒体PPX cDNAStmPPX2.2的核酸序列(SEQ ID NO:32)。

[0077] 图33是甘蓝型油菜质体PPX蛋白BncPPX1的氨基酸序列(SEQ ID NO:33)。

[0078] 图34是甘蓝型油菜PPX cDNA BncPPX1的核酸序列(SEQ ID NO:34)。

[0079] 图35是甘蓝型油菜质体PPX蛋白BncPPX2的氨基酸序列(SEQ ID NO:35)。

[0080] 图36是甘蓝型油菜PPX cDNA BncPPX2的核酸序列(SEQ ID NO:36)。

[0081] 图37是甘蓝型油菜质体PPX蛋白BncPPX3的部分氨基酸序列(SEQ ID NO:37)。

[0082] 图38是甘蓝型油菜PPX cDNA BncPPX3的部分核酸序列(SEQ ID NO:38)。

[0083] 图39是黄豆质体PPX蛋白GmcPPX1-1的氨基酸序列(SEQ IDNO:39)。

[0084] 图40是黄豆质体PPX蛋白GmcPPX1-2的氨基酸序列(SEQ ID NO:40)。

[0085] 图41是黄豆质体PPX蛋白GmcPPX1的核酸序列(SEQ ID NO:41)。

[0086] 图42是黄豆质体PPX蛋白GmcPPX2的氨基酸序列(SEQ ID NO:42)。

[0087] 图43是黄豆质体PPX蛋白GmcPPX2的核酸序列(SEQ ID NO:43)。

[0088] 图44是黄豆线粒体PPX蛋白GmcPPX的氨基酸序列(SEQ ID NO:44)。

[0089] 图45是黄豆线粒体PPX蛋白GmcPPX的核酸序列(SEQ ID NO:45)。

[0090] 图46是各种植物物种的PPX蛋白。

[0091] 图47是各种物种的植物PPX氨基酸序列中的同源氨基酸位置的表。

[0092] 图48是各种物种的植物PPX氨基酸序列中的同源氨基酸位置的表。

[0093] 发明详述

[0094] 快速性状开发系统(RTDS™)

[0095] 在本文公开的组合物和方法的各个方面和实施方案的任一个中,基因和蛋白中的突变可使用例如Cibus开发的快速性状开发系统(RTDS™)技术来制备。含有本文公开的任何

突变的植物可组合或单独地形成新抗除草剂产品的基础。还提供了由突变植物产生的种子，其中PPX基因对于突变或是纯合的或是杂合的。本文公开的突变可以组合已知的任意其它突变或未来发现的突变。

[0096] 如本文所用，术语“杂合的”是指在同源染色体区段中在一个或多个遗传基因座处具有不同的等位基因。如本文所用，“杂合的”还可以指可检测到一个或多个遗传基因座处的不同等位基因的样品、细胞、细胞种群或生物体。杂合的样品还可以通过本领域已知的方法如例如核酸测序进行测定。例如，如果测序电泳图在一个基因座处显示两个峰并且这两个峰大小大致相同，则该样品可以被表征为杂合的。或者，如果一个峰比另一个峰小但却是较大峰大小的至少约25%，则该样品可以被表征为杂合的。在一些实施方案中，较小的峰是较大的峰的至少约15%。在其他实施方案中，较小的峰是较大的峰的至少约10%。在其他实施方案中，较小的峰是较大的峰的至少约5%。在其他实施方案中，较小的峰最小量被检测。

[0097] 如本文所用，“纯合的”是指在同源染色体区段中在一个或多个遗传基因座处具有相同的等位基因。“纯合的”还可以是指可检测到一个或多个遗传基因座处的相同等位基因的样品、细胞、细胞种群或生物体。纯合的样品还可以通过本领域已知的方法例如核酸测序进行测定。例如，如果测序电泳图在具体基因座处显示单个峰，则该样品相对于该基因座可以被称为“纯合的”。

[0098] 术语“半合子的”是指因第二等位基因被删除而在细胞或生物体的基因型中仅出现一次的基因或基因区段。如本文所用，“半合子的”还可以是指一个或多个遗传基因座处的等位基因可在基因型中仅检测到一次的样品、细胞、细胞种群或生物体。

[0099] 在一些实施方案中，RTDS是基于通过利用细胞自身的基因修复系统来改变靶基因，以在原位特异性修饰基因序列，而不插入外源DNA和基因表达控制序列。该方法实现了遗传序列的精确改变，同时基因组的其余序列保持不变。与传统的转基因GMO相比，没有整合外源遗传物质，也没有任何外源遗传物质留在植物中。在很多实施方案中，RTDS引入的遗传序列中的改变不被随意插入。因为影响的基因保持在其原来的位置，所以不存在随意、不受控制或不利的表达形式。

[0100] 实现这种改变的RTDS是可以由DNA和修饰的RNA碱基以及其它化学部分组成的化学合成的寡核苷酸(例如，使用基因修复寡核碱基(GRON))，并且被设计成在靶基因位置处进行杂交以产生错配的碱基对(多个碱基对)。错配的碱基配对起信号的作用，以将细胞自身的天然基因修复系统吸引到该位点并且纠正(取代、插入或缺失)基因中指定的核苷酸(多个核苷酸)。一旦纠正过程完成，RTDS分子便降解并且在该基因的正常内源控制机制下表达现已修饰的或修复的基因。

[0101] 基因修复寡核碱基(“GRON”)

[0102] 本文公开的方法和组合物可以用例如具有下面详细描述的构象和化学性质的“基因修复寡核碱基”实施或制备。本文所考虑的“基因修复寡核碱基”也已经使用其它名称描述在发表的科技文献和专利文献中，所述名称包括“引起重组的(recombinagenic)寡核碱基”；“RNA/DNA嵌合寡核苷酸”；“嵌合寡核苷酸”；“混合双链体寡核苷酸”(MDON)；“RNA DNA寡核苷酸(RDO)”；“靶向基因的寡核苷酸”；“genoplast”；“单链修饰的寡核苷酸”；“单链寡脱氧核苷酸突变载体”(SSOMV)；“双链体突变载体”；和“异源双链体突变载体”。

[0103] 通过引用并入的Kmiec(Kmiec I)的美国专利No.5,565,350和Kmiec(Kmiec II)的

美国专利No.5,731,181中描述的构象和化学性质的寡核碱基适合用作本公开的“基因修复寡核碱基”。Kmiec I和/或Kmiec II中的基因修复寡核碱基含有两个互补链，其中一个含有与另一链的DNA型核苷酸碱基配对的RNA-型核苷酸(“RNA区段”)的至少一个区段。

[0104] Kmiec II公开了含有嘌呤和嘧啶碱基的非核苷酸可以取代核苷酸。可以用于本发明的其它基因修复分子包括但不限于描述在美国专利No.5,756,325;5,871,984;5,760,012;5,888,983;5,795,972;5,780,296;5,945,339;6,004,804;和6,010,907和国际专利No.PCT/US00/23457;以及国际专利公布No.WO98/49350;WO99/07865;WO99/58723;WO99/58702;和WO99/40789中的那些，所述专利各自据此整体并入。

[0105] 结合本文公开的方面、实施方案、方法和/或组合物中的任一个，基因修复寡核碱基可以是混合双链体寡核苷酸(MDON)，其中混合双链体寡核苷酸的RNA-型核苷酸通过用氟、氯、溴官能团替换2′-羟基或通过在2′-O上放置取代基而制成抗RNA酶。适合的取代基包括Kmiec II教导的取代基。可选的取代基可包括但不限于美国专利No.5,334,711(Sproat)教导的取代基以及专利公布EP629387和EP679657(均为Martin申请)，其据此通过引用并入。如本文所用，核糖核苷酸的2’-氟、氯、溴衍生物或具有取代有Martin申请或Sproa中描述的取代基的2′-OH的核糖核苷酸被称为“2’-取代的核糖核苷酸”。如本文所用，术语“RNA-型核苷酸”意指2’-羟基或2’-取代的核苷酸，其通过未取代的磷酸二酯键或Kmiec I或Kmiec II教导的任意非天然键与混合双链体寡核苷酸的其它核苷酸连接。如本文所用，术语“脱氧核糖型核苷酸”意指具有2′-H的核苷酸，其可以通过未取代的磷酸二酯键或Kmiec I或Kmiec II教导的任意非天然键与基因修复寡核碱基的其它核苷酸连接。

[0106] 结合本文公开的方面、实施方案、方法和/或组合物中的任一个，基因修复寡核碱基是只通过未取代的磷酸二酯键进行连接的混合双链体寡核苷酸(MDON)。在可选的实施方案中，连接通过取代的磷酸二酯、磷酸二酯衍生物和Kmiec II所教导的基于非磷的键进行。在又一个实施方案中，混合双链体寡核苷酸中的每个RNA-型核苷酸均是2′-取代的核苷酸。2’-取代的核糖核苷酸特别优选的实施方案包括但不限于2′-氟、2′-甲氧基、2′-丙氧基、2′-烯丙氧基、2′-羟基乙氧基、2′-甲氧基乙氧基、2′-氟丙氧基和2′-三氟丙氧基取代的核糖核苷酸。2’-取代的核糖核苷酸更优选的实施方案是2′-氟、2′-甲氧基、2′-甲氧基乙氧基和2′-烯丙氧基取代的核苷酸。在另一实施方案中，混合双链体寡核苷酸通过未取代的磷酸二酯键进行连接。

[0107] 尽管仅具有单一类型的2′-取代的RNA-型核苷酸的混合双链体寡核苷酸(MDON)合成更加方便，但本发明的方法可以用具有两种或更多种类型的RNA-型核苷酸的混合双链体寡核苷酸进行实施。RNA区段的功能可以不受通过在两个RNA-型三核苷酸之间引入脱氧核苷酸而引起的间断的影响，因此，术语RNA片段包括诸如“间断RNA片段”的术语。未间断RNA片段被称为连续RNA片段。在可选的实施方案中，RNA片段可以含有交替的抗RNA酶核苷酸和未取代的2′-OH核苷酸。混合双链体寡核苷酸优选具有少于100个核苷酸以及更优选少于85个核苷酸，但多于50个核苷酸。第一和第二链进行Watson-Crick碱基配对。在一个实施方案中，混合双链体寡核苷酸的链通过诸如单链六核苷酸、五核苷酸或四核苷酸的连接体而共价键合，这样第一链和第二链是具有单一3′末端和单一5′末端的单寡核苷酸链的片段。3′和5′末端可以通过添加“发夹帽”来保护，从而将3′和5′端的核苷酸与邻近的核苷酸进行Watson-Crick配对。另外，第二发夹帽可以放置在远离3′和5′末端的第一和第二链之间的

连接处，以便稳定第一和第二链之间的Watson-Crick配对。

[0108] 第一和第二链含有两个区，这两个区与靶基因的两个片段同源，即具有与靶基因相同的序列。同源区含有RNA区段的核苷酸以及可以含有连接DNA区段的一种或多种DNA-型核苷酸以及还可以含有不在间插DNA区段内的DNA-型核苷酸。同源的两个区被具有不同于靶基因序列的序列的区(称为“异源区”)所分隔，并且每一区与所述“异源区”毗邻。异源区可以含有一个、两个或三个错配的核苷酸。错配的核苷酸可以是连续的或可选地可以被与靶基因同源的一个或两个核苷酸所分隔。可选地，异源区还可以含有插入或一个、两个、三个或五个或更少的核苷酸。可选地，混合双链体寡核苷酸的序列可以仅因为从混合双链寡核苷酸中缺失一个、两个、三个或五个或更少的核苷酸而不同于靶基因序列。在这种情况下，异源区的长度和位置被认为是缺失的长度，即使混合双链体寡核苷酸的核苷酸不在异源区内。与两个同源区互补的靶基因片段之间的距离与意图进行一个或多个置换的异源区长度相同。当异源区含有插入物时，同源区因此被分隔在比基因中它们的互补同源片段远的混合双链体寡核苷酸中，以及当异源区对缺失进行编码时适用相反的情况。

[0109] 混合双链体寡核苷酸的RNA区段各自是同源区(即序列上与靶基因片段相同的区)的一部分，这些区段一起优选含有至少13个RNA-型核苷酸以及优选16至25个RNA-型核苷酸或更优选18-22个RNA-型核苷酸或最优选20个核苷酸。在一个实施方案中，同源区的RNA区段被间插DNA区段所分隔并且与间插DNA区段毗邻，即通过间插DNA区段“连接”。在一个实施方案中，异源区的每个核苷酸均是间插DNA区段的核苷酸。含有混合双链体寡核苷酸的异源区的间插DNA区段被称为“增变区段”。

[0110] 结合本文公开的方面、实施方案、方法和/或组合物中的任一个，基因修复寡核碱基(GRON)可以是单链寡脱氧核苷酸突变载体(SSOMV)，例如公开于国际专利申请PCT/US00/23457、美国专利No.6,271,360、6,479,292和7,060,500的那些，其通过引用整体并入。SSOMV的序列基于与下列专利中描述的突变载体相同的原理：美国专利No.5,756,325；5,871,984；5,760,012；5,888,983；5,795,972；5,780,296；5,945,339；6,004,804；和6,010,907以及国际公布No.WO98/49350；WO99/07865；WO99/58723；WO99/58702；和WO99/40789。SSOMV的序列含有两个区，这两个区与靶序列同源，被称为增变区的含有期望遗传改变的区所分隔。增变区可以具有这样的序列，所述序列与在靶序列中分隔同源区的序列长度相同，但具有不同的序列。这种增变区可以引起取代。可选地，SSOMV中的同源区可以彼此连续，而具有相同序列的靶基因区被一个、两个或更多个核苷酸分隔。这种SSOMV引起SSOMV中缺少的核苷酸从靶基因中缺失。最后，与同源区相同的靶基因的序列在靶基因中可以是邻近的，但在SSOMV的序列中被一个、两个或更多个核苷酸分隔。这种SSOMV引起靶基因序列的插入。

[0111] SSOMV的核苷酸是脱氧核糖核苷酸，所述脱氧核糖核苷酸通过未修饰的磷酸二酯键进行连接，只是3′端和/或5′端核苷酸间键合或可选地两个3′端和/或5′端核苷酸间键合可以是硫代磷酸酯或氨基磷酸酯。如本文所用，核苷酸间键合是SSOMV的核苷酸之间的连接以及不包括3′端核苷酸或5′端核苷酸和封端取代基之间的连接。在特定实施方案中，SSOMV的长度是21至55个脱氧核苷酸之间，以及因此同源区的长度是至少20个脱氧核苷酸的总长度，以及至少两个同源区应当各自具有至少8个脱氧核苷酸的长度。

[0112] SSOMV可以被设计成与靶基因的编码链或非编码链互补。当期望的突变是单碱基置换时，优选增变核苷酸和靶核苷酸均是嘧啶。就与实现期望的功能结果一致而言，优选突

变核苷酸和互补链中的靶核苷酸均是嘧啶。特别优选的是这样的SSOMV，其编码颠换突变，即C或T增变核苷酸与互补链中的C或T核苷酸分别进行错配。

[0113] 除寡脱氧核苷酸外，SSOMV也可以含有5′封端取代基，该封端取代基通过连接体与5′端的碳相连。连接体的化学性质不是关键的，这不同于其长度，连接体长度应当优选至少6个原子长并且连接体应当是挠性的。可以使用各种无毒的取代基如生物素、胆固醇或其它类固醇，或非嵌入性阳离子荧光染料。制备SSOMV的特别优选的试剂是Glen Research，Sterling Va.(现为GE Healthcare)作为Cy3™和Cy5™销售的试剂，它们是封端的氨基亚磷酸酯(phosphoroamidite)，在掺入寡核苷酸中后分别得到3,3,3',3'-四甲基N,N'-异丙基取代的吲哚单羰花青(indomonocarbocyanine)和吲哚二羰花青(indodicarbocyanine)染料。Cy3是特别优选的。当吲哚羰花青被N-氧烷基取代时，其可以以带有5′端磷酸酯的磷酸二酯与寡脱氧核苷酸的5′端方便地连接。染料和寡脱氧核苷酸之间的染料连接体的化学性质不是关键的，以及为了合成方便而进行选择。当直接使用商业可得的Cy3氨基亚磷酸酯时，所得的5′修饰由封端取代基和连接体一起组成，它们是N-羟基丙基、N′-磷脂酰基丙基3,3,3',3'-四甲基吲哚单羰花青。

[0114] 在优选的实施方案中，吲哚羰花青染料在吲哚环的3和3′位被四取代。没有受理论的限制，这些取代基防止染料成为嵌入性染料。在这些位置处的取代基的身份不是关键的。SSOMV可以另外具有3′封端取代基。3′封端取代基的化学性质也不是关键的。

[0115] 本文描述的突变也可以通过诱变(随机诱变、体细胞诱变或定向诱变)和其它DNA编辑或重组技术来获得，所述技术包括但不限于利用锌指核酸酶采用位点特异性同源重组的基因靶向。

[0116] 将基因修复寡核碱基输送到植物细胞中

[0117] 用于转化植物细胞的任意通常已知的方法可以用来输送基因修复寡核碱基。下面列出了说明性方法。

[0118] 微运载体和微纤维

[0119] 用于通过射弹穿透(projectile penetration)将DNA大片段引入具有纤维素细胞壁的植物细胞的金属微运载体(微球)的应用对相关领域的技术人员而言是熟知的(下文称为生物射弹输送)。美国专利No.4,945,050;5,100,792和5,204,253描述了选择微运载体的一般技术和投射它们的装置。

[0120] 在本文公开的方法中使用微运载体的具体条件描述在国际公布WO99/07865中公开。在说明性技术中，依次添加冰冷的微运载体(60mg/mL)、混合双链体寡核苷酸(60mg/mL)、2.5M $CaCl_2$和0.1M亚精胺；将混合物例如通过旋涡轻轻地搅动10分钟，然后放置在室温下10分钟，而后将微运载体稀释在5体积的乙醇中、离心并且再悬浮在100%乙醇中。8-10μg/μL微运载体、14-17μg/mL混合双链体寡核苷酸、1.1-1.4M $CaCl_2$和18-22mM亚精胺的粘附溶液浓度可以获得良好的结果。在8μg/μL微运载体、16.5μg/mL混合双链体寡核苷酸、1.3M $CaCl_2$和21mM亚精胺的条件下观察到最佳结果。

[0121] 对于本公开的实践，也可以应用微纤维将基因修复寡核碱基引入植物细胞中，以穿过细胞壁和细胞膜。Coffee等的美国专利No.5,302,523描述了应用30×0.5μm和10×0.3μm碳化硅纤维促进Black Mexican Sweet玉米悬浮培养液的转化。可以应用微纤维用来引入DNA以进行植物细胞转化的任何机械技术可以用来输送基因修复寡核碱基以进行蜕变

(transmutation)。

[0122] 基因修复寡核碱基微纤维输送的说明性技术如下:将无菌微纤维(2μg)悬浮在150μL含约10μg混合双链体寡核苷酸的植物培养基中。静置悬浮培养液并且将等体积的叠集细胞和无菌纤维/核苷酸悬液旋涡10分钟并且铺板。如具体性状所适合,立即或延迟多达约120h施用选择性培养基。

[0123] 原生质体电穿孔

[0124] 在可选的实施方案中,基因修复寡核碱基可以通过源自植物部分的原生质体电穿孔而输送到植物细胞。根据本领域技术人员熟知的技术,原生质体通过植物部分(特别是叶)的酶促处理而形成。参见例如,Gallois等,1996,Methods in Molecular Biology55:89-107,Humana Press,Totowa,N.J.;Kipp等,1999,Methods in Molecular Biology133:213-221,Humana Press,Totowa,N.J。在电穿孔之前原生质体不需要在生长培养基中培养。电穿孔的说明性条件是,在0.3mL的总体积中的3×10^5个原生质体以及0.6-4μg/mL的基因修复寡核碱基浓度。

[0125] 原生质体PEG-介导的DNA摄取

[0126] 在可选的实施方案中,根据本领域技术人员熟知的技术(参见例如,Gharti-Chhetri等,1992;Datta等,1992),核酸在膜改性剂聚乙二醇存在的情况下被植物原生质体摄取。

[0127] 微注射

[0128] 在可选的实施方案中,基因修复寡核碱基可以通过将其用微毛细管注射到植物细胞或原生质体中来进行输送(参见例如,Miki等,1989;Schnorf等,1991)。

[0129] 转基因学

[0130] 在本文公开的组合物和方法的各个方面和实施方案中的任一个中,基因和蛋白中的突变可应用例如转基因技术来进行。在一些实施方案中,组合物和方法包括具有转化核酸构建体的植物或植物细胞,所述核酸构建体包括与本文公开的PPX核苷酸可操作连接的启动子。本文公开的方法可包括将本文公开的PPX核酸构建体引入至少一个植物细胞中以及由其再生转化植物。核酸构建体包含编码如本文公开的抗除草剂PPX蛋白的至少一个核苷酸,特别是在图2、4、6、8、10和12中列出的核苷酸序列及其片段和变体。该方法进一步包括应用能够在植物细胞中驱使基因表达的启动子。在一个实施方案中,此类启动子是组成性启动子或组织优选的启动子。由这些方法产生的植物与未转化植物相比可以增加PPX活性,和/或特别是除草剂耐受性PPX活性。因此,该方法在增强或增加植物对增长PPX酶活性的至少一种除草剂(特别是在存在抑制PPX的除草剂的情况下)的抗性方面是有用的。

[0131] 结合本文公开的方面、实施方案、方法和/或组合物中的任一个,用于产生抗除草剂植物的方法可包括用包含与在植物细胞中驱使表达的启动子可操作连接的核苷酸序列的核酸构建体转化植物细胞以及从所述转化植物细胞再生转化植物。核苷酸序列选自编码本文公开的抗除草剂PPX的那些核苷酸序列,特别是在图2、4、6、8、10和12中列出的核苷酸序列及其片段和变体。与未转化植物相比,通过该方法产生的抗除草剂植物包含增强的对至少一种除草剂(特别是干扰PPX酶活性的除草剂例如抑制PPX的除草剂)的抗性。

[0132] 核酸构建体中公开的核酸分子可用于转化植物,例如作物植株,例如马铃薯。在一个实施方案中,含有本公开的核酸分子的此类核酸构建体可用于产生转基因植物以提供对

除草剂例如已知抑制PPX活性的除草剂(例如抑制PPX的除草剂)的抗性。核酸构建体可用于表达盒、表达载体、转化载体、质粒等。在用此类构建体转化之后获得的转基因植物表现出对抑制PPX的除草剂例如丙炔氟草胺和甲磺草胺除草剂的抗性。

[0133] 构建体

[0134] 本文公开的核酸分子(例如,突变型PPX基因)可用于产生重组核酸构建体。在一个实施方案中,本公开的核酸分子可用于制备核酸构建体,例如用于表达目标植物的表达盒。

[0135] 表达盒可包括与本文公开的PPX核酸序列可操作连接的调节序列。此外,该表达盒可含有被共转化到生物体中的至少一个附加基因。可选地,在多个表达盒上提供一个或多个附加基因。

[0136] 核酸构建体可提供有多个限制酶切位点以用于在调节区的转录调节下插入PPX核酸序列。此外,核酸构建体可包含编码可选择标记基因的核酸分子。

[0137] 任何启动子可用于产生核酸构建体。启动子对植物宿主和/或对本文公开的PPX核酸序列而言可以是天然或相似的、或外源的或异源的。此外,启动子可以是天然序列或可选地是合成序列。当启动子对植物宿主而言是"外源的"或"异源的"时,预期启动子未存在于引入该启动子的原生植物中。当启动子对PPX核酸序列而言是"外源的"或"异源的"时,预期启动子不是天然或自然存在的用于可操作连接本文公开的PPX核酸序列的启动子。如本文所用,嵌合基因包含与对编码序列而言异源的转录起始区可操作连接的编码序列。

[0138] 结合本文公开的方面、实施方案、方法和/或组合物中的任一个,本文公开的PPX核酸序列可应用异源启动子来表达,天然启动子序列可用于制备构建体。此类构建体将改变植物或植物细胞中PPX蛋白的表达水平。因此,植物或植物细胞的表型被改变。

[0139] 任何启动子可用于制备构建体以控制PPX编码序列的表达,例如提供组成性、组织优选的、可诱导的启动子或其他用于在植物中表达的启动子。组成性启动子包括例如,Rsyn7启动子的核心启动子和在WO99/43838和美国专利No.6,072,050中公开的组成性启动子;核心CaMV35S启动子(Odell等(1985)Nature313:810-812);栽培稻肌动蛋白(McElroy等(1990)Plant Cell2:163-171);泛素(Christensen等(1989)Plant Mol.Biol.12:619-632和Christensen等(1992)Plant Mol.Biol.18:675-689);pEMU(Last等(1991)Theor.Appl.Genet.81:581-588);MAS(Velten等(1984)EMBO J.3:2723-2730);ALS启动子(美国专利No.5,659,026)等。其他组成性启动子包括,例如美国专利No.5,608,149;5,608,144;5,604,121;5,569,597;5,466,785;5,399,680;5,268,463;5,608,142;和6,177,611。

[0140] 组织优选的启动子可用于指导特定植物组织内的PPX表达。此类组织优选的启动子包括但不限于叶优选的启动子、根优选的启动子、种子优选的启动子和茎优选的启动子。组织优选的启动子包括Yamamoto等(1997)Plant J.12(2):255-265;Kawamata等(1997)Plant Cell Physiol.38(7):792-803;Hansen等(1997)Mol.Gen Genet.254(3):337-343;Russell等(1997)Transgenic Res.6(2):157-168;Rinehart等(1996)Plant Physiol.112(3):1331-1341;Van Camp等(1996)Plant Physiol.112(2):525-535;Canevascini等(1996)Plant Physiol.112(2):513-524;Yamamoto等(1994)Plant Cell Physiol.35(5):773-778;Lam(1994)Results Probl.Cell Differ.20:181-196;Orozco等(1993)Plant Mol Biol.23(6):1129-1138;Matsuoka等(1993)Proc Natl.Acad.Sci.USA90(20):9586-9590;和Guevara-Garcia等(1993)Plant J.4(3):495-505。

[0141] 核酸构建体也可包括转录终止区。当使用转录终止区时，任何终止区可用于制备核酸构建体。例如，终止区对于转录起始区可以是天然的，对于可操作连接的目标PPX序列可以是天然的，对于植物宿主可以是天然的，或可以源自另一来源(即，对于启动子、目标PPX核酸分子、植物宿主或其任何组合是外源或异源的)。可用于在本公开的构建体中应用的终止区的实例包括来自根癌农杆菌(A.tumefaciens)的Ti-质粒的那些，例如章鱼肉碱合酶和胭脂氨酸合酶终止区。还参见Guerineau等(1991)Mol.Gen.Genet.262:141-144；Proudfoot(1991)Cell64:671-674；Sanfacon等(1991)Genes Dev.5:141-149；Mogen等(1990)Plant Cell2:1261-1272；Munroe等(1990)Gene91:151-158；Ballas等(1989)Nucleic Acids Res.17:7891-7903；和Joshi等(1987)Nucleic Acids Res.15:9627-9639。

[0142] 结合本文公开的方面、实施方案、方法和/或组合物中的任一个，可针对增加的在转化植物中的表达来优化核酸。即，编码突变体PPX蛋白的核酸可使用用于改善表达的植物优选的密码子来合成。参见例如，Campbell和Gowri(1990)Plant Physiol.92:1-11关于宿主优选的密码子使用的讨论。方法可在本领域用于合成植物优选的基因。参见例如，美国专利No.5,380,831和5,436,391，以及Murray等(1989)Nucleic Acids Res.17:477-498.

[0143] 此外，可对本文公开的核酸序列进行其它序列修饰。例如，已知附加序列修饰用于增强细胞宿主中的基因表达。这些包括编码假多腺苷酸化信号、外显子/内含子剪接位点信号、转座子样重复单元的序列和其它此类公认的不利于基因表达的序列的消除。也可将序列的G-C含量调至靶细胞宿主的平均水平，如通过参考宿主细胞中表达的已知基因来计算。此外，可以对序列进行修饰以避免预测发夹次级mRNA结构。

[0144] 其他核酸序列也可用于制备本公开的构建体，例如以增强PPX编码序列的表达。此类核酸序列包括玉米AdhI的内含子、内含子基因(Callis等(1987)Genes and Development1:1183-1200)以及来自烟草花叶病毒(TMV)、玉米枯黄斑点病毒和苜蓿花叶病毒的前导序列(W-序列)(Gallie等(1987)Nucleic Acid Res.15:8693-8711，和Skuzeski等(1990)Plant Mol.Biol.15:65-79,1990)。已显示来自玉米的shrunken-1基因座的第一内含子增加基因在嵌合基因构建体中的表达。美国专利No.5,424,412和5,593,874公开了特异性内含子在基因表达构建体中的用途，并且Gallie等((1994)Plant Physiol.106:929-939)也已显示内含子可用于在组织特异性基础上调节基因表达。为了进一步增强或优选PPX基因表达，本文公开的植物表达载体也可含有包含基质结合区(MAR)的DNA序列。用此类修饰表达系统转化的植物细胞然后可显示本公开的核苷酸序列的过表达或组成性表达。

[0145] 本文公开的表达构建体也可包括能够将PPX序列表达引导至叶绿体的核酸序列。此类核酸序列包括编码叶绿体转运肽以将目标基因产物引导至植物细胞叶绿体的叶绿体靶向序列。此类转运肽在本领域中已知。就叶绿体-靶向序列而言，“可操作连接”意指编码转运肽的核酸序列(即，叶绿体-靶向序列)与本文公开的PPX核酸分子连接以使两个序列是毗邻的并且在同一阅读框中。参见例如，Von Heijne等(1991)Plant Mol.Biol.Rep.9:104-126；Clark等(1989)J.Biol.Chem.264:17544-17550；Della-Cioppa等(1987)Plant Physiol.84:965-968；Romer等(1993)Biochem.Biophys.Res.Commun.196:1414-1421；和Shah等(1986)Science233:478-481。尽管本文公开的PPX蛋白可包括天然叶绿体转运肽，但是本领域已知的任何叶绿体转运肽可通过将叶绿体-靶向序列与编码成熟PPX蛋白的核苷酸序列的5’-端可操作连接而与成熟PPX蛋白的氨基酸序列融合。

[0146] 叶绿体靶向序列在本领域中已知并且包括核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶(Rubisco)(de Castro Silva Filho等(1996)Plant Mol.Biol.30:769-780;Schnell等(1991)J.Biol.Chem.266(5):3335-3342);5-(烯醇丙酮酰基)莽草酸-3-磷酸合酶(EPSPS)(Archer等(1990)J.Bioenerg.Biomemb.22(6):789-810);色氨酸合酶(Zhao等(1995)J.Biol.Chem.270(11):6081-6087);质体蓝素(Lawrence等(1997)J.Biol.Chem.272(33):20357-20363);分支酸合酶(Schmidt等(1993)J.Biol.Chem.268(36):27447-27457);和集光叶绿素a/b结合蛋白(LHBP)(Lamppa等(1988)J.Biol.Chem.263:14996-14999)的叶绿体小亚单元。也参见Von Heijne等(1991)Plant Mol.Biol.Rep.9:104-126;Clark等(1989)J.Biol.Chem.264:17544-17550;Della-Cioppa等(1987)Plant Physiol.84:965-968;Romer等(1993)Biochem.Biophys.Res.Commun.196:1414-1421;和Shah等(1986)Science233:478-481。

[0147] 结合本文公开的方面、实施方案、方法和/或组合物中的任一个,可以制备核酸构建体以指导来自植物细胞叶绿体的突变体PPX编码序列的表达。用于转化叶绿体的方法在本领域中已知。参见例如,Svab等(1990)Proc.Natl.Acad.Sci.USA87:8526-8530;Svab和Maliga(1993)Proc.Natl.Acad.Sci.USA90:913-917;Svab和Maliga(1993)EMBO J.12:601-606。方法依赖于含有可选择标记的DNA的基因枪输送以及通过同源重组将DNA靶向至质体基因组。此外,可通过对核编码的且质体定向的RNA聚合酶进行组织优选的表达来反式激活沉默质体源性转基因,从而完成质体转化。已在McBride等(1994)Proc.Natl.Acad.Sci.USA91:7301-7305中报导此类系统。

[0148] 可针对叶绿体中的表达优化靶向至叶绿体的目标核酸以说明植物细胞核和该细胞器之间的密码子使用的差异。用这种方式,目标核酸可使用叶绿体-优选的密码子来合成。参见例如,美国专利No.5,380,831,通过引用并入本文。

[0149] 核酸构建体可用于转化植物细胞并且再生包含突变体PPX编码序列的转基因植物。许多植物转化载体和用于转化植物的方法是可用的。参见例如,美国专利No.6,753,458,An,G.等(1986)Plant Physiol.,81:301-305;Fry,J.等(1987)Plant Cell Rep.6:321-325;Block,M.(1988)Theor.Appl Genet.76:767-774;Hinchee等(1990)Stadler.Genet.Symp.203212.203-212;Cousins等(1991)Aust.J.Plant Physiol.18:481-494;Chee,P.P和Slightom,J.L.(1992)Gene.118:255-260;Christou等(1992)Trends.Biotechnol.10:239-246;D'Halluin等(1992)Bio/Technol.10:309-314;Dhir等(1992)Plant Physiol.99:81-88;Casas等(1993)Proc.Nat.Acad Sci.USA90:11212-11216;Christou,P.(1993)In Vitro Cell.Dev.Biol.-Plant;29P:119-124;Davies等(1993)Plant Cell Rep.12:180-183;Dong,J.A.和Mc Hughen,A.(1993)Plant Sci.91:139-148;Franklin,C.I.和Trieu,T.N.(1993)Plant.Physiol.102:167;Golovkin等(1993)Plant Sci.90:41-52;Guo Chin Sci.Bull.38:2072-2078;Asano等(1994)Plant Cell Rep.13;Ayeres N.M.和Park,W.D.(1994)Crit.Rev.Plant.Sci.13:219-239;Barcelo等(1994)Plant.J.5:583-592;Becker等(1994)Plant.J.5:299-307;Borkowska等(1994)Acta.Physiol Plant.16:225-230;Christou,P.(1994)Agro.Food.Ind.Hi Tech.5:17-27;Eapen等(1994)Plant Cell Rep.13:582-586;Hartman等(1994)Bio-Technology12:919923;Ritala等(1994)Plant.Mol.Biol.24:317-325;以及Wan,Y.C.和Lemaux,P.G.

(1994)Plant Physiol.104:3748。也可使用同源重组将构建体转化到植物细胞中。

[0150] 包含本文公开的PPX核酸序列的公开的构建体可用于各种方法以产生转基因宿主细胞例如细菌、酵母，并且用于转化植物细胞以及在某些情况下再生转基因植物。例如，产生含有本文公开的PPX突变体蛋白的转基因作物植株的方法，其中与野生型植物或已知PPX突变型植物相比一个或多个核酸在植物中的表达引起除草剂耐受性，所述方法包括(a)将包含编码突变体PPX蛋白的核酸的表达载体引入植物细胞，以及(b)由植物细胞生成耐受除草剂的转基因植物。

[0151] PPX突变

[0152] 组合物和方法可至少部分涉及PPX基因中的突变，例如使植物对PX-抑制除草剂家族的除草剂有抗性或耐受性的突变。在某些实施方案中，组合物和方法也涉及使用基因修复寡核碱基以在植物的染色体或附加体序列的编码PPX蛋白的基因中进行所需突变。突变型蛋白可以在一些实施方案中基本上保持野生型蛋白的催化活性，允许植物对抑制PPX的家族的除草剂的抗性或耐受性增加以及因此在一些实施方案中，与野生型植物相比允许植物、其器官、组织或细胞的基本上正常的生长或发育(不论是否存在除草剂)。组合物和方法还涉及其中PPX基因已发生突变的非-转基因或转基因植物细胞、由其重生的非转基因植物或转基因植物、以及例如使用重生的非-转基因或转基因植物与在不同PPX基因中具有突变的植物杂交而产生的植物。这些突变也可用于在植物(包括作物植株)、藻类、细菌、真菌和哺乳动物系统中对这些抑制剂靶向耐受性。

[0153] 结合本文公开的方面、实施方案、方法和/或组合物中的任一个，突变型PPX蛋白的至少一个突变可以在对应于选自如下位置的氨基酸位置处：SEQ ID NO:1的52、85、105、111、130、139、143、144、145、147、165、167、170、180、185、192、193、199、206、212、219、220、221、226、228、229、230、237、244、256、257、270、271、272、305、311、316、318、332、343、354、357、359、360、366、393、403、424、426、430、438、440、444、455、457、470、478、483、484、485、487、490、503、508和525。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于选自如下位置的一个或多个氨基酸位置处的突变：SEQ ID NO:9的58、64、74、84、93、97、98、101、119、121、124、139、150151、157、164、170、177、187、188、195、214、215、229、230、271、274、278、283、292、296、307、324、330、396、404、406、410、421、423、434、447、448、449、451、454、465、470和50。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置52的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置85的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置111的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置130的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，在对应于SEQ ID NO:1的位置139的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置143的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置144的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置145的氨基酸位置处的突变1。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置147的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置165的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置180的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突

变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置185的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置192的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置193的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置199的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置206的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置219的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置220的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置226的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置228的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置229的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置230的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置244的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置256的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置270的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置271的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置272的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置305的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置311的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置316的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置318的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置332的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置357的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置359的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置360的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置366的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置393的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置403的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置424的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置426的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置438的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置440的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置444的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置455的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置457的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置470的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置478的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，

突变型PPX蛋白包括对应于位置的氨基酸位置在对应于SEQ ID NO:1的位置483的位置处苯丙氨酸突变为甘氨酸的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置484的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置485的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置487的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置490的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置503的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置508的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置525的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的氨基酸位置58的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置64的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置74的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置84的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置93的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置97的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置98的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置101的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置119的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置121的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置124的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置139的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置150的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置151的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置157的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置164的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置170的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置177的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置187的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置188的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置195的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置214的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置215的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置229的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置230的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置271的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置274的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置278

的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置283的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置292的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置296的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置307的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置324的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置330的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置396的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置404的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置406的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置410的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置421的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置423的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置434的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置447的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置448的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置449的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置451的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置454的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置465的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置470的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置500的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括两个或更多个突变，其至少一个突变在对应于选自如下位置的氨基酸位置处：SEQ ID NO:1的52、85、105、111、130、139、143、144、145、147、165、167、170、180、185、192、193、199、206、212、219、220、221、226、228、229、230、237、244、256、257、270、271、272、305、311、316、318、332、343、354、357、359、360、366、393、403、424、426、430、438、440、444、455、457、470、478、483、484、485、487、490、503、508和525。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括两个或更多个突变，其至少一个突变在对应于选自如下位置的氨基酸位置处：SEQ ID NO:9的58、64、74、84、93、97、98、101、119、121、124、139、150151、157、164、170、177、187、188、195、214、215、229、230、271、274、278、283、292、296、307、324、330、396、404、406、410、421、423、434、447、448、449、451、454、465、470和500。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括三个或更多个突变，其至少一个突变在对应于选自如下位置的氨基酸位置处：SEQ ID NO:1的52、85、105、111、130、139、143、144、145、147、165、167、170、180、185、192、193、199、206、212、219、220、221、226、228、229、230、237、244、256、257、270、271、272、305、311、316、318、332、343、354、357、359、360、366、393、403、424、426、430、438、440、444、455、457、470、478、483、484、485、487、490、503、508和525。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括三个或更多个突变，其至少一个突变在对应于选自如下位置的氨基酸位置处：SEQ ID NO:9的58、64、74、84、93、97、98、101、119、121、124、139、150151、157、

164、170、177、187、188、195、214、215、229、230、271、274、278、283、292、296、307、324、330、396、404、406、410、421、423、434、447、448、449、451、454、465、470和500。

[0154] 结合本文公开的方面、实施方案、方法和/或组合物中的任一个，突变型PPX蛋白的至少一个突变可以在对应于选自如下位置的氨基酸位置处：SEQ ID NO:9的G52、N85、N105、E111、G130、D139、P143、R144、F145、L147、F165、L167、I170、A180、P185、E192、S193、R199、V206、E212、Y219、A220、G221、L226、M228、K229、A230、K237、S244、R256、R257、K270、P271、Q272、S305、E311、T316、T318、S332、S343、A354、L357、K359、L360、A366、L393、L403、L424、Y426、S430、K438、E440、V444、L455、K457、V470、F478、F483、D484、I485、D487、K490、L503、V508和I525。结合本文公开的方面、实施方案、方法和/或组合物中的任一个，突变型PPX蛋白的至少一个突变可以在对应于选自如下位置的氨基酸位置处：SEQ ID NO:9的D58、E64、G74、G84、L93、K97、K98、A101、S119、F121、T124、N139、E150、S151、Q157、V164、D170、C177、H187、L188、N195、P214、I215、K229、K230、C271、D274、F283、A292、S296、C307、N324、D330、S396、A404、R406、K410、L421、A423、C434、D447、S448、V449、D451、D454、Y465、K470和T500。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置G52的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置N85的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置E111的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置G130的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置D139的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置P143的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置R144的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置F145的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置L147的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置F165的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置L167的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置I170的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置A180的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置P185的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置E192的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置S193的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置R199的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置V206的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置E212的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置Y219的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置A220的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置G221的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置L226的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位

置M228的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置K229的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置A230的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置K237的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置S244的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置R256的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置R257的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置K270的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置P271的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置Q272的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置S305的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置E311的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置T316的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置T318的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置S332的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置S343的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置A354的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置L357的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置K359的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置L360的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置A366的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置L393的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置L403的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置L424的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置Y426的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置S430的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置K438的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置E440的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置V444的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置L455的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置K457的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置V470的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置F478的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置F483的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置D484的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置I485的氨基酸位置处的突变。在一些实施方

案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置D487的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置K490的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置L503的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置V508的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置I525的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置D58的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置E64的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置G74的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置G84的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置L93的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置K97的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置K98的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置A101的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置S119的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置F121的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置T124的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置N139的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置E150的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置S151的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置Q157的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置V164的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置D170的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置C177的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置H187的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置L188的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置N195的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置P214的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置I215的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置K229的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置K230的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置C271的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置D274的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置F283的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置A292的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置S296的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位

置C307的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置N324的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置D330的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置S396的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置A404的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置R406的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置K410的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置L421的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置A423的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置C434的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置D447的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置S448的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置V449的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQID NO:9的位置D451的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置D454的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置Y465的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置K470的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置T500的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，PPX蛋白为拟南芥PPX蛋白(例如PPX蛋白可以是土豆PPX蛋白)的种内同源基因并且PPX蛋白可以具有在对应于SEQ ID NO:1的位置52的位置处的N，其中所述N被除N之外的氨基酸取代；在对应于SEQ ID NO:1的位置272的位置处的K，其中所述K被除K之外的氨基酸取代；在对应于SEQ ID NO:1的位置359的位置处的S，其中所述S被除S之外的氨基酸取代；和/或在对应于SEQ ID NO:1的位置525的位置处的S，其中所述S被除S之外的氨基酸取代。在此类实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置N52的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置N85的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置R144的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置F145的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置A180的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置P185的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置A220的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置L226的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置M228的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置S244的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置K272的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置S305的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置S332的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于

SEQ ID NO:1的位置L357的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置S359的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置L393的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置L403的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置L424的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置Y426的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置F478的氨基酸位置处的突变。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置S525的氨基酸位置处的突变。

[0155] 在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括两个或更多个突变，其至少一个突变在对应于选自如下位置的氨基酸位置处：SEQ ID NO:1的G52、N85、R144、F145、A180、P185、A220、L226、M228、S244、Q272、S305、S332、L357、K359、L393、L403、L424、Y426、F478和I525。在一些实施方案中，PPX蛋白为拟南芥PPX蛋白(例如PPX蛋白可以是土豆PPX蛋白)的种内同源基因并且PPX蛋白具有两个或更多个突变且具有如下的一个或多个：(1)在对应于SEQ ID NO:1的位置52的位置处的N，其中所述N被除N之外的氨基酸取代；(2)在对应于SEQ ID NO:1的位置272的位置处的K，其中所述K被除K之外的氨基酸取代；(3)在对应于SEQ ID NO:1的位置359的位置处的S，其中所述S被除S之外的氨基酸取代；和/或(4)在对应于SEQ ID NO:1的位置525的位置处的S，其中所述S被除S之外的氨基酸取代。在此类实施方案中，突变型PPX蛋白包括两个或更多个突变，其至少一个突变在对应于选自如下位置的氨基酸位置处：SEQ ID NO:1的N52、N85、R144、F145、A180、P185、A220、L226、M228、S244、K272、S305、S332、L357、S359、L393、L403、L424、Y426、F478和S525。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括三个或更多个突变，其至少一个突变在对应于选自如下位置的氨基酸位置处：SEQ ID NO:1的G52、N85、R144、F145、A180、P185、A220、L226、M228、S244、Q272、S305、S332、L357、K359、L393、L403、L424、Y426、F478和I525。在一些实施方案中，PPX蛋白为拟南芥PPX蛋白(例如PPX蛋白可以是土豆PPX蛋白)的种内同源基因并且PPX蛋白具有三个或更多个突变且具有如下的一个或多个：(1)在对应于SEQ ID NO:1的位置52的位置处的N，其中所述N被除N之外的氨基酸取代；(2)在对应于SEQ ID NO:1的位置272的位置处的K，其中所述K被除K之外的氨基酸取代；(3)在对应于SEQ ID NO:1的位置359的位置处的S，其中所述S被除S之外的氨基酸取代；和/或(4)在对应于SEQ ID NO:1的位置525的位置处的S，其中所述S被除S之外的氨基酸取代。在此类实施方案中，突变型PPX蛋白包括三个或更多个突变，其至少一个突变在对应于选自如下位置的氨基酸位置处：SEQ ID NO:9的N52、N85、R144、F145、A180、P185、A220、L226、M228、S244、K272、S305、S332、L357、S359、L393、L403、L424、Y426、F478和S525。

[0156] 结合本文公开的方面、实施方案、方法和/或组合物中的任一个，突变型PPX蛋白可包括选自表1所示的突变的一个或多个突变。

[0157] 表1：拟南芥PPX蛋白中的氨基酸突变。

[0158]

G52K	F145Y	A220	M228L	S332C	L393S	Y426C	Y426R
N85D	A180T	A220L	S244G	L357I	L393V	Y426F	Y426T
R144C	P185H	A220T	S244T	K359R	L403R	Y426H	Y426V

R144H	P185R	A220V	Q272F	K359T	L403S	Y426I	F478S
F145L	A220C	L226M	S305L	L393M	L424S	Y426L	I525T
E111V	L147V	S193T	A230F	P271R	L360K	L455V	I485E
G130N	F165N	R199L	R256H	E311R	A366E	K457V	K490N
D139H	P185Y	V206F	R256S	T318G	K438S	V470S	L503F
P143R	E192D	Y219S	K270E	S322L	E440K	V470Y	V508T
R144L	E192K	K229Q	K270Q	L360D	V444I	D484A	

[0159] 结合本文公开的方面、实施方案、方法和/或组合物中的任一个，突变型PPX基因中的一个或多个突变可以编码具有选自如下的一个或多个突变、两个或更多个突变、或三个或更多个突变的突变型PPX蛋白：在对应于SEQ ID NO:1的位置52的位置处甘氨酸突变为赖氨酸；在对应于SEQ ID NO:1的位置85的位置处天冬酰胺突变为天冬氨酸；在对应于SEQ ID NO:1的位置111的位置处谷氨酸突变为缬氨酸；在对应于SEQ ID NO:1的位置130的位置处甘氨酸突变为天冬酰胺；在对应于SEQ ID NO:1的位置139的位置处天冬氨酸突变为组氨酸；在对应于SEQ ID NO:1的位置143的位置处脯氨酸突变为精氨酸；在对应于SEQ ID NO:1的位置144的位置处精氨酸突变为半胱氨酸；在对应于SEQ ID NO:1的位置144的位置处精氨酸突变为组氨酸；在对应于SEQ ID NO:1的位置144的位置处精氨酸突变为亮氨酸；在对应于SEQ ID NO:1的位置145的位置处苯丙氨酸突变为亮氨酸、在对应于SEQ ID NO:1的位置145的位置处苯丙氨酸突变为酪氨酸；在对应于SEQ ID NO:1的位置147的位置处亮氨酸突变为缬氨酸；在对应于SEQ ID NO:1的位置165的位置处苯丙氨酸突变为天冬酰胺；在对应于SEQ ID NO:1的位置180的位置处丙氨酸突变为苏氨酸；在对应于SEQ ID NO:1的位置185的位置处脯氨酸突变为组氨酸；在对应于SEQ ID NO:1的位置185的位置处脯氨酸突变为精氨酸；在对应于SEQ ID NO:1的位置185的位置处脯氨酸突变为酪氨酸；在对应于SEQ ID NO:1的位置192的位置处谷氨酸突变为天冬氨酸；在对应于SEQ ID NO:1的位置192的位置处谷氨酸突变为赖氨酸；在对应于SEQ ID NO:1的位置193的位置处丝氨酸突变为苏氨酸；在对应于SEQ ID NO:1的位置199的位置处精氨酸突变为亮氨酸；在对应于SEQ ID NO:1的位置206的位置处缬氨酸突变为苯丙氨酸；在对应于SEQ ID NO:1的位置219的位置处酪氨酸突变为丝氨酸；在对应于SEQ ID NO:1的位置220的位置处丙氨酸突变为半胱氨酸；在对应于SEQ ID NO:1的位置220的位置处丙氨酸突变为异亮氨酸；在对应于SEQ ID NO:1的位置220的位置处丙氨酸突变为亮氨酸；在对应于SEQ ID NO:1的位置220的位置处丙氨酸突变为苏氨酸；在对应于SEQ ID NO:1的位置220的位置处丙氨酸突变为缬氨酸；在对应于SEQ ID NO:1的位置226的位置处亮氨酸突变为蛋氨酸；在对应于SEQ ID NO:1的位置228的位置处蛋氨酸突变为亮氨酸；在对应于SEQ ID NO:1的位置229的位置处赖氨酸突变为谷氨酰胺；在对应于SEQ ID NO:1的位置230的位置处丙氨酸突变为苯丙氨酸；在对应于SEQ ID NO:1的位置244的位置处丝氨酸突变为甘氨酸；在对应于SEQ ID NO:1的位置244的位置处丝氨酸突变为苏氨酸；在对应于SEQ ID NO:1的位置256的位置处精氨酸突变为组氨酸；在对应于SEQ ID NO:1的位置256的位置处精氨酸突变为丝氨酸；在对应于位置270的位置处赖氨酸突变为谷氨酸；在对应于位置270的位置处赖氨酸突变为谷氨酰胺；在对应于SEQ ID NO:1的位置271的位置处脯氨酸突变为精氨酸；在对应于SEQ ID NO:1的位置272的位置处谷氨酰胺突变为苯丙氨酸；在对应于SEQ ID NO:1的位置305的位置处丝氨酸突变为亮氨

酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置311的位置处谷氨酸突变为精氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置316的位置处苏氨酸突变为甘氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置318的位置处苏氨酸突变为甘氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置332的位置处丝氨酸突变为半胱氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置332的位置处丝氨酸突变为亮氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置357的位置处亮氨酸突变为异亮氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置359的位置处赖氨酸突变为精氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置359的位置处赖氨酸突变为苏氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置360的位置处亮氨酸突变为赖氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置360的位置处亮氨酸突变为天冬氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置366的位置处丙氨酸突变为谷氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置393的位置处亮氨酸突变为蛋氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置393的位置处亮氨酸突变为丝氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置393的位置处亮氨酸突变为缬氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置403的位置处亮氨酸突变为精氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置403的位置处亮氨酸突变为丝氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置424的位置处亮氨酸突变为丝氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为半胱氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为苯丙氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为组氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为异亮氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为亮氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为精氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为苏氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为缬氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置438的位置处赖氨酸突变为丝氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置440的位置处谷氨酸突变为赖氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置444的位置处缬氨酸突变为异亮氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置455的位置处亮氨酸突变为缬氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置457的位置处赖氨酸突变为缬氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置470的位置处缬氨酸突变为丝氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置470的位置处缬氨酸突变为酪氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置478的位置处苯丙氨酸突变为丝氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置483的位置处苯丙氨酸突变为甘氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置484的位置处天冬氨酸突变为丙氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置485的位置处异亮氨酸突变为谷氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置490的位置处赖氨酸突变为天冬酰胺;在对应于SEQ ID NO:1的位置503的位置处亮氨酸突变为苯丙氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置508的位置处缬氨酸突变为苏氨酸;和在对应于SEQ ID NO:1的位置525的位置处异亮氨酸突变为苏氨酸。

[0160] 结合本文公开的方面、实施方案、方法和/或组合物中的任一个,突变型PPX基因可以编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置52的位置处甘氨酸突变为赖氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中,突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置85的位置处天冬酰胺突变为天冬氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中,突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置111的位置处谷氨酸突变为缬氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中,突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置130的位置处甘氨酸突变为天冬酰胺的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中,突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置139的位置处天冬氨酸突变为组氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中,突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置143的位置处脯氨酸突变为精氨酸的

突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置144的位置处精氨酸突变为半胱氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置144的位置处精氨酸突变为亮氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置144的位置处精氨酸突变为组氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置145的位置处苯丙氨酸突变为亮氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置145的位置处苯丙氨酸突变为酪氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置147的位置处亮氨酸突变为缬氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置165的位置处苯丙氨酸突变为天冬酰胺的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置180的位置处丙氨酸突变为苏氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置185的位置处脯氨酸突变为组氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置185的位置处脯氨酸突变为精氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置185的位置处脯氨酸突变为酪氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置192的位置处谷氨酸突变为天冬氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置192的位置处谷氨酸突变为赖氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置193的位置处丝氨酸突变为苏氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置199的位置处精氨酸突变为亮氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置206的位置处缬氨酸突变为苯丙氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置219的位置处酪氨酸突变为丝氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置220的位置处丙氨酸突变为半胱氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置220的位置处丙氨酸突变为异亮氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置220的位置处丙氨酸突变为亮氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置220的位置处丙氨酸突变为苏氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置220的位置处丙氨酸突变为缬氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置226的位置处亮氨酸突变为蛋氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置228的位置处蛋氨酸突变为亮氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置229的位置处赖氨酸突变为谷氨酰胺的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置230的位置处丙氨酸突变为苯丙氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置244的位置处丝氨酸突变为甘氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变

型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置244的位置处丝氨酸突变为苏氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置256的位置处精氨酸突变为组氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置256的位置处精氨酸突变为丝氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于位置270的位置处赖氨酸突变为谷氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于位置270的位置处赖氨酸突变为谷氨酰胺的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置271的位置处脯氨酸突变为精氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置272的位置处谷氨酰胺突变为苯丙氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置244的位置处丝氨酸突变为苏氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置305的位置处丝氨酸突变为亮氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置311的位置处谷氨酸突变为精氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置316的位置处苏氨酸突变为甘氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置318的位置处苏氨酸突变为甘氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置332的位置处丝氨酸突变为半胱氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置332的位置处丝氨酸突变为亮氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置357的位置处亮氨酸突变为异亮氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置359的位置处赖氨酸突变为精氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置359的位置处赖氨酸突变为苏氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置360的位置处亮氨酸突变为赖氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置360的位置处亮氨酸突变为天冬氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置366的位置处丙氨酸突变为谷氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置393的位置处亮氨酸突变为蛋氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置393的位置处亮氨酸突变为丝氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置393的位置处亮氨酸突变为缬氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置403的位置处亮氨酸突变为精氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置403的位置处亮氨酸突变为丝氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置424的位置处亮氨酸突变为丝氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为半胱氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为苯

丙氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为组氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为异亮氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为亮氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为精氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为苏氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为缬氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置438的位置处赖氨酸突变为丝氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置440的位置处谷氨酸突变为赖氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置444的位置处缬氨酸突变为异亮氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置455的位置处亮氨酸突变为缬氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置457的位置处赖氨酸突变为缬氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置470的位置处缬氨酸突变为丝氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置470的位置处缬氨酸突变为酪氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置478的位置处苯丙氨酸突变为丝氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置483的位置处苯丙氨酸突变为甘氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置484的位置处天冬氨酸突变为丙氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置485的位置处异亮氨酸突变为谷氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置490的位置处赖氨酸突变为天冬酰胺的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置503的位置处亮氨酸突变为苯丙氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置508的位置处缬氨酸突变为苏氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置525的位置处异亮氨酸突变为苏氨酸的突变型PPX蛋白。

[0161] 表2：引起赋予PPX抑制剂耐受性的氨基酸变化的拟南芥属质体PPX基因中核苷酸/密码子突变的总结。位置编号是基于对拟南芥属质体PPX基因号At4g01690(SEQ ID NO:1)的编号

[0162]

AA mtn	NA mtn
G52K	GGG → AAA
N85D	AAT → GAT
R144C	AGG → TGC AGG → TGT
R144H	AGG → CAC AGG → CAT
F145L	TTT → CTT
F145Y	TTT → TAT
A180T	GCA → ACA
P185H	CCG → CAC CCG → CAT
P185R	CCG → CGG
A220C	GCT → TGT

AA mtn	NA mtn
A220I	GCT → ATT
A220L	GCT → CTT
A220T	GCT → ACT
A220V	GCT → GTT
L226M	GTG → ATG
M228L	ATG → CTG
S244G	AGC → GGC
S244T	AGC → ACC
Q272F	CAG → TTC CAG → TTT
S305L	TCA → TTA

AA mtn	NA mtn
S332C	TCT → TGT
L357I	CTC → ATC
K359R	AAA → AGA
K359T	AAA → ACT
L393M	TTG → ATG
L393S	TTG → TCG
L393V	TTG → GTG
L403R	TTA → CGA
L403S	TTA → TCA
L424S	TTG → TCG

AA mtn	NA mtn
Y426C	TAC → TGC
Y426F	TAC → TTC
Y426H	TAC → CAC
Y426I	TAC → ATC
Y426L	TAC → TTA TAC → CTC
Y426R	TAC → CGC
Y426T	TAC → ACC
Y426V	TAC → GTC
F478S	TTT → TCT
S525T	ATT → ACT

[0163] *“AA mtn”是指氨基酸突变;“NA mtn”是指核酸突变

[0164] 结合本文公开的方面、实施方案、方法和/或组合物中的任一个,突变型PPX基因可包括GGG→AAA,编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置52的位置处甘氨酸突变为赖氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中,突变型PPX基因包括AAT→GAT核酸突变,编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置85的位置处天冬酰胺突变为天冬氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中,突变型PPX基因包括AGG→TGC或TGT核酸突变,编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置144的位置处精氨酸突变为半胱氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中,突变型PPX基因包括AGG→CAC或CAT核酸突变,编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置144的位置处精氨酸突变为组氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中,突变型PPX基因包括TTT→CTT核酸突变,编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置145的位置处苯丙氨酸突变为亮氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中,突变型PPX基因包括TTT→TAT核酸突变,编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置145的位置处苯丙氨酸突变为酪氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中,突变型PPX基因包括GCA→ACA核酸突变,编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置180的位置处丙氨酸突变为苏氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中,突变型PPX基因包括CCG→CAC或CAT核酸突变,编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置185的位置处脯氨酸突变为精氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中,突变型PPX基因包括CCG→CGT核酸突变,编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置185的位置处脯氨酸突变为组氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中,突变型PPX基因包括CCG→CGG核酸突变,编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置185的位置处脯氨酸突变为精氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中,突变型PPX基因包括GCT→TGT核酸突变,编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置220的位置处丙氨酸突变为半胱氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中,突变型PPX基因包括GCT→ATT核酸突变,编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置220的位置处丙氨酸突变为异亮氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中,突变型PPX基因包括GCT→CTT核酸突变,编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置220的位置处丙氨酸突变为亮氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中,突变型PPX基因包括GCT→ACT核酸突变,编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置220的位置处丙氨酸突变为苏氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中,突变型PPX基因包括GCT→GTT核

酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置220的位置处丙氨酸突变为缬氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括GTG→ATG核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置226的位置处亮氨酸突变为蛋氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括ATG→CTG核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置228的位置处蛋氨酸突变为亮氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括AGC→GGC核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置244的位置处丝氨酸突变为甘氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括AGC→ACC核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置244的位置处丝氨酸突变为苏氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括CAG→TTC或TTT核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置272的位置处谷氨酰胺突变为天冬酰胺的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括TCA→TTA核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置305的位置处丝氨酸突变为亮氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括TCT→TGT核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置332的位置处丝氨酸突变为半胱氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括CTC→ATC核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置357的位置处亮氨酸突变为异亮氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括AAA→AGA核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置359的位置处赖氨酸突变为精氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括AAA→ACT核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置359的位置处赖氨酸突变为苏氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括TTG→ATG核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置393的位置处亮氨酸突变为蛋氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括TTG→TCG核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置393的位置处亮氨酸突变为丝氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括TTG→GTG核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置393的位置处亮氨酸突变为缬氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括TTA→CGA核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置403的位置处亮氨酸突变为精氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括TTA→TCA核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置403的位置处亮氨酸突变为丝氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括TTG→TCG核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置424的位置处亮氨酸突变为丝氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括TAC→TGC核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为半胱氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括TAC→TTC核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为苯丙氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括TAC→CAC核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为组氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括TAC→ATC核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为异亮氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括TAC→TTA或CTC核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为亮氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括TAC→CGC核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为精氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括TAC→

ACC核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为苏氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括TAC→GTC核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为缬氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括TTT→TCT核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置478的位置处苯丙氨酸突变为丝氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括ATT→ACT核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置525的位置处异亮氨酸突变为苏氨酸的突变型PPX蛋白。

[0165] 表3A：引起赋予PPX抑制剂耐受性的氨基酸变化的土豆质体PPX基因中核苷酸/密码子突变的总结。位置编号是基于对拟南芥属质体PPX基因号At4g01690(SEQ ID NO:1)的编号。

[0166]

AA mtn	NA mtn
N52K	AAT → AAA
N85D	AAT → GAT
R144C	CGC → TGC
R144H	CGC → CAC
F145L	TTT → CTT
F145Y	TTT → TAT
A180T	GCC → ACC
P185H	CCT → CAT
P185R	CCT → CGT
A220C	GCC → TGC

AA mtn	NA mtn
A220I	GCC → ATC
A220L	GCC → CTC
A220T	GCC → ACC
A220V	GCC → GTC
L226M	TTG → ATG
M228L	ATG → CTG
S244G	AGC → GGC
S244T	AGC → ACC
K272F	AAA → TTT AAA → TTC
S305L	TCT → CTT

AA mtn	NA mtn
S332C	AGT → TGT
L357I	CTT → ATT
S359R	AGT → AGA
S359T	AGT → ACT
L393M	TTG → ATG
L393S	TTG → TCG
L393V	TTG → GTG
L403R	CTA → CGA
L403S	CTA → TCA
L424S	TTG → TCG

AA mtn	NA mtn
Y426C	TAC → TGC
Y426F	TAC → TTC
Y426H	TAC → CAC
Y426I	TAC → ATC
Y426L	TAC → TTA TAC → CTC
Y426R	TAC → CGC
Y426T	TAC → ACC
Y426V	TAC → GTC
F478S	TTT → TCT
S525T	TCT → ACT

[0167] *“AA mtn”是指氨基酸突变；“NA mtn”是指核酸突变

[0168] 在一些实施方案中，结合本文公开的方面、实施方案、方法和/或组合物中的任一个，突变型PPX基因中的一个或多个突变可以编码具有选自如下的一个或多个突变、两个或更多个突变、或三个或更多个突变的突变型PPX蛋白：在对应于SEQ ID NO:1的位置52的位置处天冬酰胺突变为赖氨酸；在对应于SEQ ID NO:1的位置85的位置处天冬酰胺突变为天冬氨酸；在对应于SEQ ID NO:1的位置144的位置处精氨酸突变为半胱氨酸；在对应于SEQ ID NO:1的位置144的位置处精氨酸突变为组氨酸；在对应于SEQ ID NO:1的位置145的位置处苯丙氨酸突变为亮氨酸、在对应于SEQ ID NO:1的位置145的位置处苯丙氨酸突变为酪氨酸；在对应于SEQ ID NO:1的位置180的位置处丙氨酸突变为苏氨酸；在对应于SEQ ID NO:1的位置185的位置处脯氨酸突变为组氨酸；在对应于SEQ ID NO:1的位置185的位置处脯氨酸突变为精氨酸；在对应于SEQ ID NO:1的位置220的位置处丙氨酸突变为半胱氨酸；在对应于SEQ ID NO:1的位置220的位置处丙氨酸突变为异亮氨酸；在对应于SEQ ID NO:1的位置220的位置处丙氨酸突变为亮氨酸；在对应于SEQ ID NO:1的位置220的位置处丙氨酸突变为苏氨酸；在对应于SEQ ID NO:1的位置220的位置处丙氨酸突变为缬氨酸；在对应于SEQ ID NO:1的位置226的位置处亮氨酸突变为蛋氨酸；在对应于SEQ ID NO:1的位置228的位置处蛋氨酸突变为亮氨酸；在对应于SEQ ID NO:1的位置244的位置处丝氨酸突变为甘氨酸；在对应于SEQ ID NO:1的位置244的位置处丝氨酸突变为苏氨酸；在对应于SEQ ID NO:1的位置272的位置处赖氨酸突变为苯丙氨酸；在对应于SEQ ID NO:1的位置305的位置处丝氨酸突变为亮氨酸；在对应于SEQ ID NO:1的位置332的位置处丝氨酸突变为半胱氨酸；在对应于SEQ ID NO:1的位置357的位置处亮氨酸突变为异亮氨酸；在对应于SEQ ID NO:1的位

置359的位置处丝氨酸突变为精氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置359的位置处丝氨酸突变为苏氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置393的位置处亮氨酸突变为蛋氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置393的位置处亮氨酸突变为丝氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置393的位置处亮氨酸突变为缬氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置403的位置处亮氨酸突变为精氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置403的位置处亮氨酸突变为丝氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置424的位置处亮氨酸突变为丝氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为半胱氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为苯丙氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为组氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为异亮氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为亮氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为精氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为苏氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为缬氨酸;在对应于SEQ ID NO:1的位置478的位置处苯丙氨酸突变为丝氨酸;和在对应于SEQ ID NO:1的位置525的位置处异亮氨酸突变为苏氨酸。

[0169] 在一些实施方案中,结合本文公开的方面、实施方案、方法和/或组合物中的任一个,突变型PPX基因可以编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置52的位置处天冬酰胺突变为赖氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中,突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ IDNO:1的位置85的位置处天冬酰胺突变为天冬氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中,突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ IDNO:1的位置144的位置处精氨酸突变为半胱氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中,突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置144的位置处精氨酸突变为组氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中,突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置145的位置处苯丙氨酸突变为亮氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中,突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置145的位置处苯丙氨酸突变为酪氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中,突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置180的位置处丙氨酸突变为苏氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中,突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置185的位置处脯氨酸突变为组氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中,突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置185的位置处脯氨酸突变为精氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中,突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置220的位置处丙氨酸突变为半胱氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中,突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置220的位置处丙氨酸突变为异亮氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中,突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置220的位置处丙氨酸突变为亮氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中,突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置220的位置处丙氨酸突变为苏氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中,突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置220的位置处丙氨酸突变为缬氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中,突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置226的位置处亮氨酸突变为蛋氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中,突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置228的位置处蛋氨酸突变为亮氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中,突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置244的位置处丝氨酸突变为甘氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中,突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置244

的位置处丝氨酸突变为苏氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置272的位置处赖氨酸突变为苯丙氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置244的位置处丝氨酸突变为苏氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置305的位置处丝氨酸突变为亮氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置332的位置处丝氨酸突变为半胱氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置357的位置处亮氨酸突变为异亮氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置359的位置处丝氨酸突变为精氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置359的位置处丝氨酸突变为苏氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置393的位置处亮氨酸突变为蛋氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置393的位置处亮氨酸突变为丝氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置393的位置处亮氨酸突变为缬氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置403的位置处亮氨酸突变为精氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置403的位置处亮氨酸突变为丝氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置424的位置处亮氨酸突变为丝氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为半胱氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为苯丙氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为组氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为异亮氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为亮氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为精氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为苏氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为缬氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置478的位置处苯丙氨酸突变为丝氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置525的位置处异亮氨酸突变为苏氨酸的突变型PPX蛋白。

[0170] 在一些实施方案中，突变型PPX基因包括AAT→AAA核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:7的位置52的位置处天冬酰胺突变为赖氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括AAT→GAT核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:7的位置85的位置处天冬酰胺突变为天冬氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括CGC→TGC核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:7的位置144的位置处精氨酸突变为半胱

氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括CGC→CAC核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:7的位置144的位置处精氨酸突变为组氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括TTT→CTT核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:7的位置145的位置处苯丙氨酸突变为亮氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括TTT→TAT核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:7的位置145的位置处苯丙氨酸突变为酪氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括GCC→ACC核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:7的位置180的位置处丙氨酸突变为苏氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括CCT→CAT核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:7的位置185的位置处脯氨酸突变为精氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括CCT→CGT核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:7的位置185的位置处脯氨酸突变为组氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括GCC→TGC核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:7的位置220的位置处丙氨酸突变为半胱氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括GCC→ATC核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:7的位置220的位置处丙氨酸突变为异亮氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括GCC→CTC核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:7的位置220的位置处丙氨酸突变为亮氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括GCC→ACC核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:7的位置220的位置处丙氨酸突变为苏氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括GCC→GTC核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:7的位置220的位置处丙氨酸突变为缬氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括TTG→ATG核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:7的位置226的位置处亮氨酸突变为蛋氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括ATG→CTG核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:7的位置228的位置处蛋氨酸突变为亮氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括AGC→GGC核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:7的位置244的位置处丝氨酸突变为甘氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括AGC→ACC核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:7的位置244的位置处丝氨酸突变为苏氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括AAA→AAT核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:7的位置272的位置处赖氨酸突变为苯丙氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括TCT→CTT核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:7的位置305的位置处丝氨酸突变为亮氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括AGT→TGT核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:7的位置332的位置处丝氨酸突变为半胱氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括CTT→ATT核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:7的位置357的位置处亮氨酸突变为异亮氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括AGT→AGA核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:7的位置359的位置处丝氨酸突变为精氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括AGT→ACT核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:7的位置359的位置处丝氨酸突变为苏氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括TTG→ATG核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:7的位置393的位置处亮氨酸突变为蛋氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括TTG→TCG核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:7的位置393的位置处亮氨酸突变为丝氨

酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括TTG→GTG核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:7的位置393的位置处亮氨酸突变为缬氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括CTA→CGA核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:7的位置403的位置处亮氨酸突变为精氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括CTA→TCA核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:7的位置403的位置处亮氨酸突变为丝氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括TTG→TCG核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:7的位置424的位置处亮氨酸突变为丝氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括TAC→TGC核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:7的位置426的位置处酪氨酸突变为半胱氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括TAC→AAC核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:7的位置426的位置处酪氨酸突变为苯丙氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括TAC→CAC核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:7的位置426的位置处酪氨酸突变为组氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括TAC→ATC核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:7的位置426的位置处酪氨酸突变为异亮氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括TAC→TTC核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:7的位置426的位置处酪氨酸突变为亮氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括TAC→CGC核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:7的位置426的位置处酪氨酸突变为精氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括TAC→ACC核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:7的位置426的位置处酪氨酸突变为苏氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括TAC→GTC核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:7的位置426的位置处酪氨酸突变为缬氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括TTT→TCT核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:7的位置478的位置处苯丙氨酸突变为丝氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括TCT→ACT核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:7的位置525的位置处异亮氨酸突变为苏氨酸的突变型PPX蛋白。

[0171] 表3B：引起赋予PPX抑制剂耐受性的氨基酸变化的土豆线粒体PPX基因中核苷酸/密码子突变的总结。位置编号是基于对马铃薯线粒体PPX基因号AJ225108(SEQ ID NO:9)的编号。

[0172]

AA mtn	NA mtn
D58N	GAT -> AAT
E64V	GAA -> GTA
G74C	GGT -> TGT
G84N	GGA -> GAT
R98C	CGC -> CAC
R98H	CGC -> TGC
R98L	CGC -> CTC
N139Y	CCT -> TAT
E150D	GAA -> GAT
E150K	GAA -> AAA
T508S	ACC -> AGC

AA mtn	NA mtn
S151T	AGT -> ACT
Q157L	CAG -> CTG
V164F	GTT -> TTT
D170E	GAT -> GAA
H187Q	AAG -> CAG
L188F	CTT -> TTT
N195K	AAT -> AAA
P214H	CCT -> CAT
P214S	CCT -> TCT
K229E	AAG -> GAG

AA mtn	NA mtn
K229Q	AAG -> CAG
K230R	AAG -> AGG
F283G	GAC -> GGC
A292G	GCA -> GGA
S296L	TCA -> TTA
C307S	TGT -> AGT
N324D	AAT -> GAT
N324K	AAT -> AAA
D330E	GAT -> GAA
A404S	GCC -> TCC

AA mtn	NA mtn
R406K	AGG -> AAG
K410I	AAA -> ATA
A433V	GCT -> GTT
C434S	TGC -> AGC
C434Y	TGC -> TAC
S448A	TCA -> GCA
D451G	GAT -> GGT
D454N	GAC -> AAC
Y465F	TAT -> TTT
K470T	AAG -> ACG

[0173] *“AA mtn”是指氨基酸突变；“NA mtn”是指核酸突变

[0174] 结合本文公开的方面、实施方案、方法和/或组合物中的任一个，突变型PPX基因可以编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置58的位置处天冬氨酸突变为天冬酰胺的突变型

PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置64的位置处谷氨酸突变为缬氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置74的位置处甘氨酸突变为半胱氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置84的位置处甘氨酸突变为天冬酰胺的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置93的位置处亮氨酸突变为组氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置97的位置处赖氨酸突变为精氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置98的位置处精氨酸突变为半胱氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置98的位置处精氨酸突变为组氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置98的位置处精氨酸突变为亮氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置101的位置处丙氨酸突变为缬氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置119的位置处丝氨酸突变为天冬酰胺的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置121的位置处苯丙氨酸突变为亮氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置124的位置处苏氨酸突变为异亮氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置139的位置处天冬酰胺突变为酪氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置150的位置处谷氨酸突变为天冬氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置150的位置处谷氨酸突变为赖氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置151的位置处丝氨酸突变为苏氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置157的位置处谷氨酰胺突变为亮氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置164的位置处缬氨酸突变为苯丙氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置164的位置处缬氨酸突变为丙氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置170的位置处天冬氨酸突变为谷氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置177的位置处半胱氨酸突变为丝氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置187的位置处组氨酸突变为谷氨酰胺的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置188的位置处亮氨酸突变为苯丙氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置195的位置处天冬酰胺突变为赖氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置214的位置处脯氨酸突变为组氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置214的位置处脯氨酸突变为丝氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置215的位置处异亮氨酸突变为组氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在

对应于SEQ ID NO:9的位置215的位置处异亮氨酸突变为丝氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置229的位置处赖氨酸突变为谷氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置229的位置处赖氨酸突变为谷氨酰胺的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置230的位置处赖氨酸突变为精氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置271的位置处半胱氨酸突变为精氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置274的位置处天冬氨酸突变为甘氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置278的位置处天冬氨酸突变为甘氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置283的位置处苯丙氨酸突变为甘氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置292的位置处丙氨酸突变为甘氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置296的位置处丝氨酸突变为亮氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置307的位置处半胱氨酸突变为丝氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置324的位置处天冬酰胺突变为天冬氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置324的位置处天冬酰胺突变为赖氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置330的位置处天冬氨酸突变为谷氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置396的位置处丝氨酸突变为亮氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置404的位置处丙氨酸突变为丝氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置406的位置处精氨酸突变为赖氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置410的位置处赖氨酸突变为异亮氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置421的位置处亮氨酸突变为缬氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置423的位置处丙氨酸突变为缬氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置434的位置处半胱氨酸突变为丝氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置434的位置处半胱氨酸突变为酪氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置447的位置处天冬氨酸突变为甘氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置448的位置处丝氨酸突变为丙氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置449的位置处缬氨酸突变为谷氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置451的位置处天冬氨酸突变为甘氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置454的位置处天冬氨酸突变为天冬酰胺的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置465的位置

处酪氨酸突变为苯丙氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置470的位置处赖氨酸突变为苏氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置500的位置处苏氨酸突变为丝氨酸的突变型PPX蛋白。

[0175] 结合本文公开的方面、实施方案、方法和/或组合物中的任一个，突变型PPX基因包括GAT→AAT核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置58的位置处天冬氨酸突变为天冬酰胺的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括GAA→GTA核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置64的位置处谷氨酸突变为缬氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括GGT→TGT核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置74的位置处甘氨酸突变为半胱氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括GGA→GAT核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置84的位置处甘氨酸突变为天冬酰胺的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括CGC→TGC核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置98的位置处精氨酸突变为半胱氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括CGC→CAC核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置98的位置处精氨酸突变为组氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括CGC→CTC核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置98的位置处精氨酸突变为亮氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括AAT→TAT核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置139的位置处天冬酰胺突变为酪氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括GAA→GAT核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置150的位置处谷氨酸突变为天冬氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括GAA→AAA核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置150的位置处谷氨酸突变为赖氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括AGT→ACT核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置151的位置处丝氨酸突变为苏氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括CAG→CTG核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置157的位置处谷氨酰胺突变为亮氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括GTT→TTT核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置164的位置处缬氨酸突变为苯丙氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括GAT→GAA核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置170的位置处天冬氨酸突变为谷氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括CAC→CAG核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置187的位置处组氨酸突变为谷氨酰胺的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括CTT→TTT核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置188的位置处亮氨酸突变为苯丙氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括AAT→AAA核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置195的位置处天冬酰胺突变为赖氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括CCT→CAT核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置214的位置处脯氨酸突变为组氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括CCT→TCT核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置214的位置处脯氨酸突变为丝氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括AAG→GAG核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置229的位置处赖氨酸突变为谷氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因

包括AAG→CAG核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置229的位置处赖氨酸突变为谷氨酰胺的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括AAG→AGG核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置230的位置处赖氨酸突变为精氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括GAC→GGC核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置283的位置处天冬氨酸突变为甘氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括TCA→TTA核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置296的位置处丝氨酸突变为亮氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括TGT→AGT核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置307的位置处半胱氨酸突变为丝氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括AAT→GAT核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置324的位置处天冬酰胺突变为天冬氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括AAT→AAA核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置324的位置处天冬酰胺突变为赖氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括GAT→GAA核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置330的位置处天冬氨酸突变为谷氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括GCC→TCC核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置404的位置处丙氨酸突变为丝氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括AGG→AAG核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置406的位置处精氨酸突变为赖氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括AAA→ATA核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置410的位置处赖氨酸突变为异亮氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括XXX GCT→GTT核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置423的位置处丙氨酸突变为缬氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括TGC→AGC核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置434的位置处半胱氨酸突变为丝氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括TGC→TAC核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置434的位置处半胱氨酸突变为酪氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括TCA→GCA核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置448的位置处丝氨酸突变为丙氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括GAT→GGT核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置451的位置处天冬氨酸突变为甘氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括GAC→AAC核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置454的位置处天冬氨酸突变为天冬酰胺的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括TAT→TTT核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置465的位置处酪氨酸突变为苯丙氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括AAG→ACG核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置470的位置处赖氨酸突变为苏氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括ACC_>AGC核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:9的位置500的位置处苏氨酸突变为丝氨酸的突变型PPX蛋白。

[0176] 结合本文公开的方面、实施方案、方法和/或组合物中的任一个，突变型PPX基因可包括GGG→AAA，编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置52的位置处甘氨酸突变为赖氨酸的突变型PPX蛋白。在一些实施方案中，突变型PPX基因包括AAT→GAT核酸突变，编码包括在对应于SEQ ID NO:1的位置85的位置处天冬酰胺突变为天冬氨酸的突变型PPX蛋白。

[0177] 在一些实施方案中，结合本文公开的方面、实施方案、方法和/或组合物中的任一

个，突变型PPX基因可包括PPX基因中突变的组合，例如，两个或更多个、三个或更多个、四个或更多个、五个或更多个或者六个或更多个突变。在某些实施方案中，突变的组合选自表4a和4b示出的突变的组合。

[0178] 表4A：氨基酸突变的组合(三个分组列中的每列的每一行表示突变的组合)。位置编号是基于对拟南芥属质体PPX基因号At4g01690(SEQ ID NO:1)的编号

[0179]

R144C	A220T	
R144H	S332C	
R144C	Q272F	
R144C	K272F	
G52K	R144H	S244T
N52K	R144H	S244T
N85D	A220T	
R144H	S244T	
R144C	L226M	
N85D	L226M	
N85D	F145Y	
R144C	M228L	
N85D	A180T	
N85D	R144C	
N85D	Q272F	
N85D	K272F	
N85D	M228L	
A180T	Y426F	
F145L	Y426H	
S244G	Y426F	
F145L	L403R	
F145Y	L424S	
R144C	L424S	
L226M	Y426H	
A220T	L424S	
F145Y	Y426F	
R144C	L393V	
S244G	I525T	
A180T	I525T	
S244G	L393V	
L226M	L403R	

L226M	L424S
L226M	Y426F
A220T	Y426F
A220T	Y426H
R144C	Y426F
N85D	Y426H
R144C	Y426H
S244T	Y426H
S244G	Y426H
A180T	Y426H
L226M	Y426H
F145L	Y426H
A220T	Y426H
N85D	Y426H
F145L	L393V
L226M	L424S
L226M	Y426F
A220T	L393V
A220T	Y426F
R144C	Y426F
N85D	I525T
L226M	I525T
F145Y	I525T
F145L	I525T
R144C	I525T
R144C	Y426H
A180T	Y426H
A220T	Y426H
L226M	Y426H
S244T	L393V
F145Y	Y426H

F145L	L424S
A220T	Y426H
F145Y	L393V
S244T	Y426F
F145Y	L424S
A220T	L403R
L226M	Y426F
N85D	Y426H
L226M	L424S
F145Y	L403R
S244G	L393V
A180T	Y426H
R144C	Y426H
N85D	S525T
L226M	S525T
F145Y	S525T
F145L	S525T
S244G	S525T
A180T	S525T
R144C	S525T

[0180] 结合本文公开的方面、实施方案、方法和/或组合物中的任一个，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置144的位置处精氨酸突变为半胱氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置220的位置处丙氨酸突变为苏氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置144的位置处精氨酸突变为组氨酸和在对应于SEQ ID NO:9的位置332的位置处丝氨酸突变为半胱氨酸。而在其他实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置144的位置处精氨酸突变为半胱氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置272的位置处谷氨酰胺突变为苯丙氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置52的位置处甘氨酸突变为赖氨酸、在对应于SEQ ID NO:1的位置144的位置处精氨酸突变为组氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置244的位置处丝氨酸突变为苏氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置85的位置处天冬酰胺突变为天冬氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置220的位置处丙氨酸突变为苏氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置144的位置处精氨酸突变为组氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置244的位置处丝氨酸突变为苏氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置144的位置处精氨酸突变为半胱氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置226的位置处亮氨酸突变为蛋氨酸。在一些实施方案

中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置85的位置处天冬酰胺突变为天冬氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置226的位置处亮氨酸突变为蛋氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置85的位置处天冬酰胺突变为天冬氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置145的位置处苯丙氨酸突变为酪氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置144的位置处精氨酸突变为半胱氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置228的位置处蛋氨酸突变为亮氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置85的位置处天冬酰胺突变为天冬氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置180的位置处丙氨酸突变为苏氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置85的位置处天冬酰胺突变为天冬氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置144的位置处精氨酸突变为半胱氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置85的位置处天冬酰胺突变为天冬氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置272的位置处谷氨酰胺突变为苯丙氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置85的位置处天冬酰胺突变为天冬氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置228的位置处蛋氨酸突变为亮氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置180的位置处丙氨酸突变为苏氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为苯丙氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置145的位置处苯丙氨酸突变为亮氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为组氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置244的位置处丝氨酸突变为甘氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为苯丙氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置145的位置处苯丙氨酸突变为亮氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置403的位置处亮氨酸突变为精氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置145的位置处苯丙氨酸突变为酪氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置424的位置处亮氨酸突变为丝氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置144的位置处精氨酸突变为半胱氨酸和在对应于SEQ ID NO:9的位置422的位置处亮氨酸突变为丝氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置226的位置处亮氨酸突变为蛋氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为组氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置220的位置处丙氨酸突变为苏氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置424的位置处亮氨酸突变为丝氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置145的位置处苯丙氨酸突变为酪氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为苯丙氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置144的位置处精氨酸突变为半胱氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置393的位置处亮氨酸突变为缬氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置244的位置处丝氨酸突变为甘氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置393的位置处亮氨酸突变为缬氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置226的位置处亮氨酸突变为蛋氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置403的位置处亮氨酸突变为精氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置226的位置处亮氨酸突变为蛋氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置424的位置处亮氨酸突变为丝氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1

的位置226的位置处亮氨酸突变为蛋氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为苯丙氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置220的位置处丙氨酸突变为苏氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为苯丙氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置220的位置处丙氨酸突变为苏氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为组氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置144的位置处精氨酸突变为半胱氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为苯丙氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置85的位置处天冬酰胺突变为天冬氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为组氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置144的位置处精氨酸突变为半胱氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为组氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置244的位置处丝氨酸突变为苏氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为组氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置244的位置处丝氨酸突变为甘氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为组氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置180的位置处丙氨酸突变为苏氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为组氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置226的位置处亮氨酸突变为蛋氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为组氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置145的位置处苯丙氨酸突变为亮氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为组氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置220的位置处丙氨酸突变为苏氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为组氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置85的位置处天冬酰胺突变为天冬氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为组氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置145的位置处苯丙氨酸突变为亮氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置393的位置处亮氨酸突变为缬氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置226的位置处亮氨酸突变为蛋氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置424的位置处亮氨酸突变为丝氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置226的位置处亮氨酸突变为蛋氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为苯丙氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置220的位置处丙氨酸突变为苏氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置393的位置处亮氨酸突变为缬氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置220的位置处丙氨酸突变为苏氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为苯丙氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置144的位置处精氨酸突变为半胱氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为苯丙氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置144的位置处精氨酸突变为半胱氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为组氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置180的位置处丙氨酸突变为苏氨酸和在对应于SEQ ID

NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为组氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置220的位置处丙氨酸突变为苏氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为组氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置226的位置处亮氨酸突变为蛋氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为组氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置244的位置处丝氨酸突变为苏氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置393的位置处亮氨酸突变为缬氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置145的位置处苯丙氨酸突变为酪氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为组氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置144的位置处精氨酸突变为半胱氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置525的位置处异亮氨酸突变为苏氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置145的位置处苯丙氨酸突变为亮氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置424的位置处亮氨酸突变为丝氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置220的位置处丙氨酸突变为苏氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为组氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置145的位置处苯丙氨酸突变为酪氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置393的位置处亮氨酸突变为缬氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置244的位置处丝氨酸突变为苏氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为苯丙氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置145的位置处苯丙氨酸突变为酪氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置424的位置处亮氨酸突变为丝氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置220的位置处丙氨酸突变为苏氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置403的位置处亮氨酸突变为精氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置226的位置处亮氨酸突变为蛋氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为苯丙氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置85的位置处天冬酰胺突变为天冬氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为组氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置226的位置处亮氨酸突变为蛋氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置424的位置处亮氨酸突变为丝氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置145的位置处苯丙氨酸突变为酪氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置403的位置处亮氨酸突变为精氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置244的位置处丝氨酸突变为甘氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置393的位置处亮氨酸突变为缬氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置180的位置处丙氨酸突变为苏氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为组氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置144的位置处精氨酸突变为半胱氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为组氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置244的位置处丝氨酸突变为甘氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置525的位置处异亮氨酸突变为苏氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置180的位置处丙氨酸突变为苏氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置525的位置处异亮氨酸突变为苏氨酸。在一些实施方案中，

突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置145的位置处苯丙氨酸突变为亮氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置525的位置处异亮氨酸突变为苏氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置145的位置处苯丙氨酸突变为酪氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置525的位置处异亮氨酸突变为苏氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置85的位置处天冬酰胺突变为天冬氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置525的位置处异亮氨酸突变为苏氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置226的位置处亮氨酸突变为蛋氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置525的位置处异亮氨酸突变为苏氨酸。

[0181] 结合本文公开的方面、实施方案、方法和/或组合物中的任一个，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置144的位置处精氨酸突变为半胱氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置220的位置处丙氨酸突变为苏氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置144的位置处精氨酸突变为组氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置332的位置处丝氨酸突变为半胱氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:7的位置144的位置处精氨酸突变为半胱氨酸和在对应于SEQ ID NO:7的位置272的位置处赖氨酸突变为苯丙氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:7的位置52的位置处天冬酰胺突变为赖氨酸、在对应于SEQ ID NO:7的位置144的位置处精氨酸突变为组氨酸和在对应于SEQ ID NO:7的位置244的位置处丝氨酸突变为苏氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置85的位置处天冬酰胺突变为天冬氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置220的位置处丙氨酸突变为苏氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置144的位置处精氨酸突变为组氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置244的位置处丝氨酸突变为苏氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置144的位置处精氨酸突变为半胱氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置226的位置处亮氨酸突变为蛋氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置85的位置处天冬酰胺突变为天冬氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置226的位置处亮氨酸突变为蛋氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置85的位置处天冬酰胺突变为天冬氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置145的位置处苯丙氨酸突变为酪氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置144的位置处精氨酸突变为半胱氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置228的位置处蛋氨酸突变为亮氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置85的位置处天冬酰胺突变为天冬氨酸和在对应于SEQID NO:1的位置180的位置处丙氨酸突变为苏氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置85的位置处天冬酰胺突变为天冬氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置144的位置处精氨酸突变为半胱氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置85的位置处天冬酰胺突变为天冬氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置272的位置处赖氨酸突变为苯丙氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置85的位置处天冬酰胺突变为天冬氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置228的位置处蛋氨酸突变为亮氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置180的位置处丙氨酸突变为苏氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为苯丙氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID

NO:1的位置145的位置处苯丙氨酸突变为亮氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为组氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置244的位置处丝氨酸突变为甘氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为苯丙氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置145的位置处苯丙氨酸突变为亮氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置403的位置处亮氨酸突变为精氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置145的位置处苯丙氨酸突变为酪氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置424的位置处亮氨酸突变为丝氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置144的位置处精氨酸突变为半胱氨酸和在对应于SEQ ID NO:9的位置422的位置处亮氨酸突变为丝氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置226的位置处亮氨酸突变为蛋氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为组氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置220的位置处丙氨酸突变为苏氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置424的位置处亮氨酸突变为丝氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置145的位置处苯丙氨酸突变为酪氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为苯丙氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置144的位置处精氨酸突变为半胱氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置393的位置处亮氨酸突变为缬氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置244的位置处丝氨酸突变为甘氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置393的位置处亮氨酸突变为缬氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置226的位置处亮氨酸突变为蛋氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置403的位置处亮氨酸突变为精氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置226的位置处亮氨酸突变为蛋氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置424的位置处亮氨酸突变为丝氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置226的位置处亮氨酸突变为蛋氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为苯丙氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置220的位置处丙氨酸突变为苏氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为苯丙氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置220的位置处丙氨酸突变为苏氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为组氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置144的位置处精氨酸突变为半胱氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为苯丙氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置85的位置处天冬酰胺突变为天冬氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为组氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置144的位置处精氨酸突变为半胱氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为组氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置244的位置处丝氨酸突变为苏氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为组氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置244的位置处丝氨酸突变为甘氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为组氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置180的位置处丙氨酸突变为苏氨酸和在对应于SEQ ID

NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为组氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置226的位置处亮氨酸突变为蛋氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为组氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置145的位置处苯丙氨酸突变为亮氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为组氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置220的位置处丙氨酸突变为苏氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为组氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置85的位置处天冬酰胺突变为天冬氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为组氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置145的位置处苯丙氨酸突变为亮氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置393的位置处亮氨酸突变为缬氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置226的位置处亮氨酸突变为蛋氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置424的位置处亮氨酸突变为丝氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置226的位置处亮氨酸突变为蛋氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为苯丙氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置220的位置处丙氨酸突变为苏氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置393的位置处亮氨酸突变为缬氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置220的位置处丙氨酸突变为苏氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为苯丙氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置144的位置处精氨酸突变为半胱氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为苯丙氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置144的位置处精氨酸突变为半胱氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为组氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置180的位置处丙氨酸突变为苏氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为组氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置220的位置处丙氨酸突变为苏氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为组氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置226的位置处亮氨酸突变为蛋氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为组氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置244的位置处丝氨酸突变为苏氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置393的位置处亮氨酸突变为缬氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置145的位置处苯丙氨酸突变为酪氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为组氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:7的位置144的位置处精氨酸突变为半胱氨酸和在对应于SEQ ID NO:7的位置525的位置处异亮氨酸突变为苏氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置145的位置处苯丙氨酸突变为亮氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置424的位置处亮氨酸突变为丝氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置220的位置处丙氨酸突变为苏氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为组氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置145的位置处苯丙氨酸突变为酪氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置393的位置处亮氨酸突变为缬氨酸。在一些实施方案

中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置244的位置处丝氨酸突变为苏氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为苯丙氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置145的位置处苯丙氨酸突变为酪氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置424的位置处亮氨酸突变为丝氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置220的位置处丙氨酸突变为苏氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置403的位置处亮氨酸突变为精氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置226的位置处亮氨酸突变为蛋氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为苯丙氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置85的位置处天冬酰胺突变为天冬氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为组氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置226的位置处亮氨酸突变为蛋氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置424的位置处亮氨酸突变为丝氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置145的位置处苯丙氨酸突变为酪氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置403的位置处亮氨酸突变为精氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置244的位置处丝氨酸突变为甘氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置393的位置处亮氨酸突变为缬氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置180的位置处丙氨酸突变为苏氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为组氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置144的位置处精氨酸突变为半胱氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置426的位置处酪氨酸突变为组氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:1的位置244的位置处丝氨酸突变为甘氨酸和在对应于SEQ ID NO:1的位置525的位置处异亮氨酸突变为苏氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:7的位置244的位置处丝氨酸突变为甘氨酸和在对应于SEQ ID NO:7的位置525的位置处异亮氨酸突变为苏氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:7的位置180的位置处丙氨酸突变为苏氨酸和在对应于SEQ ID NO:7的位置525的位置处异亮氨酸突变为苏氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:7的位置145的位置处苯丙氨酸突变为亮氨酸和在对应于SEQ ID NO:7的位置525的位置处异亮氨酸突变为苏氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:7的位置145的位置处苯丙氨酸突变为酪氨酸和在对应于SEQ ID NO:7的位置525的位置处异亮氨酸突变为苏氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:7的位置85的位置处天冬酰胺突变为天冬氨酸和在对应于SEQ ID NO:7的位置525的位置处异亮氨酸突变为苏氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:7的位置226的位置处亮氨酸突变为蛋氨酸和在对应于SEQ ID NO:7的位置525的位置处异亮氨酸突变为苏氨酸。

[0182] 表4B：氨基酸突变的组合(两个分组列中的每列的每一行表示突变的组合)。位置编号是基于对马铃薯线粒体PPX基因号AJ225108(SEQ ID NO:9)的编号。

[0183]

G74C	R98C			
L93H	V164A			
R98L	P214H			
R98L	T124I	L188F	K229Q	
R98L	T124I	P214H	K229Q	
R98L	T124I	K229Q		
S119N	N139Y			
F121L	E150D			
S151T	K229E	K230R		
Q157L	H187Q			
C271R	D274G			
C307S	A423V			
S396L	K410I			
C434S	T500S			
D447G	A292G			
S448A	N324D			
Y465F	K470T			
R98L	P214H	A243V		
R98L	T124I	L188F	K229Q	A243V
R98L	T124I	P214H	K229Q	A243V
R98L	T124I	K229Q	A423V	
R98L	P214H	C307S		
R98L	T124I	L188F	K229Q	C307S
R98L	T124I	P214H	K229Q	C307S
R98L	T124I	K229Q	C307S	

R98C	P214H			
R98C	T124I	L188F	K229Q	
R98C	T124I	P214H	K229Q	
R98C	T124I	K229Q		
R98C	P214H	A423V		
R98C	T124I	L188F	K229Q	A423V
R98C	T124I	P214H	K229Q	A423V
R98C	T124I	K229Q	A423V	
R98C	P214H	C307S		
R98C	T124I	L188F	K229Q	C307S
R98C	T124I	P214H	K229Q	C307S
R98C	T124I	K229Q	C307S	
R98H	P214H			
R98H	T124I	L188F	K229Q	
R98H	T124I	P214H	K229Q	
R98H	T124I	K229Q		
R98H	P214H	A423V		
R98H	T124I	L188F	K229Q	A423V
R98H	T124I	P214H	K229Q	A423V
R98H	T124I	K229Q	A423V	
R98H	P214H	C307S		
R98H	T124I	L188F	K229Q	C307S
R98H	T124I	P214H	K229Q	C307S
R98H	T124I	K229Q	C307S	

[0184] 结合本文公开的方面、实施方案、方法和/或组合物中的任一个，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置74的位置处甘氨酸突变为半胱氨酸和在对应于SEQ ID NO:9的位置98的位置处精氨酸突变为半胱氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置93的位置处亮氨酸突变为组氨酸和在对应于SEQ ID NO:9的位置164的位置处缬氨酸突变为丙氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置98的位置处精氨酸突变为亮氨酸和在对应于SEQ ID NO:9的位置214的位置处脯氨酸突变为组氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置98的位置处精氨酸突变为亮氨酸、在对应于SEQ ID NO:9的位置124的位置处苏氨酸突变为异亮氨酸、在对应于SEQ ID NO:9的位置188的位置处亮氨酸突变为苯丙氨酸、和在对应于SEQ ID NO:9的位置229的位置处赖氨酸突变为谷氨酰胺。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置98的位置处精氨酸突变为亮氨酸、在对应于SEQ ID NO:9的位置124的位置处苏氨酸突变为异亮氨酸、在对应于SEQ ID NO:9的位置214的位置处脯氨酸突变为组氨酸、和在对应于SEQ ID NO:9的位置229的位置处赖氨酸突变为谷氨酰胺。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置98的位置处精氨酸突变为亮氨酸、在对应于SEQ ID NO:9的位置124的位置处苏氨酸突变为异亮氨酸、和在对应于SEQ ID NO:9的位置229的位置处赖氨酸突变为谷氨酰胺。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置119的位置处丝氨酸突变为天冬酰胺和在对应于SEQ ID NO:9的位置139的位置处天冬酰胺突变为酪氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置121的位置处苯丙氨酸突变为亮氨酸和在对应于SEQ ID NO:9的位置150的位置处谷氨酸突变为天冬氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置151的位置处丝氨酸突变为苏氨酸、在对应于SEQ ID NO:9的位置229的位置处赖氨酸突变为谷氨酸、和在对应于SEQ ID NO:9的位置230的位置处赖氨酸突变为精氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置157的位置处谷氨酰胺突变为亮氨酸和在对应于SEQ ID NO:9的位置187的位置处组氨

酸突变为谷氨酰胺。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置271的位置处半胱氨酸突变为精氨酸和在对应于SEQ ID NO:9的位置274的位置处天冬氨酸突变为甘氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置307的位置处半胱氨酸突变为丝氨酸和在对应于SEQ ID NO:9的位置423的位置处丙氨酸突变为缬氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置396的位置处丝氨酸突变为亮氨酸和在对应于SEQ ID NO:9的位置410的位置处精氨酸突变为异亮氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置434的位置处半胱氨酸突变为丝氨酸和在对应于SEQ ID NO:9的位置500的位置处苏氨酸突变为丝氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置447的位置处天冬氨酸突变为甘氨酸和在对应于SEQ ID NO:9的位置292的位置处丙氨酸突变为甘氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置448的位置处丝氨酸突变为丙氨酸和在对应于SEQ ID NO:9的位置324的位置处天冬酰胺突变为天冬氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置465的位置处酪氨酸突变为苯丙氨酸和在对应于SEQ ID NO:9的位置470的位置处赖氨酸突变为苏氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置98的位置处精氨酸突变为亮氨酸、在对应于SEQ ID NO:9的位置214的位置处脯氨酸突变为组氨酸、和在对应于SEQ ID NO:9的位置243的位置处丙氨酸突变为缬氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置98的位置处精氨酸突变为亮氨酸、在对应于SEQ ID NO:9的位置124的位置处苏氨酸突变为异亮氨酸、在对应于SEQ ID NO:9的位置188的位置处亮氨酸突变为苯丙氨酸、在对应于SEQ ID NO:9的位置229的位置处赖氨酸突变为谷氨酰胺和在对应于SEQ ID NO:9的位置243的位置处丙氨酸突变为缬氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置98的位置处精氨酸突变为亮氨酸、在对应于SEQ ID NO:9的位置124的位置处苏氨酸突变为异亮氨酸、在对应于SEQ ID NO:9的位置214的位置处脯氨酸突变为组氨酸、在对应于SEQ ID NO:9的位置229的位置处赖氨酸突变为谷氨酰胺和在对应于SEQ ID NO:9的位置243的位置处丙氨酸突变为缬氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置98的位置处精氨酸突变为亮氨酸、在对应于SEQ ID NO:9的位置124的位置处苏氨酸突变为异亮氨酸、在对应于SEQ ID NO:9的位置229的位置处赖氨酸突变为谷氨酰胺和在对应于SEQ ID NO:9的位置243的位置处丙氨酸突变为缬氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置98的位置处精氨酸突变为亮氨酸、在对应于SEQ ID NO:9的位置214的位置处脯氨酸突变为组氨酸、和在对应于SEQ ID NO:9的位置307的位置处半胱氨酸突变为丝氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置98的位置处精氨酸突变为亮氨酸、在对应于SEQ ID NO:9的位置124的位置处苏氨酸突变为异亮氨酸、在对应于SEQ ID NO:9的位置188的位置处亮氨酸突变为苯丙氨酸、在对应于SEQ ID NO:9的位置229的位置处赖氨酸突变为谷氨酰胺、和在对应于SEQ ID NO:9的位置307的位置处半胱氨酸突变为丝氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置98的位置处精氨酸突变为亮氨酸、在对应于SEQ ID NO:9的位置124的位置处苏氨酸突变为异亮氨酸、在对应于SEQ ID NO:9的位置214的位置处脯氨酸突变为组氨酸、在对应于SEQ ID NO:9的位置229的位置处赖氨酸突变为谷氨酰胺、和在对应于SEQ ID NO:9的位置307的位置处半胱氨酸突变为丝氨酸。在一些实施

方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置98的位置处精氨酸突变为亮氨酸、在对应于SEQ ID NO:9的位置124的位置处苏氨酸突变为异亮氨酸、在对应于SEQ ID NO:9的位置229的位置处赖氨酸突变为谷氨酰胺、和在对应于SEQ ID NO:9的位置307的位置处半胱氨酸突变为丝氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置98的位置处精氨酸突变为半胱氨酸和在对应于SEQ ID NO:9的位置214的位置处脯氨酸突变为组氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置98的位置处精氨酸突变为半胱氨酸；在对应于SEQ ID NO:9的位置124的位置处苏氨酸突变为异亮氨酸；在对应于SEQ ID NO:9的位置188的位置处亮氨酸突变为苯丙氨酸和在对应于SEQ ID NO:9的位置229的位置处赖氨酸突变为谷氨酰胺。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置98的位置处精氨酸突变为半胱氨酸；在对应于SEQ ID NO:9的位置124的位置处苏氨酸突变为异亮氨酸；在对应于SEQ ID NO:9的位置214的位置处脯氨酸突变为组氨酸和在对应于SEQ ID NO:9的位置229的位置处赖氨酸突变为谷氨酰胺。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置98的位置处精氨酸突变为半胱氨酸；在对应于SEQ ID NO:9的位置124的位置处苏氨酸突变为异亮氨酸；和在对应于SEQ ID NO:9的位置229的位置处赖氨酸突变为谷氨酰胺。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置98的位置处精氨酸突变为半胱氨酸；在对应于SEQ ID NO:9的位置214的位置处脯氨酸突变为组氨酸；和在对应于SEQ ID NO:9的位置423的位置处丙氨酸突变为缬氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置98的位置处精氨酸突变为半胱氨酸；在对应于SEQ ID NO:9的位置124的位置处苏氨酸突变为异亮氨酸；在对应于SEQ ID NO:9的位置188的位置处亮氨酸突变为苯丙氨酸；在对应于SEQ ID NO:9的位置229的位置处赖氨酸突变为谷氨酰胺；和在对应于SEQ ID NO:9的位置423的位置处丙氨酸突变为缬氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置98的位置处精氨酸突变为半胱氨酸；在对应于SEQ ID NO:9的位置124的位置处苏氨酸突变为异亮氨酸；在对应于SEQ ID NO:9的位置214的位置处脯氨酸突变为组氨酸；在对应于SEQ ID NO:9的位置229的位置处赖氨酸突变为谷氨酰胺；和在对应于SEQ ID NO:9的位置423的位置处丙氨酸突变为缬氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置98的位置处精氨酸突变为半胱氨酸；在对应于SEQ ID NO:9的位置124的位置处苏氨酸突变为异亮氨酸；在对应于SEQ ID NO:9的位置214的位置处脯氨酸突变为组氨酸；和在对应于SEQ ID NO:9的位置307的位置处半胱氨酸突变为丝氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置98的位置处精氨酸突变为半胱氨酸；在对应于SEQ ID NO:9的位置124的位置处苏氨酸突变为异亮氨酸；在对应于SEQ ID NO:9的位置188的位置处亮氨酸突变为苯丙氨酸；在对应于SEQ ID NO:9的位置229的位置处赖氨酸突变为谷氨酰胺；和在对应于SEQ ID NO:9的位置307的位置处半胱氨酸突变为丝氨酸。在一些实施方案中，突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置98的位置处精氨酸突变为半胱氨酸；在对应于SEQ ID NO:9的位置124的位置处苏氨酸突变为异亮氨酸；在对应于SEQ ID NO:9的位置214的位置处脯氨酸突变为组氨酸；在对应于SEQ ID NO:9的位

置229的位置处赖氨酸突变为谷氨酰胺;和在对应于SEQ ID NO:9的位置307的位置处半胱氨酸突变为丝氨酸。在一些实施方案中,突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置98的位置处精氨酸突变为半胱氨酸;在对应于SEQ ID NO:9的位置124的位置处苏氨酸突变为异亮氨酸;在对应于SEQ ID NO:9的位置229的位置处赖氨酸突变为谷氨酰胺;和在对应于SEQ ID NO:9的位置307的位置处半胱氨酸突变为丝氨酸。在一些实施方案中,突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置98的位置处精氨酸突变为组氨酸和在对应于SEQ ID NO:9的位置214的位置处脯氨酸突变为组氨酸。在一些实施方案中,突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置98的位置处精氨酸突变为组氨酸;在对应于SEQ ID NO:9的位置124的位置处苏氨酸突变为异亮氨酸;在对应于SEQ ID NO:9的位置188的位置处亮氨酸突变为苯丙氨酸和在对应于SEQ ID NO:9的位置229的位置处赖氨酸突变为谷氨酰胺。在一些实施方案中,突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置98的位置处精氨酸突变为组氨酸;在对应于SEQ ID NO:9的位置124的位置处苏氨酸突变为异亮氨酸;在对应于SEQ ID NO:9的位置214的位置处脯氨酸突变为组氨酸和在对应于SEQ ID NO:9的位置229的位置处赖氨酸突变为谷氨酰胺。在一些实施方案中,突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置98的位置处精氨酸突变为组氨酸;在对应于SEQ ID NO:9的位置124的位置处苏氨酸突变为异亮氨酸;和在对应于SEQ ID NO:9的位置229的位置处赖氨酸突变为谷氨酰胺。在一些实施方案中,突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置98的位置处精氨酸突变为组氨酸;在对应于SEQ ID NO:9的位置214的位置处脯氨酸突变为组氨酸;和在对应于SEQ ID NO:9的位置423的位置处丙氨酸突变为缬氨酸。在一些实施方案中,突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置98的位置处精氨酸突变为组氨酸;在对应于SEQ ID NO:9的位置124的位置处苏氨酸突变为异亮氨酸;在对应于SEQ ID NO:9的位置188的位置处亮氨酸突变为苯丙氨酸;在对应于SEQ ID NO:9的位置229的位置处赖氨酸突变为谷氨酰胺;和在对应于SEQ ID NO:9的位置423的位置处丙氨酸突变为缬氨酸。在一些实施方案中,突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置98的位置处精氨酸突变为组氨酸;在对应于SEQ ID NO:9的位置124的位置处苏氨酸突变为异亮氨酸;在对应于SEQ ID NO:9的位置214的位置处脯氨酸突变为组氨酸;在对应于SEQ ID NO:9的位置229的位置处赖氨酸突变为谷氨酰胺;和在对应于SEQ ID NO:9的位置423的位置处丙氨酸突变为缬氨酸。在一些实施方案中,突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置98的位置处精氨酸突变为组氨酸;在对应于SEQ ID NO:9的位置124的位置处苏氨酸突变为异亮氨酸;在对应于SEQ ID NO:9的位置229的位置处赖氨酸突变为谷氨酰胺;和在对应于SEQ ID NO:9的位置423的位置处丙氨酸突变为缬氨酸。在一些实施方案中,突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置98的位置处精氨酸突变为组氨酸;在对应于SEQ ID NO:9的位置214的位置处脯氨酸突变为组氨酸;和在对应于SEQ ID NO:9的位置307的位置处半胱氨酸突变为丝氨酸。在一些实施方案中,突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置98的位置处精氨酸突变为组氨酸;在对应于SEQ ID NO:9的位置124的位置处苏氨酸突变为异亮氨酸;在对应于SEQ ID NO:9的位置188的位置处亮氨酸突变为苯丙氨酸;在对应于SEQ ID NO:9的位置229的位置处赖氨酸突变为谷氨酰胺;和在对应于SEQ ID NO:9的位置307的位置处半胱氨酸突变为丝氨酸。在一些实施方案中,突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置98的位置处精氨酸突变为组氨酸;在对应于SEQ ID NO:9的位置124的位置处苏氨酸突变为异亮氨酸;在对应于

SEQ ID NO:9的位置214的位置处脯氨酸突变为组氨酸;在对应于SEQ ID NO:9的位置229的位置处赖氨酸突变为谷氨酰胺;和在对应于SEQ ID NO:9的位置307的位置处半胱氨酸突变为丝氨酸。在一些实施方案中,突变型PPX蛋白包括在对应于SEQ ID NO:9的位置98的位置处精氨酸突变为组氨酸;在对应于SEQ ID NO:9的位置124的位置处苏氨酸突变为异亮氨酸;在对应于SEQ ID NO:9的位置229的位置处赖氨酸突变为谷氨酰胺;和在对应于SEQ ID NO:9的位置307的位置处半胱氨酸突变为丝氨酸。

[0185] 种内同源基因

[0186] 使用具有对应拟南芥(SEQ ID NO:1)的位置的氨基酸位置的马铃薯质体PPX基因和蛋白(分别参见例如,图8和7)在本文概括地描述PPX基因中的主题突变。组合物和方法还涵盖其他物种的突变体PPX基因和蛋白(种内同源基因)。然而,由于不同物种的PPX基因中的变异,一个物种中变化的氨基酸残基的数目与另一物种不同。但是,本领域技术人员通过序列同源性容易地鉴定相似的位置。例如,表6总结了各种植物PPX编码序列种内同源基因中的同源氨基酸位置并且图33显示来自各种植物的PPX种内同源基因的氨基酸序列比对。因此,这些和其他种内同源基因中的相似位置可被鉴定并发生突变。

[0187] 除草剂

[0188] 本文提供的组合物和方法包括赋予抑制PPX的除草剂抗性的PPX基因和PPX蛋白。在一些实施方案中,抑制PPX的除草剂包括二苯基醚类、苯基吡唑类、N-苯基邻苯二甲酰亚胺类、噻二唑类、噁二唑类、三唑啉酮类、噁唑烷二酮类、嘧啶二酮类的化学品家族。示例性抑制PPX的除草剂活性成分及其各自化学品家族在表5中总结。

[0189] 表5:示例性抑制PPX的除草剂.

[0190]

化学品家族	除草剂活性成分
二苯基醚类	三氟羧草醚-Na
	治草醚
	甲氧除草醚
	乙羧氟草醚
	氟黄胺草醚
	Halosafen
	乳氟禾草灵
	乙氧氟草醚
苯基吡唑类	异丙吡草酯
	吡草醚

[0191]

N-苯基邻苯二甲酰亚胺类	吲哚酮草酯
	丙炔氟草胺
	氟亚胺草酯
噻二唑类	氟噻甲草酯
	噻二唑草胺
噁二唑类	噁草酮
	炔噁草酮
三唑啉酮类	唑啶草酮
	唑酮草酯
	磺酰唑草酮
噁唑烷二酮类	环戊噁草酮
嘧啶二酮类	双苯嘧草酮
	氟丙嘧草酯
	嘧啶肟草醚
其他	双唑草腈
	氟唑草胺

[0192] 在一些实施方案中，抑制PPX的除草剂为三氟羧草醚-Na。在一些实施方案中，抑制PPX的除草剂为治草醚。在一些实施方案中，抑制PPX的除草剂为甲氧除草醚。在一些实施方案中，抑制PPX的除草剂为乙羧氟草醚。在一些实施方案中，抑制PPX的除草剂为氟黄胺草醚。在一些实施方案中，抑制PPX的除草剂为halosafen。在一些实施方案中，抑制PPX的除草剂为乳氟禾草灵。在一些实施方案中，抑制PPX的除草剂为乙氧氟草醚。在一些实施方案中，抑制PPX的除草剂为异丙吡草酯。在一些实施方案中，抑制PPX的除草剂为吡草醚。在一些实施方案中，抑制PPX的除草剂为吲哚酮草酯。在一些实施方案中，抑制PPX的除草剂为丙炔氟草胺。在一些实施方案中，抑制PPX的除草剂为氟亚胺草酯。在一些实施方案中，抑制PPX的

除草剂为氟噻甲草酯。在一些实施方案中，抑制PPX的除草剂为噻二唑草胺。在一些实施方案中，抑制PPX的除草剂为噁草酮。在一些实施方案中，抑制PPX的除草剂为炔噁草酮。在一些实施方案中，抑制PPX的除草剂为唑啶草酮。在一些实施方案中，抑制PPX的除草剂为唑酮草酯。在一些实施方案中，抑制PPX的除草剂为甲磺草胺。在一些实施方案中，抑制PPX的除草剂为环戊噁草酮。在一些实施方案中，抑制PPX的除草剂为双苯嘧草酮。在一些实施方案中，抑制PPX的除草剂为氟丙嘧草酯。在一些实施方案中，抑制PPX的除草剂为嘧啶肟草醚。在一些实施方案中，抑制PPX的除草剂为双唑草腈。在一些实施方案中，抑制PPX的除草剂为氟唑草胺。

[0193] 还提供的是具有PPX基因(例如本文公开的PPX基因)中的一个或多个突变的转基因或非转基因植物或植物细胞。在某些实施方案中，具有PPX基因中的一个或多个突变的植物或植物细胞具有增加的对抑制PPX的除草剂成员的抗性或耐受性。在某些实施方案中，与野生型植物或细胞相比，具有PPX基因中的一个或多个突变的植物或植物细胞可表现出植物、其器官、组织或细胞的基本上正常的生长或发育。在特定方面和实施方案中，提供了具有PPX基因(例如本文公开的PPX基因)中的突变的转基因或非转基因植物，其在某些实施方案中具有增加的对抑制PPX的除草剂化学品家族的一个或多个成员的抗性或耐受性并且与野生型植物或细胞相比，即在一种或多种除草剂例如例如丙炔氟草胺、甲磺草胺或嘧啶肟草醚的存在下可以表现出植物、其器官、组织或细胞的基本上正常的生长或发育，突变型PPX蛋白与野生型PPX蛋白相比具有基本上相同的催化活性。

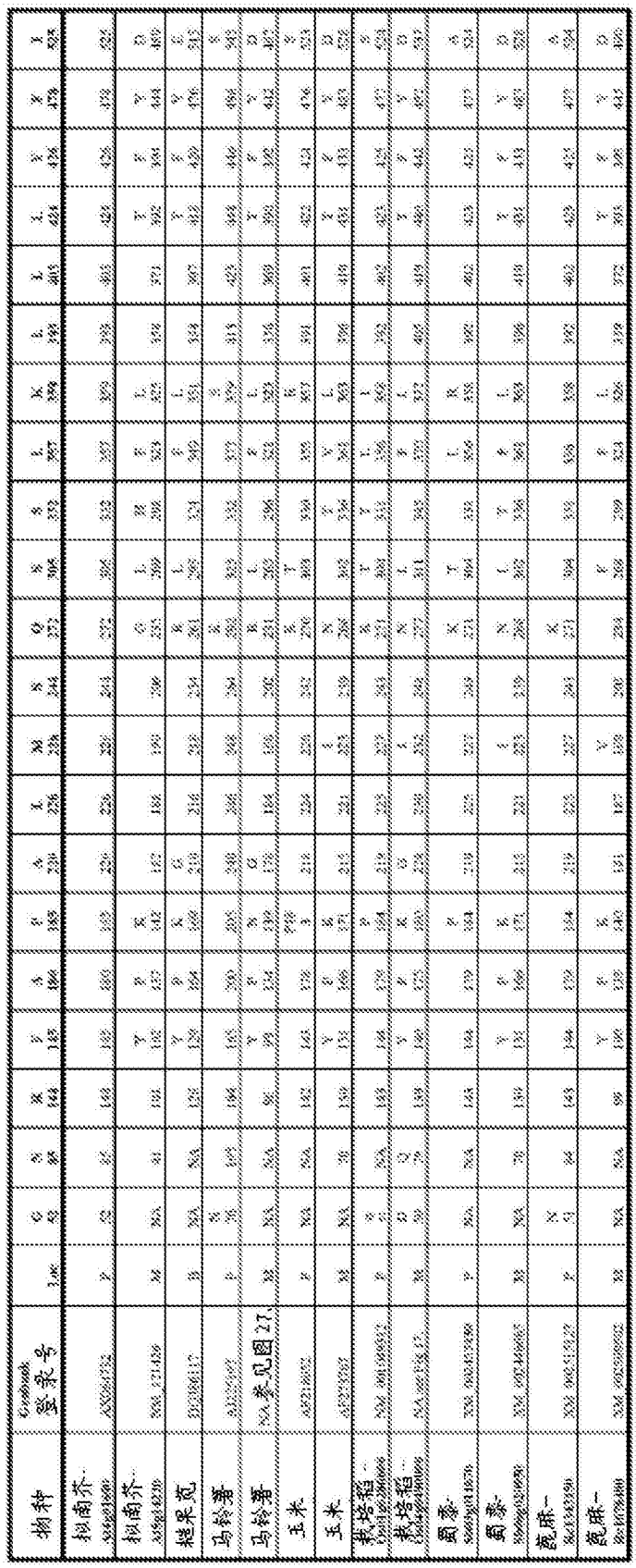
[0194] 进一步提供的是用于产生具有突变型PPX基因(例如具有本文所述的一个或多个突变)的植物的方法；优选植物基本上保持野生型蛋白的催化活性(不论是否存在相关除草剂)。在某些实施方案中，该方法包括将具有PPX基因(例如，例如本文公开的PPX基因)中的一个或多个靶向突变的基因修复寡核碱基引入植物细胞以及鉴定具有突变型PPX基因的细胞、种子或植物。

[0195] 植物物种

[0196] 结合本文公开的方面、实施方案、方法和/或组合物中的任一个，如本文公开的植物可以是双子叶植物、单子叶植物或裸子植物的任意物种，包括生长成树或灌木的任意木本植物物种、任意草本植物物种或产生可食用的水果、种子或蔬菜的任意物种、或产生艳丽或芳香的花朵的任意物种。例如，该植物或植物细胞可以选自来自如下植物的物种：土豆、向日葵、甜菜、玉米、棉花、大豆、小麦、黑麦、燕麦、稻米、油菜、水果、蔬菜、烟草、大麦、高粱、番茄、芒果、桃子、苹果、梨、草莓、香蕉、甜瓜、胡萝卜、莴苣、洋葱、豆类、甘蔗、豌豆、芸豆、白杨、葡萄、柑橘、苜蓿、黑麦、燕麦、草坪草和牧草、亚麻、芸苔、黄瓜、牵牛花、香油、胡椒、茄子、金盏花、荷花、甘蓝、雏菊、康乃馨、矮牵牛花、郁金香、蝴蝶花、百合和产坚果植物，只要它们以前未被明确提及。该植物或植物细胞也可以是选自表6的物种。该植物或植物细胞也可以是选自如下的物种：拟南芥、马铃薯、二倍体栽培种富利亚薯、栽培稻、糙果苋、蜀黍、蓖麻和玉米。

[0197] 表6.各种物种的植物PPX氨基酸序列的同源氨基酸位置的总结。还参见图47和48的其他同源氨基酸位置总结。

[0198]



[0199] †DQ386118中缺失G210引起对PPX抑制剂的耐受性

[0200] P是质体;M是线粒体;B是上述两者

[0201] 可使用本领域常用的任意方法(包括但不限于微运载体(生物射弹输送)、微纤维、

聚乙二醇(PEG)-介导的摄取、电穿孔和微注射)将基因修复寡核碱基引入植物细胞。

[0202] 还提供的是与细胞的培养相关的方法和组合物,所述细胞根据本文公开的方法发生突变以便获得产生种子的植物(此后称为"能孕植物")以及由其此类能孕植物产生种子和其他植物。

[0203] 还提供的是选择性控制田地中的杂草的方法,所述田地包含具有公开的PPX基因改变的植物和杂草,所述方法包括将已使植物对其有抗性的除草剂施加至田地。

[0204] 还提供的是赋予植物对相关除草剂成员的抗性或耐受性的PPX基因中的突变或其中突变型PPX基因与野生型PPX相比基本上具有相同的酶活性。

[0205] 抗除草剂植物的选择和除草剂的施用

[0206] 应用本领域中普遍已知的方法,例如通过在除草剂存在的情况下使植物或植物细胞生长并且测量与除草剂不存在的情况下生长速度相比的生长速度,可以测试植物和植物细胞对除草剂的抗性或耐受性。

[0207] 如本文所用,植物、植物器官、植物组织或植物细胞基本上正常的生长被定义为植物、植物器官、植物组织或植物细胞的生长速度或细胞分裂速度,其是表达野生型PPX蛋白的相应植物、植物器官、植物组织或植物细胞中生长速度或细胞分裂速度的至少35%、至少50%、至少60%或至少75%。

[0208] 如本文所用,植物、植物器官、植物组织或植物细胞基本上正常的发育被定义为,植物、植物器官、植物组织或植物细胞中一个或多个发育事件的发生与表达野生型PPX蛋白的相应植物、植物器官、植物组织或植物细胞中发生的那些基本相同。

[0209] 结合本文公开的方面、实施方案、方法和/或组合物中的任一个,本文提供的植物器官包括但不限于叶、茎、根、叶芽、花芽、分生组织、胚胎、子叶、胚乳、萼片、花瓣、雌蕊、心皮、雄蕊、花粉囊、小孢子、花粉、花粉管、胚珠、子房和果实,或取自它们的部分、切片或圆片。植物组织包括但不限于愈伤组织、基本组织、维管组织、贮藏组织、分生组织、叶组织、芽组织、根组织、菌瘿组织、植物瘤组织和再生组织。植物细胞包括但不限于具有细胞壁的分离细胞、其各种大小的聚集物以及原生质体。

[0210] 当植物接受除草剂并且与类似接受的非耐受类植物提供的剂量/响应曲线比较时提供右移的剂量/响应曲线时,植物对相关除草剂基本上"耐受"。这些剂量/响应曲线具有绘制在X轴上的"剂量"以及绘制在y轴上的"杀死百分比"、"除草效果"等。为产生给定的除草效果,耐受的植物需要的除草剂将比非耐受类植物需要的多。当在农用化学品界为杀死田地中的杂草而通常采用的浓度和比率下接受除草剂时,基本上"抵抗"除草剂的植物显示很少(如果有的话)坏死、裂解、萎黄病或其它损伤。抗除草剂的植物也对除草剂耐受。

[0211] 在一些实施方案中,"增加的对除草剂的抗性"或"增加的对除草剂的耐受性"是指具有如本文公开的突变型PPX基因或蛋白的植物、种子或植物部分对植物除草剂的抗性或耐受性的水平高于所定义的参考水平。所定义的对除草剂的抗性的水平为不具有相应突变的同一物种的植物所展示的抗性的水平。在一些实施方案中,大体上增加的抗性高于所定义的参考水平,例如,高于所定义的参考水平超过或等于20%、50%、75%;或100%。

实施例

[0212] 下面是说明本发明实践方法的实施例。这些实施例不应当被理解为是限制性的。

除非另有指明，否则所有百分比均是按重量计以及所有溶剂混合比例均是按体积计。

[0213] 实施例1：质体和线粒体PPX基因克隆和表征

[0214] 由来自黄褐色伯班克栽培种的cDNA和基因组DNA扩增质体和线粒体PPX基因。质体PPX克隆分成两类(命名为StcPPX1和StcPPX1.1)，可能表示土豆中单个PPX基因的等位基因。在氨基酸编码序列内，这些克隆相差10个多型现象，其中3个导致氨基酸差异，仅有两个在成熟蛋白中发现。一个氨基酸差异在叶绿体转运肽中。在StcPPX1.1克隆之一中，内含子3未被剪接。

[0215] 获得质体PPX的全长无误性基因组克隆。对来自5个独立克隆的约5Kb的基因组序列的分析和StcPPX cDNA测序结果表明经受表征的黄褐色伯班克变种是杂合的，非常少的多型现象存在于两个等位基因。

[0216] 首先，克隆并测序五个全长StmPPX基因组DNA克隆。这五个克隆表示两个等位基因，具有与存在于cDNA中的SNP相同的SNP。克隆较短扩增子的基因组DNA片段并对其测序以测试其他等位基因。克隆线粒体PPX的这种内部扩增子表示有三个等位基因；22个克隆中的6个在内含子之一内具有缺失并且其他16个克隆具有在cDNA克隆中观察到的两个等位基因的平均分布。接下来，对另一12全长StmPPX基因组DNA克隆测序。

[0217] 对黄褐色伯班克土豆中的线粒体PPX基因的完全测序表明存在两个基因，我们称之为StmPPX1和StmPPX2。存在两个StmPPX2等位基因，它们之间的8个SNP得以鉴定。在StmPPX1和StmPPX2.1之间有1个插入、4个缺失和30个SNP，其中在StmPPX1和StmPPX2.2之间有1个插入、4个缺失和29个SNP。其他细节示于表7中。

[0218] 基于最近发布的第一全土豆(二倍体栽培种富利亚薯)基因组的支架结构，利用我们就地安装的数据库，使用基本局部比对搜索工具(Basic Local Alignment Search Tool)(BLAST)比较来自黄褐色伯班克(马铃薯)的质体和线粒体土豆PPX基因的基因序列。发现仅有单个质体和单个线粒体PPX基因。

[0219] 表7.黄褐色伯班克土豆中PPX的线粒体形式之间的等位基因差异

[0220]

StmPPX nt位置	nt 基因1	aa 基因1	nt基因2，等位基因1	aa 基因2，等位基因1	nt 基因2，等位基因2	aa 基因2，等位基因2	StmPPX aa位置	AtcPPX aa位置
296	A(TAC)	Y	A(TAC)	Y	T(TTC)	F	99	145
360	C(AAC)	N	T(AAT)	N	T(AAT)	N	120	166
402	T(CCT)	P	A(CCA)	P	A(CCA)	P	134	180
528	G(ACG)	T	A(ACA)	T	A(ACA)	T	176	218
680	T(GTA)	V	T(GTA)	V	A(GAA)	E	227	269|270
692	A(CAC)	H	G(CGC)	R	G(CGC)	R	231	272

[0221] 实施例2：PPX互补

[0222] 将比其叶绿体转运肽短的StcPPX1从cDNA克隆到Cibus专有功能筛选载体。这种载体可用于功能筛选以及GRON QC。土豆PPX基因用于补充大肠杆菌的HemG突变体品系(其缺少功能HemG基因，PPX的一种细菌同系物)。在没有互补基因的情况下，培养基必须补充有血色素以用于大肠杆菌生长。转化质体PPX基因(pACYStcPPXCol6)和线粒体PPX基因

(pACYStmPPX Co16,12和21)的克隆并且显示所有基因/等位基因补充HemG突变体大肠杆菌品系,允许其在缺少血色素的情况下生长。

[0223] 为了评估赋予PPX抑制剂例如Chateau(丙炔氟草胺-Valent/Sumitomo)、Naja(二苯基醚-MAI)或Kixor(嘧啶肟草醚-BASF)耐受性的突变,PPX抑制除草剂示于表5中。获得PPX抑制除草剂Chateau(丙炔氟草胺-Valent/Sumitomo)、Spartan(甲磺草胺-FMC)和Kixor/Sharpen(嘧啶肟草醚-BASF)的纯的活性成分。将野生型土豆质体PPX克隆(pACYStcPPX Co16)转化以补充hemG突变体大肠杆菌并用一系列浓度的PPX抑制除草剂Spartan(甲磺草胺-FMC)的活性成分选择以确定补充的HemG负型品系不生长的浓度。野生型构建体在2.5mM甲磺草胺的情况下不生长,因此在该浓度下进行针对耐受性突变体的选择。对其进一步精制,并且0.75mM甲磺草胺也用于选择耐受性。野生型构建体在液体选择方面于10mM丙炔氟草胺下具有有限生长并且在基于板的选择方面于0.3mM嘧啶肟草醚下无生长,这些浓度用于测试耐受性突变体。测试所有土豆线粒体PPX基因和等位基因对甲磺草胺和丙炔氟草胺的天然耐受性,但是无一具有耐受性。

[0224] 实施例3:PPX PCR-诱变和对诱变克隆的选择

[0225] 最初在土豆质体PPX基因的两个重叠片段(5'和3')上进行诱变实验,以鉴定赋予除草剂耐受性的土豆质体PPX编码序列中的突变。

[0226] 液体选择标准化

[0227] 开发了甲磺草胺和丙炔氟草胺两者的液体培养选择条件。在范围为0至10mM的甲磺草胺和丙炔氟草胺浓度下测试1mL体积的培养物。0mM样品具有25μL DMSO(2.5%)以模拟DMSO在含有10mM除草剂的样品中的浓度。每个管用10μL补充有野生型PPX质粒的HemG细胞的过夜培养物接种以确保均匀性。采集每种样品(1:4稀释度)的分光光度测量的读数(OD600)并且将每种样品铺板于LB-Chlor-IPTG板上以确定OD600是否与存活集落数目相关。对于甲磺草胺处理的细胞,铺板过夜培养物的10%稀释液,而对于用丙炔氟草胺处理的细胞,则铺板过夜培养物的1%稀释液(参见表8a-f和9a-d的结果)。

[0228] 甲磺草胺和丙炔氟草胺两者均在液体培养基中析出,导致其看似不透明,即使在接种细菌之前。当甲磺草胺的OD显示时,该除草剂最终进入溶液中,而丙炔氟草胺没有进入溶液中。缺乏丙炔氟草胺的溶解度影响OD读数的准确性,然而,丙炔氟草胺针对WT基因显示出稳定降低的集落数目,表明细胞从培养基吸收丙炔氟草胺的能力。

[0229] 5'端诱变

[0230] 使用Stratagene GeneMorph II随机诱变试剂盒使PPX基因的5'端诱变并克隆到XL-1Blue中以检查突变速率。结果显示所测序的16个集落中的14个为突变体。刮擦90%XL-1Blue板(约为4000个集落),预备好质粒,并转化到HemG中,铺板于2.5mM甲磺草胺上。使甲磺草胺板在约200个集落上生长并10%LB-Chlor-IPTG板生长出集落坪。表9a-d描述了耐受性克隆中发现的核苷酸和氨基酸取代。

[0231] 诱变克隆的选择

[0232] 将随机诱变的质粒(5'和3'端)转化到XL1-Blue大肠杆菌细胞中。将所得集落混合,分离出质粒DNA并转化到HemG(PPX突变体大肠杆菌)细胞中。对于用丙炔氟草胺的选择,在液体基本培养基中回收细胞1小时,然后添加除草剂并且过夜回收细胞。第二天,在含有抗生素的LB板上以适当稀释度铺板细胞以选择互补质粒。对来自每个板的集落进行测序。

在10mM丙炔氟草胺中液体选择后，在野生型(WT)PPX下约30个集落出现于板上，而在诱变质粒下出现约200-1200个集落。对于甲磺草胺选择，在基本培养基上使培养物生长过夜，稀释并在0和0.75mM浓度的甲磺草胺下铺板平板。比较两者的集落计数，并基于在0.75mM甲磺草胺板上集落的百分比(与在0mM板上集落的百分比相比)来测定突变耐受性。出现在板上的集落的数目用作对突变分级的方法。

[0233] 3'端诱变

[0234] 在PPX基因的3'端上进行诱变。将克隆转化成HemG并在2.5、5和10mM丙炔氟草胺中生长过夜以用于选择。在5mM丙炔氟草胺下的选择比在10mM选择板上具有更多的集落。使用10mM丙炔氟草胺选择诱导克隆则产生四个克隆。使用5mM丙炔氟草胺选择诱导克隆则产生200个集落。在10mM丙炔氟草胺下筛选对于3'端诱变所获得的200个集落中的前三个集落。对所有耐受集落(约130个)进行测序并且通过对丙炔氟草胺的集落计数来评估最好的丙炔氟草胺耐受突变体，评估3'端对甲磺草胺的耐受性。

[0235] 实施例4：对赋予耐受性的氨基酸置换的分析

[0236] 测试展示对甲磺草胺或丙炔氟草胺的耐受性的在每个位置处的所有可能氨基酸置换的耐受性。接下来，在所有变换和组合中组合单个氨基酸置换以评估补充和除草剂耐受性。单个或多个突变体与丙炔氟草胺组合的结果示于表8a、8b和8c中，其中最后一列显示对于在10mM丙炔氟草胺下每个突变所报导的集落数目。单个或多个突变体与甲磺草胺组合的结果示于表9a和9b中，其中最后一列显示对于在0.75mM甲磺草胺下每个突变所报导的集落数目。单个或多个突变体与嘧啶肟草醚组合的结果示于表10，其中第四列显示对于在0.3mM嘧啶肟草醚下每个突变所报导的集落数目。

[0237] 表8a.土豆质体PPX编码序列中的单个和多个突变体组合对丙炔氟草胺的耐受性

[0238]

突变		质粒	抗丙炔氟草胺克隆的平均#
---	L393V	F1125	0
---	L403R	F1155	2
A180T	Y426F	SD5083	2
---	L424S	F1154	2
F145L	Y426H	SD5055	3
S244G	Y426F	SD5087	10
F145L	L403R	SD5115	10
---	Y426F	F1165	11
F145Y	L424S	SD5106	13
R144C	L424S	SD5102	41

[0239]

L226M	Y426H	SD5059	55
A220T	L403R	SD5114	69
---	Y426H	F1180	71
A220T	L424S	SD5104	72
F145Y	Y426F	SD5086	75
R144C	L393V	SD5092	81
A220T	L393V	**SD5094**	107
S244G	L393V	***SD5097***	114
L226M	L403R	***SD5119***	123
A180T	Y426H	***SD5053***	129
L226M	L424S	***SD5109***	137
L226M	Y426F	***SD5089***	143
A220T	Y426F	**SD5084**	147
A220T	Y426H	**SD5054**	151
R144C	Y426F	***SD5082***	155
---	---	wt	0

[0240] 表8b.土豆质体PPX编码序列中的单个和多个突变体组合对丙炔氟草胺的耐受性

[0241]

突变			质粒	抗丙炔氟草胺克隆的平均#
R144C	A220T		SD5011 Col 1	701
A220T			F113	667
R144H	S332C		F76	517
R144C	K272F		SD5014 Col 1	300
N52K	R144H	S244T	F72	202
N85D	A220T		SD5007 Col 1	196
R144H	S244T		F96	174
R144C			S7	139
R144C	L226M		SD5012 Col 1	117
M228L			S37	107
L226M			F114	102
N85D	L226M		SD5008 Col 2	50
F145Y			S32	38
N85D	F145Y		SD5004 Col 3	37
S244G			S120	31
R144C	M228L		SD5013 Col 2	31
P185R			SD5016 Col 1	27
N52K			SD5001 Col 3	23
N85D	A180T		SD5005 Col 1	23
A180T			F17	22
N85D	R144C		SD5002 Col 1	21

[0242]

S332C			SD5019 Col 1	20
F145L			S118	19
N85D			F80	16
K272F			F7	15
S244T			SD5018 Col 3	10
N85D	K272F		SD5010 Col 4	7
N85D	M228L		SD5009 Col 3	6
			WT	43

[0243] 表8c.土豆质体PPX编码序列中的单个和多个突变体组合对丙炔氟草胺的耐受性

[0244]

突变		质粒	抗丙炔氟草胺克隆的平均#
N85D	Y426H	SD5051	30
R144C	Y426H	SD5052	48
F145Y	Y426H	SD5056	52
S244T	Y426H	SD5058	73
S244G	Y426H	SD5057	80
A180T	Y426H	SD5053	128
L226M	Y426H	SD5059	228
F145L	Y426H	SD5055	305
A220T	Y426H	SD5054	391
---	Y426H	F1180	210
---	---	wt	32

[0245] 表8d.土豆线粒体PPX编码序列中的单个和多个突变体组合对5mM丙炔氟草胺的耐受性

[0246]

A404S	
C271R	D274G
C307S	A423V
C434S	T500S
C434Y	
D330E	
D447G	A292G
D454N	
N324K	
R406K	
S396L	K410I
S448A	N324D
Y465F	K470T

[0247] 表8e.土豆线粒体PPX编码序列中的单个和多个突变体组合对5mM丙炔氟草胺的耐受性

[0248]

A101V			
C177S			
D170E			
D58N			
E150K			
E64V			
F121L	E150D		
G74C	R98C		
G84N			
K97R			
L93H	V164A		
N195K			
P214S			
Q157L	H187Q		
R98C			
R98H			
R98L			
R98L	P214H		
R98L	T124I	L188F	K229Q
S119N	N139Y		
S151T	K229E	K230R	
V164F			

[0249] 表8f.土豆线粒体PPX编码序列中的单个和多个突变体组合对10mM丙炔氟草胺的耐受性

[0250]

突变体	在 10 mM 丙炔氟草胺下的集落#
wt	42
R98L	83
P214H	51
R98L/P214H	88
R98L/P214H/T124I	110
R98L/P214H/T124I/K229Q	109

[0251] 表9a.土豆质体PPX编码序列中的单个和多个突变体组合对甲磺草胺的耐受性

[0252]

突变		质粒	平均 0.75 mM 甲磺草胺	平均 0 mM	0.75mM/0mM
---	Y426F	F1165	8	91	0.8%
---	L393V	F1125	6	57	1.0%
L226M	Y426H	SD5059	14	79	1.8%
S244T	L393V	SD5098	11	53	2.1%
F145Y	Y426H	SD5056	16	72	2.2%
---	L403R	F1155	16	72	2.2%
R144C	S525T	SD5072	19	76	2.6%
A220T	L393V	SD5094	20	55	3.6%
---	L424S	F1154	21	56	3.7%
F145L	L424S	SD5105	18	48	3.8%
---	Y426H	F1180	29	68	4.2%
A220T	Y426H	SD5054	19	39	5.0%
F145Y	L393V	SD5096	55	86	6.3%
S244T	Y426F	SD5088	58	88	6.5%
F145Y	L424S	SD5106	49	69	7.1%
A220T	L403R	SD5114	50	63	7.9%
L226M	Y426F	SD5089	117	67	17.4%
N85D	Y426H	SD5051	200	92	21.8%
L226M	L424S	SD5109	91	40	22.6%
F145Y	L403R	SD5116	315	110	28.5%
F145L	L393V	SD5095	381	121	31.6%
L226M	L403R	SD5119	252	75	33.8%
R144C	Y426F	SD5082	400	117	34.3%
S244G	L393V	SD5097	433	125	34.7%
---	S525T	F1061	278	79	35.3%
A180T	Y426H	SD5053	331	80	41.4%
R144C	Y426H	SD5052	709	125	56.6%
---	---	wt	0	85	0.0%

[0253] 表9b.土豆质体PPX编码序列中的单个和多个突变体组合对甲磺草胺的耐受性

[0254]

突变			质粒	抗甲磺草胺克隆的平均#
R144C	M228L		SD5013 Col 2	267
R144C	A220T		SD5011 Col 1	260
F145Y			S32	233
R144C	L226M		SD5012 Col 1	186
A220T			F113	149
P185R			SD5016 Col 1	133
R144C	K272F		SD5014 Col 1	118

[0255]

N52K			SD5001 Col 3	90
M228L			S37	78
N85D	A180T		SD5005 Col 1	75
S244G			S120	68
R144H	S332C		F76	64
N85D	F145Y		SD5004 Col 3	62
K272F			F7	61
L226M			F114	57
R144C			S7	55
S244T			SD5018 Col 3	32
R144H	S244T		F96	31
F145L			S118	29
S332C			SD5019 Col 1	28
N85D	R144C		SD5002 Col 1	25
N85D	A220T		SD5007 Col 1	19
N85D	L226M		SD5008 Col 2	18
A180T			F17	18
N52K	R144H	S244T	F72	18
N85D	M228L		SD5009 Col 3	12
N85D			F80	6
N85D	K272F		SD5010 Col 4	6
			WT	23

[0256] 表9c.土豆线粒体PPX编码序列中的单个和多个突变体组合对甲磺草胺的耐受性

[0257]

甲磺草胺浓度	突变体	集落	平均%
0mM	R98L/P214H	1341	
0.5mM	R98L/P214H	349	26.0%
0.9mM	R98L/P214H	127	9.5%
1.0mM	R98L/P214H	77	5.7%
1.1mM	R98L/P214H	67	5.0%
1.2mM	R98L/P214H	48	3.6%
0mM	R98L	1541	
0.5mM	R98L	339	22.0%
0.9mM	R98L	145	9.4%
1.0mM	R98L	110	7.1%
1.1mM	R98L	76	4.9%
1.2mM	R98L	54	3.5%
0mM	R98L/T124I/K229Q	1220	
0.5mM	R98L/T124I/K229Q	312	25.6%
0.9mM	R98L/T124I/K229Q	88	7.2%

[0258]

1.0mM	R98L/T124I/K229Q	66	5.4%
1.1mM	R98L/T124I/K229Q	40	3.3%

[0259] 表9d.土豆线粒体PPX编码序列中的单个和多个突变体组合对甲磺草胺的耐受性

[0260]

甲磺草胺浓度	突变体	集落	平均%
0mM	R98L/P214H	1088	
0.4mM	R98L/P214H	251	23.1%
0.5mM	R98L/P214H	150	13.8%
0.6mM	R98L/P214H	105	9.7%
0.7mM	R98L/P214H	108	9.9%
0.8mM	R98L/P214H	51	4.7%
0mM	R98L	1171	
0.4mM	R98L	174	14.9%
0.5mM	R98L	104	8.9%
0.6mM	R98L	98	8.4%
0.7mM	R98L	92	7.9%
0.8mM	R98L	51	4.4%
0mM	R98L/T124I/P214H/K229Q	1134	
0.4mM	R98L/T124I/P214H/K229Q	724	63.8%
0.5mM	R98L/T124I/P214H/K229Q	654	57.7%
0.6mM	R98L/T124I/P214H/K229Q	402	35.4%
0.7mM	R98L/T124I/P214H/K229Q	302	26.6%
0.8mM	R98L/T124I/P214H/K229Q	280	24.7%
0mM	P214H	1184	
0.4mM	P214H	0	0.0%
0.5mM	P214H	0	0.0%
0.6mM	P214H	0	0.0%
0.7mM	P214H	0	0.0%
0.8mM	P214H	0	0.0%

[0261] 表10.通过所报导的集落数目测量的土豆质体PPX编码序列中的单个和多个突变体组合对嘧啶肟草醚的耐受性

[0262]

突变		质粒	抗嘧啶肟草醚克隆的平均#	平均0 mM	0.3mM/0mM
---	S525T	F1061	0	69	0.0%
N85D	Y426H	SD5051	0	64	0.0%
F145L	L393V	SD5095	0	114	0.0%
S244G	L393V	SD5097	0	111	0.0%

[0263]

F145Y	L403R	SD5116	0	104	0.0%
L226M	L424S	SD5109	6	50	1.3%
L226M	Y426F	SD5089	15	96	1.5%
A220T	L393V	SD5094	116	99	11.7%
A220T	Y426F	SD5084	190	87	22.0%
L226M	L403R	SD5119	225	69	32.5%
R144C	Y426F	SD5082	319	61	52.6%
R144C	Y426H	SD5052	415	75	55.4%
A180T	Y426H	SD5053	394	60	65.7%
A220T	Y426H	SD5054	356	46	77.5%
---	---	wt	0	96	0.0%

[0264] 实施例5:植物细胞培养-除草剂杀死曲线

[0265] 丙炔氟草胺杀死曲线

[0266] 进行除草剂选择实验以测定在限定的处理期下杀死原生质体源性微愈伤组织(microcalli)所需的除草剂浓度。根据125μM浓度足以在一周内杀死所有细胞的初始杀死曲线,使用较低浓度的丙炔氟草胺设计新杀死曲线,目标在于测定杀死99%细胞的浓度(参见表11)。将除草剂悬于DMSO中,在除草剂处理中DMSO的最终浓度为1%。每周一次在显微镜下评价细胞发育。除对照处理之外,在所测试的任何浓度下无微愈伤组织发育一周后和一个月后防止用丙炔氟草胺的所有处理的划分。0.032mM的丙炔氟草胺浓度足以防止微愈伤组织从土豆原生质体的发育。

[0267] 表11.用细胞悬液和芽尖源性原生质体的丙炔氟草胺杀死曲线实验的结果的总结。将原生质体暴露于丙炔氟草胺达一个月的时间。

[0268]

未处理的原生质体+PEG	3个微珠中愈创组织的#		终止-GFP+校正GRON	3个微珠中愈创组织的#	
丙炔氟草胺浓度μM	#	%	丙炔氟草胺浓度μM	#	%
对照#1*	185		对照	230	
对照#2**	150		对照	190	
平均对照1+对照2	157.5	100	平均对照1+对照2	210	100
0.0156	40	25	0.0156	83	39
0.0312	8	5	0.0312	11	4
0.0468	0.0	0.0	0.0468	0.0	0.0

[0269]

0.0624	0	0	0.0624	0	0

[0270] *培养基,无除草剂

[0271] **含有1%DMSO的培养基,无除草剂

[0272] 磺酰唑草酮杀死曲线

[0273] 在芽尖源性原生质体和细胞悬液下用甲磺草胺的杀死曲线显示,7.8μM甲磺草胺的浓度足以杀死所有原生质体源性细胞(参见表12)。因此,用示于表13中的较低浓度的0、

0.5、0.6、0.7和0.8μM甲磺草胺引发新杀死曲线。结果表明，可在0.6μM至0.7μM的除草剂的浓度下选择GRON处理的原生质体。

[0274] 表12.用细胞悬液和芽尖源性原生质体的甲磺草胺杀死曲线实验的结果的总结。将原生质体暴露于甲磺草胺达一个月的时间。

[0275]

甲磺草胺处理[μM]	微愈伤组织形成
对照:1*	是;大量
对照:2**	是;大量
62.5	无
31.25	无
15.6	无
7.8	无

[0276] *培养基，无除草剂

[0277] **含有1%DMSO的培养基，无除草剂

[0278] 表13.用细胞悬液和芽尖源性原生质体的甲磺草胺杀死曲线实验的结果的总结。将原生质体暴露于除草剂达一个月的时间。

[0279]

未处理的原生质体+PEG	3个微珠中愈创组织的#		终止-GFP+校正GRON	微珠中愈创组织的#	
甲磺草胺浓度μM	#	%	磺酰唑草酮浓度μM	#	%
0.0	115	100	0.0	125	100%
0.5	45	30	0.5	38	30.2

[0280]

0.6	8	6.9	0.6	12	9.6
0.7	2	1.7	0.7	7	5.6
0.8	0.0	0.0	0.8	0.0	0.0

[0281] *培养基，无除草剂

[0282] **含有1%DMSO的培养基，无除草剂

[0283] 实施例6:叶盘杀死曲线.

[0284] 针对建立将抑制叶盘外植体中愈创组织形成的甲磺草胺的浓度，用无菌打孔器对来自5周龄的在体外生长的土豆植物的叶盘打孔。在含有固体Haberlach培养基(以1%DMSO的终浓度含有不同浓度的磺酰唑草酮)的培养皿中培养叶盘。在每种除草剂浓度下培养六个叶盘。用微孔带密封板并在室温下孵育(约23℃)。在初始实验中，7.8μM甲磺草胺(在该实验中测试的最低浓度)足以终止愈创组织形成并在20天内漂白所有叶盘。使用较低浓度的甲磺草胺的杀死曲线的结果显示3.0μM磺酰唑草酮的浓度足以在20天后抑制在几乎所有叶盘中的愈创组织形成，而在2.0μM磺酰唑草酮下生长的一些叶盘的叶脉上13天后引发愈创组织。使用嘧啶肟草醚进行类似的叶盘杀死曲线实验，而0.5μM该除草剂足以在20天后抑制在几乎所有叶盘中的愈创组织形成。

[0285] 实施例7:用于细胞培养和GRON引入的材料和方法

[0286] 表14.GRON序列

[0287]

GRON	序列
StcPPX1144/C/47/5'Cy3/3'idC	VGTTGGGAGATCCTGATGCGCCTTGCTTTGTCTTGT GGAAGGATAAACH (SEQ ID NO: 33)
StcPPX1144/NC/47/5'Cy3/3'idC	VGTTTATCCTTCCACAAGACAAAGCAAGGCGCATC AGGATCTCCCAACH (SEQ ID NO: 34)
StcPPX1220/C/47/5'Cy3/3'idC	VCATCATTTTACAGGTGTTTACACCGGTGACCCCTC AAAATTGH (SEQ ID NO: 35)
StcPPX1220/NC/47/5'Cy3/3'idC	VCAATTTTGAGGGGTCACCGGTGTAAACACCTGTAAAATGA TGH (SEQ ID NO: 36)

[0288] 转化的碱基以粗体显示。V=CY3;H=3'DMT dC CPG

[0289] 细胞培养工作描述。将例如源自种子、块茎、腋芽、叶、茎(steam)、根、愈创组织的或源自小孢子源性胚胎的芽在无菌条件下体外繁殖。例如每隔3-4周对外植体进行继代培养并且根据Murashige和Skoog(A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco cultures.Physiol.Plant15(1962)473-49)或其改进形式,在具有通风盖的Magenta GA7培养皿(Phytotechnology Laboratories,Shawnee Mission,KS,USA)中体积为约100mL的培养基例如MS培养基中培养。可用微孔带(3M Company)将培养皿密封。嫩叶、芽尖、根、微管或具有叶和腋芽的长茎区段,以及源自这些组织的愈创组织可用于原生质体分离。原生质体也可从源自嫩叶、芽尖、根、微管或具有叶和腋芽的长茎区段的悬浮培养细胞,以及源自这些组织的愈创组织。

[0290] 来自芽尖的原生质体分离

[0291] 在常规昼/夜方法培养或优选在原生质体于暗处分离之前保持两天的2-8周龄离体芽的约200个芽尖,可在具有无菌水的培养皿中用解剖刀将芽切成小片。在已切除所有尖端后,水被替换为原生质体培养基,优选BN(B5盐和维生素类(Phytotechnology Laboratories)、葡萄糖20g/L、甘露醇70g/L、α萘乙酸5mg/L、额外$CaCl_2x2H_2O$600mg/L、酪蛋白水解产物250mg/L、半胱氨酸-HCL10mg/L、聚乙烯吡咯烷酮(MW10,000)5g/L。在约1-2h后,原生质体培养基被替换为酶溶液,例如由培养基BN组成的酶溶液,该培养基BN中溶解了0.5%(w/v)Cellulase YC和0.75%(w/v)Macerozyme R10(均来自Karlan Research Products,Cottonwood,Arizona)、1g/L牛血清白蛋白和1g/L2-吗啉代乙磺酸。芽尖数相比于酶溶液体积的比率可为10至16,优选13。在设定至约50rpm的振荡器上于暗处,在25℃-30℃、优选28℃孵育具有酶溶液中的芽尖小片的培养皿。孵育过夜后,使用碘克沙醇密度梯度(改进自Optiprep Application Sheet C18;Purification of Intact Plant Protoplasts;Axis-Shield USA,10Commerce Way,Norton,MA02776)纯化原生质体悬液。在密度梯度离心后,将具有纯化的原生质体的条带连同约5mL W5培养基(Frigerio等,1998)一起移除。用血细胞计数器测定原生质体密度和收率。在含有2mg/L2,6-二氯苯甲腈(纤维素合酶抑制剂)的BN培养基中将原生质体密度调节至$1x10^6$/mL,并在30℃于暗处培养原生质体约16h。

[0292] 来自细胞悬液的细胞原生质体分离

[0293] 原生质体从细胞悬液的分离按照与对于原生质体从芽尖的分离所述的相同方案,以下情况例外:

[0294] 1.使用快速生长细胞悬液，优选在其最后一次继代培养后三天。将1.5mL固定细胞体积转移至约15ml BN培养基，其在2h后替换为酶溶液。2.GRON/PEG处理紧跟着原生质体纯化。

[0295] 基因修复寡核苷酸(GRON)引入

[0296] 将原生质体悬液与等体积的W5培养基混合，转移至50mL离心管，并且在临床离心机(约50x g)的最低设置下离心10min。移除上清液，并替换为TM培养基(Klaus，S.Markerfreie transplastome Tabakpflanzen(无选择标记转基因烟草植物).PhD Dissertation,2002,Ludwig-Maximilians-Universität München,109pp)，将原生质体密度调节至$5x10^6$/mL。将每份含有$5x10^5$个原生质体的100μL的等份试样分配到12mL圆底离心管中。于是使用PEG处理将靶向线粒体和质体PPX基因之一者或两者中的一个或多个突变的GRON(例如示于表14中的那些)引入原生质体。为了将GRON引入到原生质体中，加入溶解于25μL纯化水中的12.5μg GRON和125μL聚乙二醇溶液(5g PEG MW1500、638mg甘露醇、207mg $CaNO_3x4H_2O$和8.75mL纯化水；pH调节至约9.0)。在冰上10-30min孵育后，原生质体-PEG悬液用W5培养基洗涤并且在悬浮于培养基BN中。在室温下于暗处保持悬液过夜。

[0297] 可通过电穿孔、阳离子脂质、纳米粒子、聚阳离子例如海美溴铵(聚凝胶)或亚精胺、或通过使用复合至多种细胞穿透肽(CPP)的GRON将GRON引入原生质体中，所述细胞穿透肽(CPP)包括但不限于TAT、pVEC、转运素(transportan)、壬基-精氨酸(nona-arginine)、BAX抑制肽(VPMLK)、或者例如列于Patel等Cell Penetrating Peptides:Intracellular Pathways and Pharmaceutical Perspectives.Pharmaceutical Research,24(2007)1977-1992、或Veldhoen等Recent developments in peptide-basednucleic acid delivery.International Journal of Molecular Science(2008)1276-1320中的那些。在另一实施方案中，通过荷负电的聚合物将GRON引入原生质体中，所述聚合物包括但不限于树状聚合物例如Polyamidoamine(PAMAM)。

[0298] 也可使用如下方法将GRON递送至整个组织或细胞中，该方法可包括使用涂敷在载体例如金上的GRON或直接以GRON悬液液滴形式、GRON涂敷的晶须或使用用复合至多种在前段提及的细胞穿透肽(CPP)荷负电聚合物的GRON的微注射、生物弹道术。其他实施方案设想使用超声、含GRON溶液中的吸入或细胞壁的透化，例如通过试剂例如甲苯或皂苷。

[0299] 藻酸钙中原生质体的包埋

[0300] 在GRON引入后一天，将原生质体包埋到藻酸钙中。已显示原生质体在凝胶底物(例如琼脂糖、藻酸盐)中的包埋增强原生质体存活率并且增加原生质体源性细胞的分裂频率。所用的方法是基于Dovzhenko等(Thin-alginate-layer technique for protoplast culture of tobacco leaf protoplasts:shoot formation in less than two weeks.Protoplasma204(1998)114-118)中所述的方法。

[0301] 原生质体培养和选择抗除草剂愈创组织

[0302] 根据Pelletier等(1983)在液体培养基中应用连续继代培养藻酸盐来实施抗除草剂愈创组织的选择。在适当浓度的抑制PPX的除草剂(例如32μM丙炔氟草胺、或0.25μM、0.5μM、1μM、2μM、3μM、4μM、5μM、6μM、7μM、7.8μM、15.6μM、31.2μM或62.5μM甲磺草胺)下PEG/GRON处理后一周开始选择。

[0303] 在液体培养基中的选择期结束之前，通过用含有50mM柠檬酸钠的培养基处理藻酸

盐30-45min，从藻酸盐释放细胞和集落。在所释放的集落从液体培养基转移到固体培养基Cul之时(Haberlach等Isolation,culture and regeneration of protoplasts from potato and several related Solanum species.Plant Science,39(1985)67-74)，大部分集落或死亡，或由覆盖有死细胞外层的浅绿色中心组成。在固化选择培养基(Cul+除草剂)上，大部分仍含有活细胞的小愈伤组织停止生长并且呈现浅褐色。个体愈伤组织的有限生长偶尔继续，但所有非抗性愈伤组织最终均变为褐色并且死亡。在转移到固化的选择培养基后2至3周(偶尔会更早)，在浅褐色细胞和微愈伤组织的背景中出现活跃地生长的愈伤组织。

[0304] 进行来自原生质体源性的、耐受除草剂的愈伤组织的植物的再生，所述愈伤组织具有证实的PPX基因突变。将耐受抑制PPX的除草剂的愈创组织(其在固化的选择培养基上发育并且在分析后其DNA显示突变的存在)转移至不含除草剂的培养基Cul，以加快发育。个体愈伤组织株系的生长速度和形态学不同。一般而言，向芽再生的发育遵循这些步骤：

[0305] 未分化的绿色愈伤组织→具有深绿色区域的愈伤组织→芽最初的发育→植物的发育。

[0306] 个体愈伤组织株系的发育是可变的，但通过在Cul培养基上连续继代培养和增殖或通过将培养基配制物换成分化培养基(包括但不限于Haberlach分化培养基)达可接受的时间(1-6个月)，然后将愈伤组织株系转移至再生培养基(包括但不限于Bokelmann再生培养基(Bokelmann G.S.和Roest S.,Z.Pflanzenphysiol.vol.109,p.259-265(1983))，最终许多愈伤组织株系产生了芽。

[0307] 一旦具有3至4个叶的芽在再生培养基上形成，便将它们转移至增殖培养基(包括但不限于MS培养基)。在该培养基上，随着时间的过去芽和叶组织发育得形态学上′正常′。在离体小植物已经产生根后，应用标准方案以适应温室条件。

[0308] 分子筛选

[0309] 使用标准分子技术和更灵敏的基于PCR的技术可用于监测RTDS处理后PPX突变的频率。这些分子技术包括但不限于等位基因特异性PCR、DNA测序和使用非-PCR技术的其他SNP鉴定技术。这些技术允许监测程序中PPX靶向的早期突变的频率。在某些实施方案中，可在单个细胞的种群中测量突变。于是这些技术可适用于整个培养过程中以证实并监测突变存在于所选愈创组织和再生植物中。

[0310] 实施例8:除草剂喷洒

[0311] 用各种抑制PPX的除草剂喷洒2-6”高(一般为5-6个叶阶段)的马铃薯或黄褐色伯班克马铃薯品种植物。在0.25%AU391表面活性剂存在的情况下喷洒除草剂。例如以下列比率喷洒除草剂：

[0312] 丙炔氟草胺2oz活性成分/英亩(ai/A)

[0313] 磺酰唑草酮 4.5oz ai/A

[0314] 嘧啶肟草醚 1-13oz ai/A

[0315] 通过叶喷施用除草剂，而对照植物未被喷洒。使用1-10(其中1为死亡，而10为完整无损的未喷洒的对照)的损害量表评价喷洒后14天的抑制PPX的除草剂试验。与在特定速率下对照的表现相比，在每种喷洒速率下对个体植物株系进行评分。PPX抑制除草剂具有可能宽泛的施用窗口并且可用作作物(包括土豆)的“前”或“后”施用。除草剂评价包括温室和田

地施用以监测植物(作物)损害和/或杂草控制。来自RTDS工作的产品可允许农夫种植如土豆的作物并且施用抑制PPX的除草剂以在不损害作物的同时消除或控制田地中的杂草。

[0316] 除非另有限定,除非本文使用的所有技术和科学术语具有与本发明所属领域技术人员通常理解的含义相同的含义。

[0317] 本文说明性描述的发明可以在本文没有具体公开的任意要素或多个要素、限制或多个限制不存在的情况下适当地被实践。因此,例如,术语"包含"、"包括"、"含有"等应当被广义地和无限制地理解。另外,本文采用的术语和表述已经被用作描述的术语,而不是限制,并且没有意图使用这些术语和表述来排除显示和描述的特征或其部分的任意等价物。应当意识到,各种修改在要求保护的发明范围内都是可能的。

[0318] 因此,应当理解为,尽管本发明已经通过优选的实施方案和任选的特征进行了具体公开,但所公开的发明的修改、改进和变化可以由本领域技术人员采取,并且这些修改、改进和变化被认为是在本发明的范围内。此处提供的材料、方法和实施例代表了优选的实施方案,是示例性的,没有意图限制本发明的范围。

[0319] 在本文中已经对本发明进行了广泛和一般性的描述。落入一般公开的较窄物种和亚组也组成本发明的一部分。这包括用从属类中去除任意主题的限制性条件或否定限制进行的本发明的一般描述——不论该去除材料是否在本文中被具体陈述。

[0320] 此外,在针对马库什组描述本发明的特征或方面的情况下,本领域的技术人员将意识到,本发明还因此针对马库什组的任意单独成员或成员亚组进行描述。

[0321] 本文中提到的所有公开、专利申请、专利和其它参考文献通过引用以其整体明确并入,达到如同每一个通过引用而单独并入的程度。在冲突的情况下,以包括定义在内的本说明书为准。

[0322] 其它实施方案阐述在所附权利要求书中。

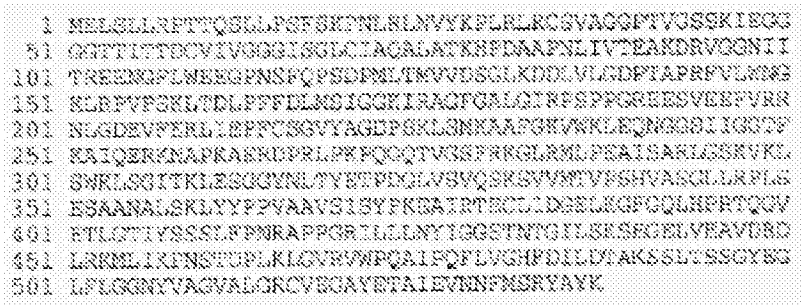
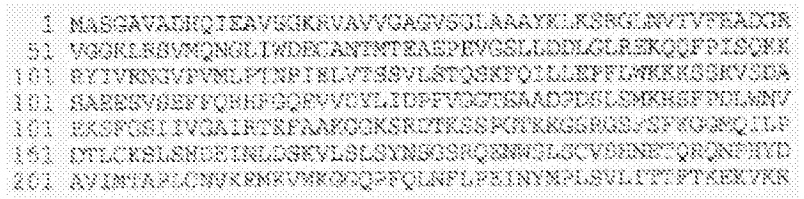


图1:拟南芥叶绿体原卟啉原氧化酶(PPOX-A14g01690)的氨基酸序列(登录号AX084732)(SEQ ID NO:1)



图2:拟南芥叶绿体原卟啉原氧化酶(PPOX-A14g01690)的核苷酸序列(登录号AX084732)(SEQ ID NO:2)



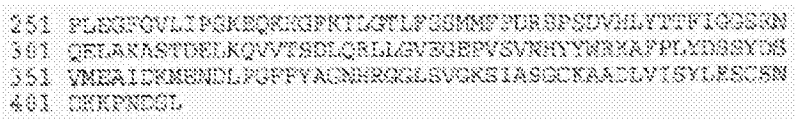


图3:拟南芥线粒体原卟啉原氧化酶的氨基酸序列(A15g14220-登录号NM_121426)(SEQ ID NO:3)



图4:拟南芥线粒体原卟啉原氧化酶的核苷酸序列(A15g14220-登录号NM_121426)(SEQ ID NO:4)

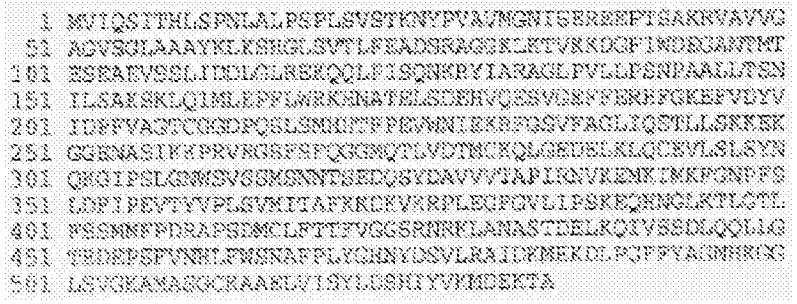


图5:糙果苋线粒体原卟啉原氧化酶的氨基酸序列(登录号DQ386117)(SEQ ID NO:5)



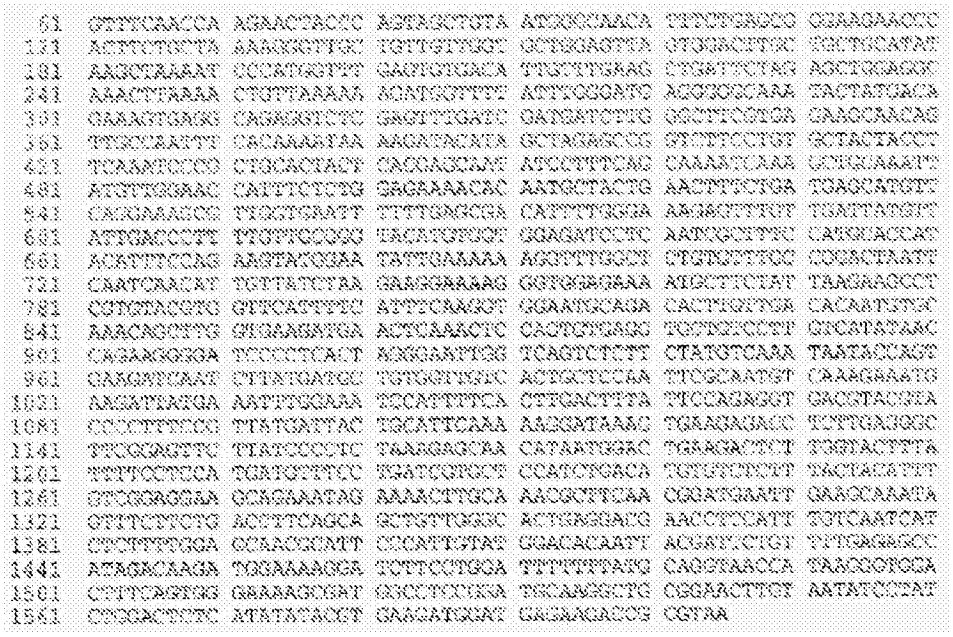


图6:糙果茧线粒体原卟啉原氧化酶的核苷酸序列(登录号DQ386117)(SEQ ID NO:6)

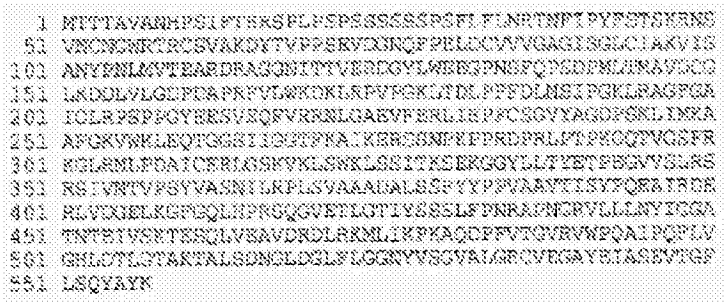


图7:马铃薯质体原卟啉原IX氧化酶的氨基酸序列(登录号AJ225107)(SEQ ID NO:7)



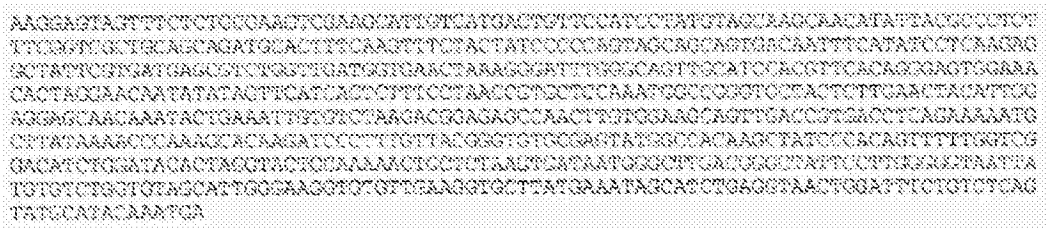


图8:马铃薯质体原卟啉原IX氧化酶的核苷酸序列(登录号AJ225107)(SEQ ID NO:8)

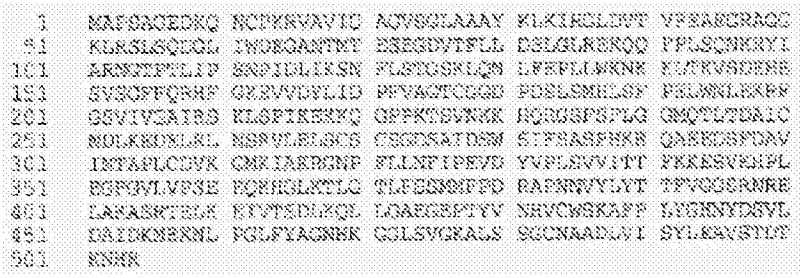


图9:马铃薯线粒体原卟啉原IX氧化酶StmPPX1(SEQ ID NO:9)



图10:马铃薯线粒体原卟啉原IXStmPPX1的氨基酸序列(SEQ ID NO:10)



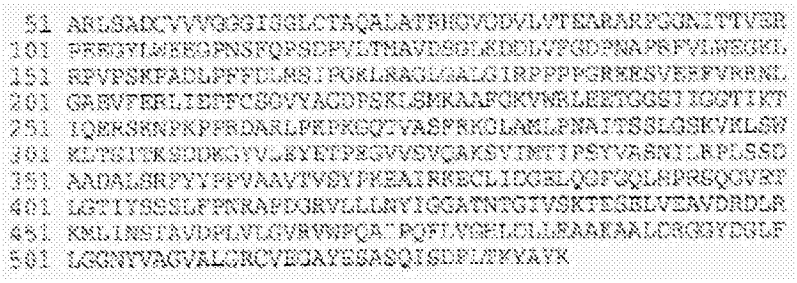


图11:玉米原卟啉原IX氧化酶的氨基酸序列(登录号AF2180152)(SEQ ID NO:11)

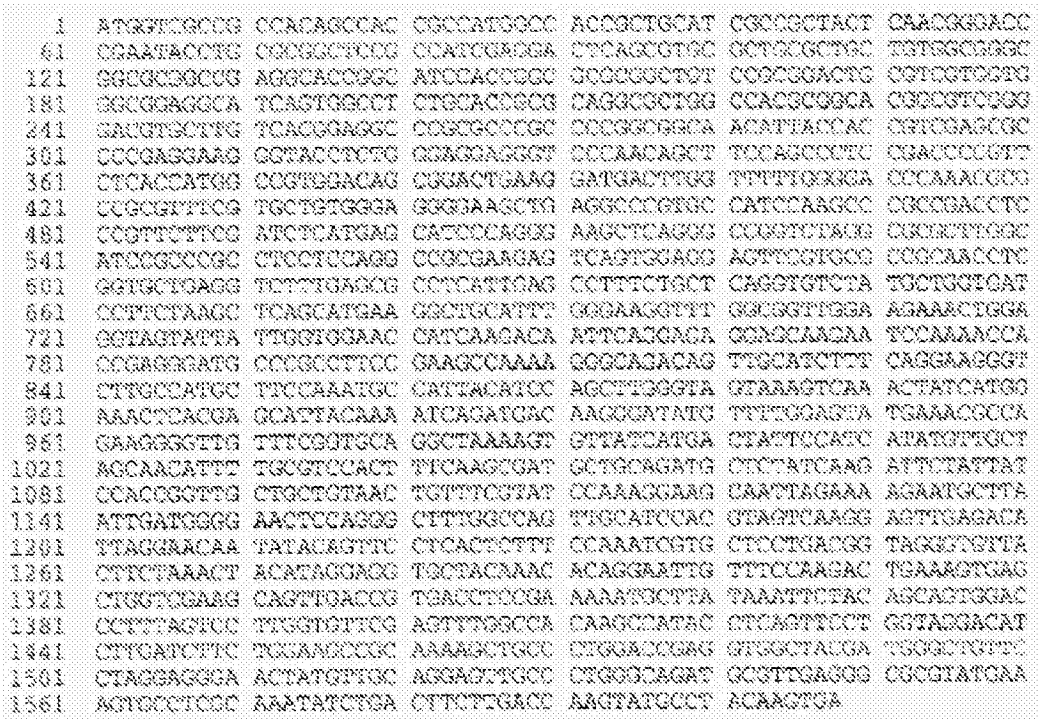


图12:玉米原卟啉原IX氧化酶的核苷酸序列(登录号AF218052)(SEQ ID NO:12)

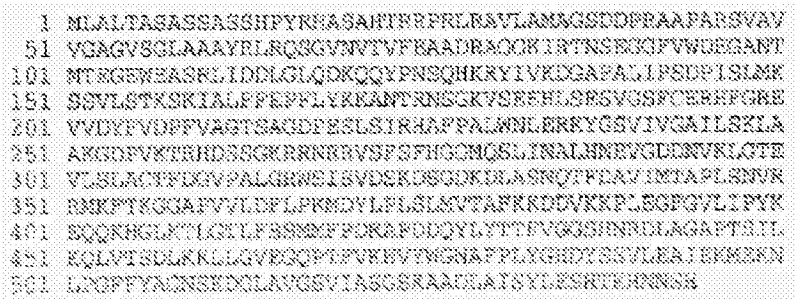


图13:玉米线粒体原卟啉原IX氧化酶的氨基酸序列(登录号AF273767)(SEQ ID NO:13)



图14:玉米线粒体原卟啉原IX氧化酶的核苷酸序列(登录号AF273767)(SEQ ID NO:14)



图15:预测栽培稻质体原卟啉原IX氧化酶的氨基酸序列(Os01g0286600-登录号NM_001049312)(SEQ ID NO:15)

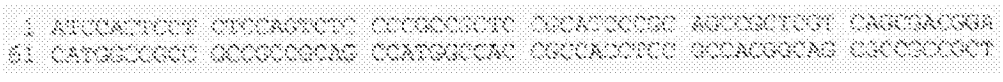




图16:预测栽培稻质体原卟啉原IX氧化酶的核苷酸序列(Os01g0286600-登录号NM_001049312)(SEQ ID NO:16)

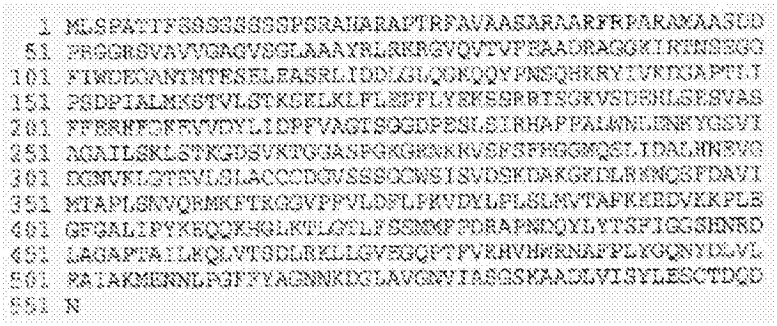


图17:预测栽培稻线粒体原卟啉原IX氯化酶氨基酸序列(预测Os04g0490000)(SEQ ID NO:17)

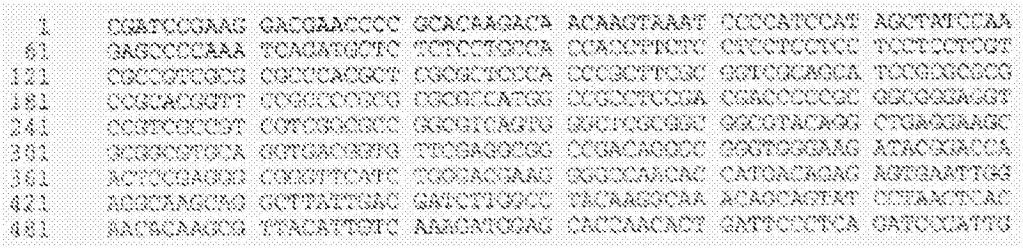




图18:预测栽培稻线粒体原卟啉原IX氧化酶的核苷酸序列(预测Os04g0490000)(SEQ ID NO:18)

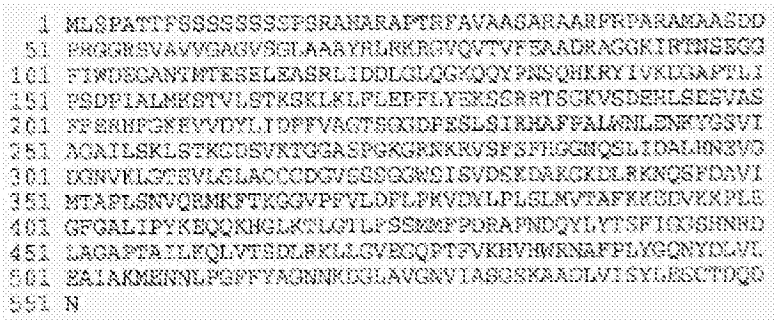


图19:蜀黍质体原卟啉原IX氧化酶的氨基酸序列(Sb03g011670-登录号XM_002455439)(SEQ ID NO:19)



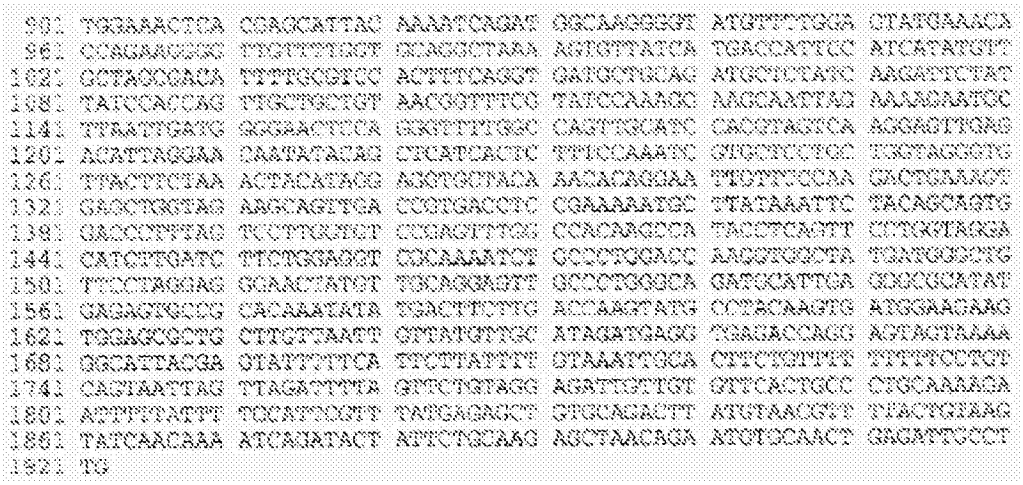


图20:蜀黍质体原卟啉原IX氧化酶的核苷酸序列(Sb03g011670-登录号XM_002455439)(SEQ ID NO:20)

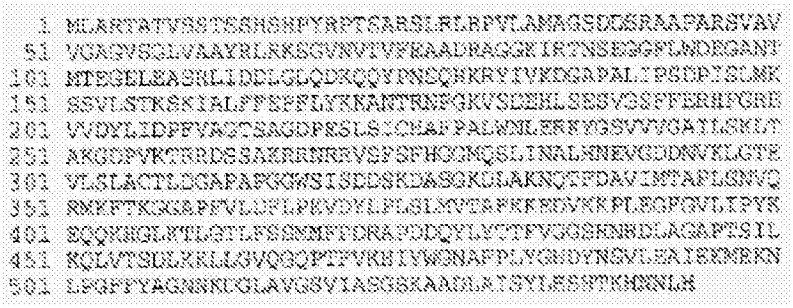


图21:蜀黍线粒体原卟啉原IX氧化酶的氨基酸序列(Sb06g020950-登录号XM_002446665)(SEQ ID NO:21)



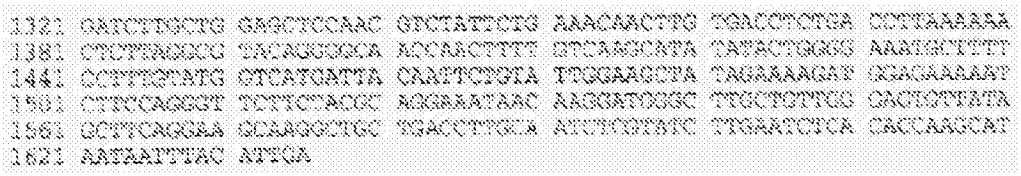


图22:蜀黍线粒体原卟啉原IX氧化酶的核苷酸序列(Sb06g020950-登录号XM_002446665)(SEQ ID NO:22)

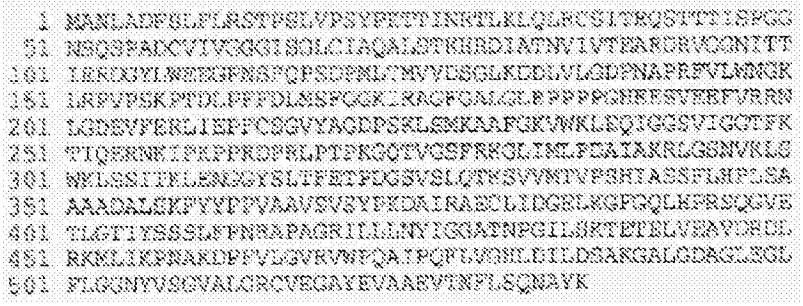


图23:蓖麻质体原卟啉原IX氧化酶的氨基酸序列(Rc1343150-登录号XM_002515127)(SEQ ID NO:23)

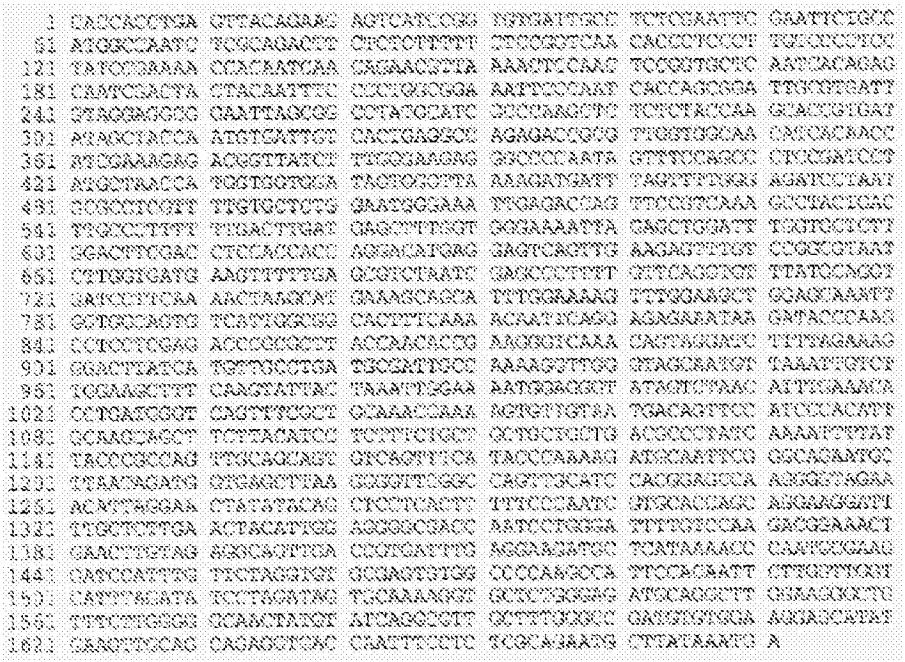
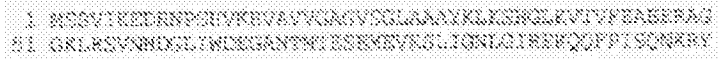


图24:蓖麻质体原卟啉原IX氧化酶的核苷酸序列(Rc1343150-登录号XM_002515127)(SEQ ID NO:24)



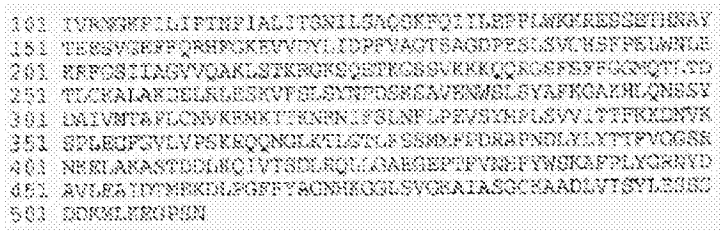


图25:蓖麻线粒体原卟啉原IX氧化酶的氨基酸序列(Rc1678480-登录号XM_002509502)(SEQ ID NO:25)

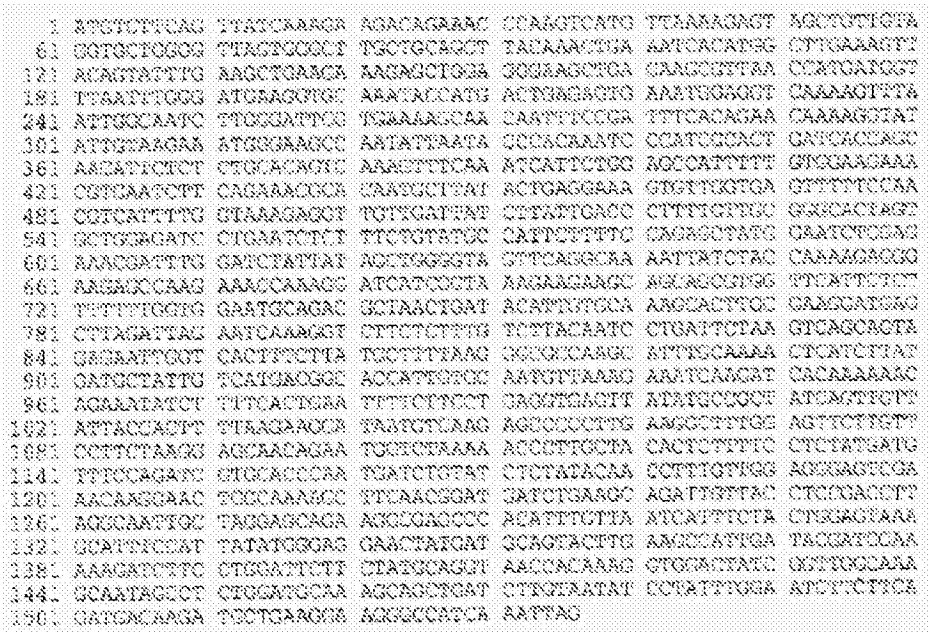


图26:蓖麻线粒体原卟啉原IX氧化酶的核苷酸序列(Rc1678480-登录号XM_002509502)(SEQ ID NO:26)

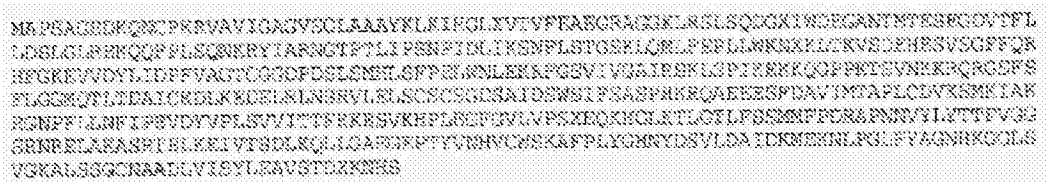
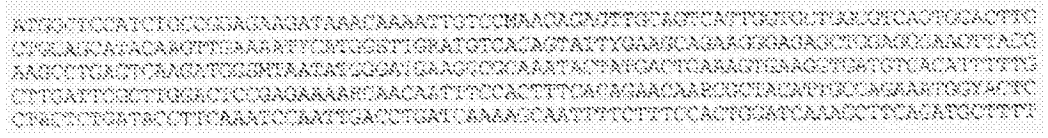


图27:马铃薯线粒体原卟啉原IX氧化酶的氨基酸序列(SEQ ID NO:27)



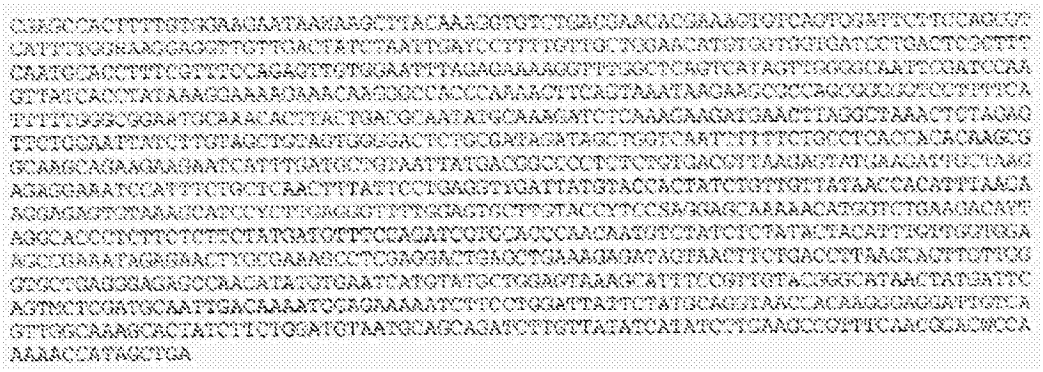


图28:马铃薯线粒体原卟啉原IX氧化酶的核苷酸序列(登录号AJ225108)(SEQ ID NO:28)

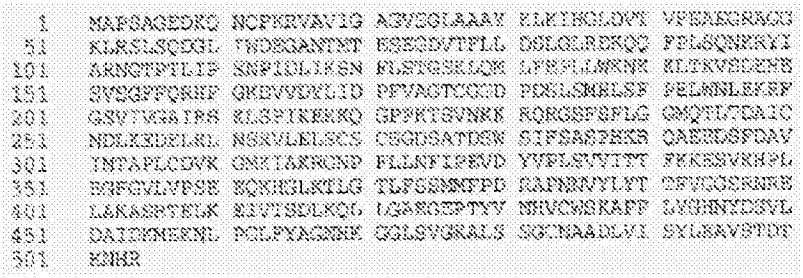


图29:马铃薯线粒体原卟啉原IX氧化酶StmPPX2.1的氨基酸序列(SEQ ID NO:29)

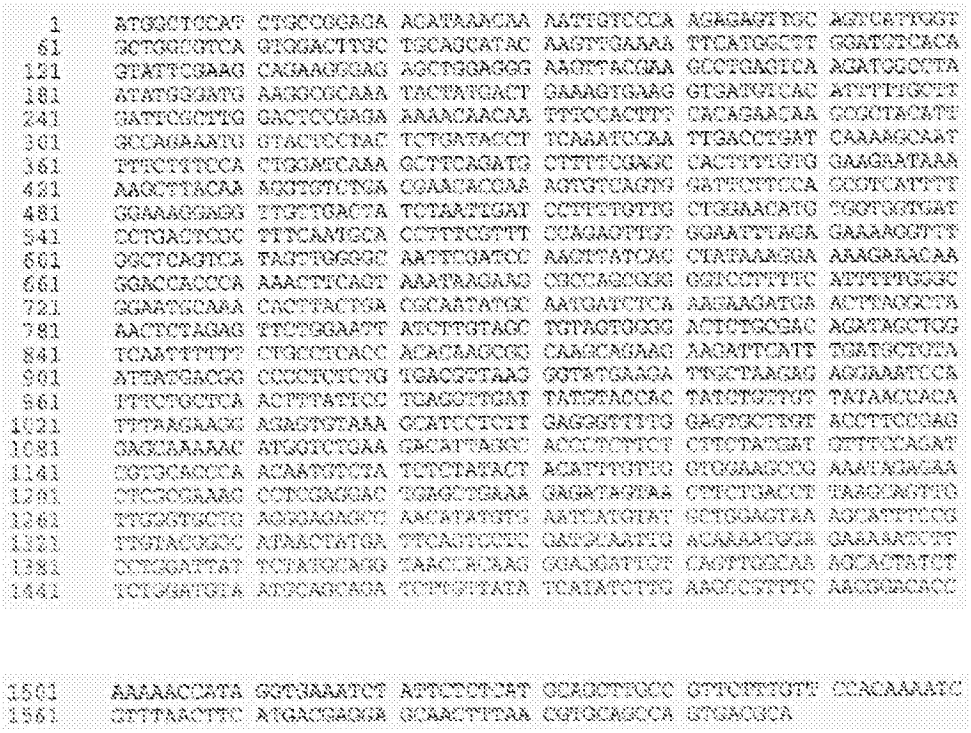


图30:马铃薯线粒体原卟啉原IX氧化酶StmPPX2.1的核苷酸序列(SEQ ID NO:30)

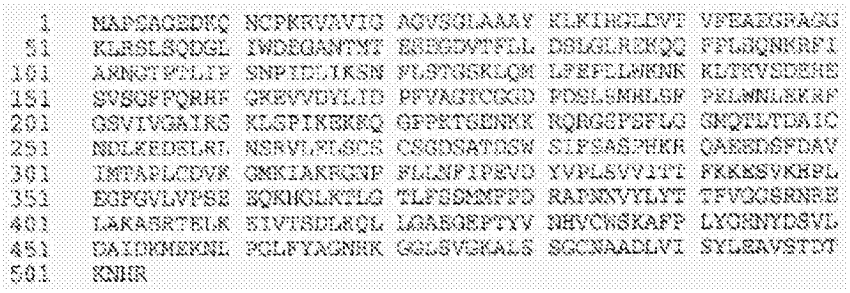


图31:马铃薯线粒体原卟啉原IX氧化酶StmPPX2.2的氨基酸序列(SEQ ID NO:31)

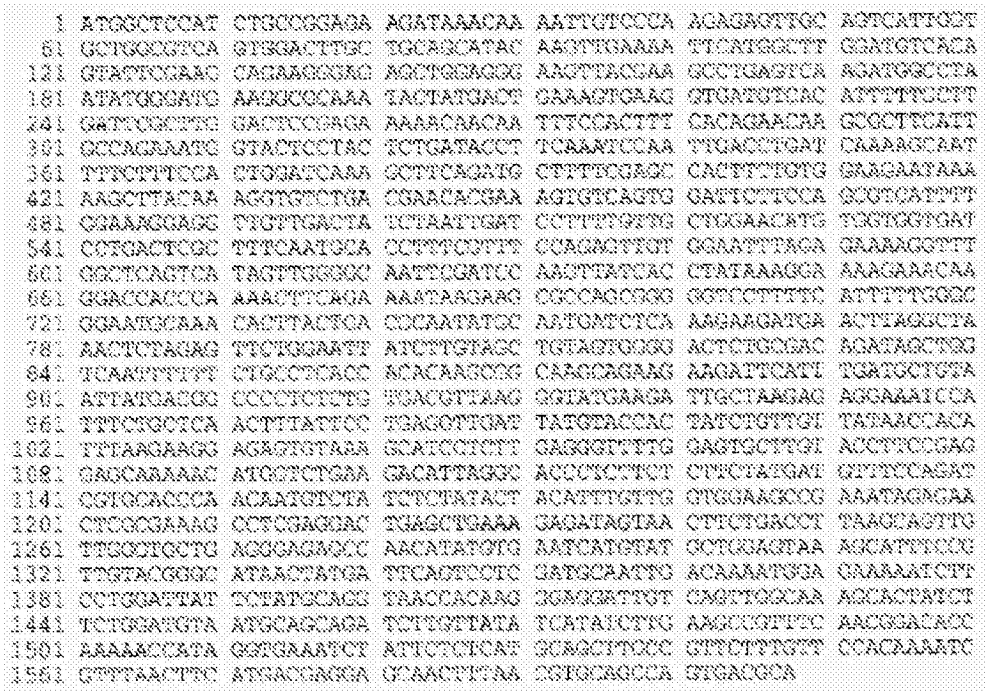


图32:马铃薯线粒体原卟啉原IX氧化酶StmPPX2.2的核苷酸序列(SEQ ID NO:32)

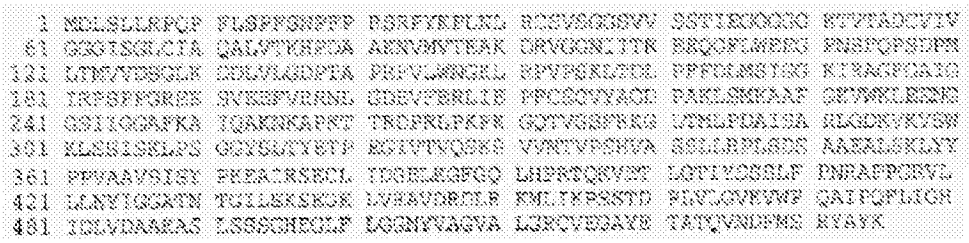


图33:甘蓝型油菜质体原卟啉原IX氧化酶BncPPX1的重叠群的氨基酸序列(SEQ ID NO:33)



图34:甘蓝型油菜质体原卟啉原IX氧化酶BncPPX1的重叠群的核苷酸序列(SEQ ID NO:34)

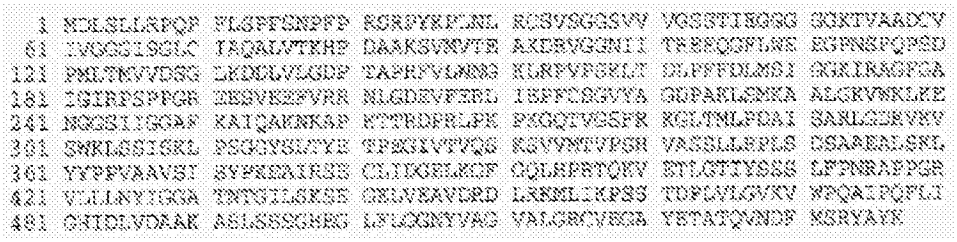


图35:甘蓝型油菜质体原卟啉原IX氧化酶BncPPX2的重叠群的氨基酸序列(SEQ ID NO:35)

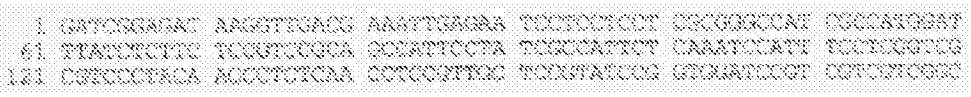




图36:甘蓝型油菜质体原卟啉原IX氧化酶BncPPX2的重叠群的核苷酸序列(SEQ ID NO:36)

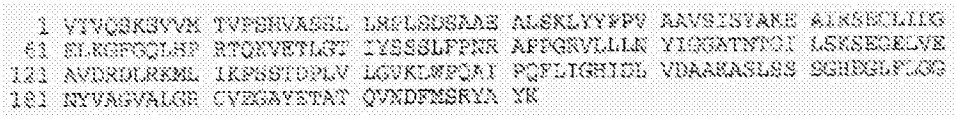
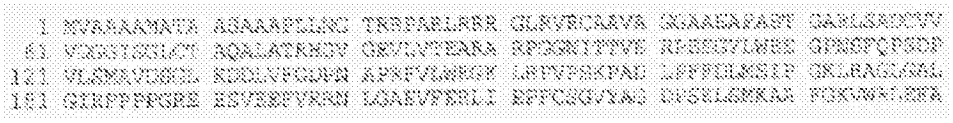


图37:甘蓝型油菜质体原卟啉原IX氧化酶BncPPX3的重叠群的部分氨基酸序列(SEQ ID NO:37)



图38:甘蓝型油菜质体原卟啉原IX氧化酶BncPPX3的重叠群的部分核苷酸序列(SEQIDNO:38)



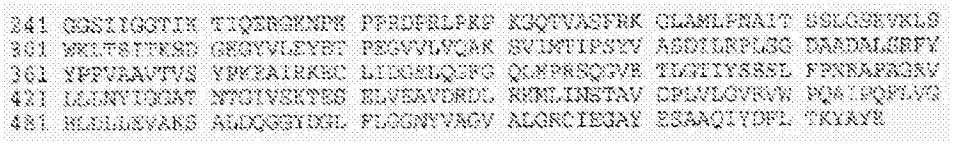


图39:黄豆质体原卟啉原IX氧化酶GmcPPX1-1Gm02G01000的氨基酸序列(SEQ ID NO:39)

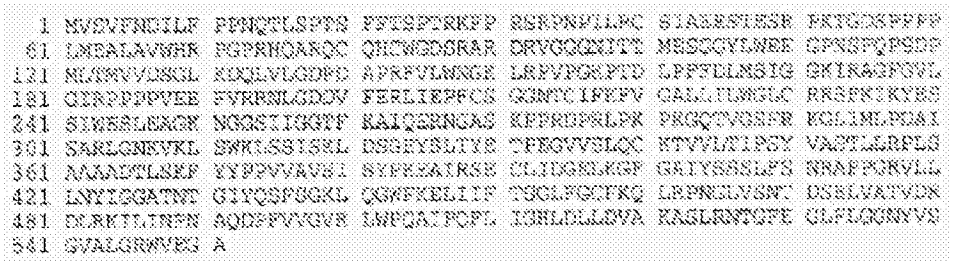
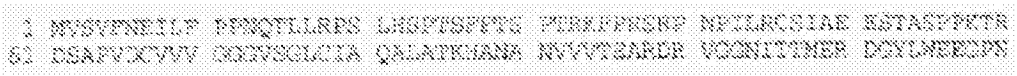


图40:黄豆质体原卟啉原IX氧化酶GmcPPX1-2Gm02G01000的氨基酸序列(SEQ ID NO:40)



图41:黄豆质体原卟啉原IX氧化酶GmcPPX1-2Gm02G01000的核苷酸序列(SEQ ID NO:41)



```
121 SFQPSDPNLT MYVDSCLKDE LVLGDPDAPR FVLKNRKLRF VPGKLTDLFF FDLRQTCGKI
181 RAGFGALGIP PPPPGHEESV EEFVRRNLGD EVFEELIEPF CSGVYAGDPS KLSMKAAFGK
241 VWELEKNGGS IIGGTFKAIQ ERNGASKPPR DPRLPKPKGQ TVGSFRKGLT MLPDAISARL
301 GNKVKLSWKL SSISKLDSGE YSLTYETPEG VVSLQCKTVV LTIPSYVAST LLRPLSAAAA
361 DALSKFYYPP VAAVSISYPK EAIKSECLID GELKGFGQLH PRSQGVETLG TIYSSSLFPN
421 RAPPGRVLLL NYIGGATNTG ILSKTDSELV ETVDRDLRKI LINPNAQDPF VVGVRLWPQA
481 IPQFLVGHLD LLDVAKAASK NTGFEGLFLG GNYVSGVALG RCVEGAYEVA AEVNDFLYNY
541 VYK
```

图42:黄豆质体原卟啉原IX氧化酶GmcPPX2-Gm10G27890的氨基酸序列(SEQ ID NO:42)

```
   1 ATGGTTTCCG TCTTCAACGA GATCCTATTC CCGCCGAACC AAACCCTTCT TCGCCCCTCC
  61 CTCCATTCCC CAACCTCTTT CTTCACCTCT CCCACTCGAA AATTCCCTCG CTCTCGCCCT
 121 AACCCTATTC TACCCTGCTC CATTCCCGAG GAATCCACCC CCTCTCCGCC CAAAACCAGA
 181 GACTCCGCCC CCGTGGACTG CGTCGTCGTC GGCGCAGGCC TCAGCGGCCT CTGCATCGCC
 241 CAGGCCCTCC CCACCAAACA CGCCAATGCC AACGTCGTCG TCACCGAGGC CCGAGACCGC
 301 GTCGGCGGCA ACATCACCAC GATCGAGAGG GACGGATACC TCTGGGAAGA AGGCCCCAAC
 361 AGCTTCCAGC CTTCTGATCC AATGCTCACC ATGGTGGTGG ACAGTGGTTT AAAGGATGAG
 421 CTTGTTTTGG GGGATCCTGA TGCACCTCGG TTTGTGTTAT GGAACAGGAA GTTGAGGCCG
 481 GTGCCCCCGA AGCTGACTGA TTTGCCTTTC TTTGACTTGA TGAGCATTGG TGGCAAAATC
 541 ACGGCTGGCT TTGGTGCGCT TGGAATTCGG CCTCCTGCCC CAGCTCATGA GGAATCGGTT
 601 GAAGAGTTTG CTCGTCGGAA CCTTGGTGAT GAGGTTTTTG AACGCTTGAT AGAGCCTTTT
 661 TGTTCAGGGG TCTATGCAGG CGATCCTTCA AAATTAAGCA TGAAAGCAGC ATTCGGAAAA
 721 GTTTGGAAGC TGGAAAAAAA TGGTGGTAGC ATTATTGGTG GAACTTTCAA AGCAATACAA
 781 GAGAGAAATG GAGCTTCAAA ACCACCTCGA GATCCGCGTC TGCCAAAACC AAAAGGTCAG
 841 ACTGTTGTGA TCTTTCCGGA GGGACTTACC ATGTTGCCTG ATGCAATTTC TGCCAGACTA
 901 GGCAACAAAG CAAAGTTATC TTGGAAGCTC TCAACTATTA GTAAACTGGA TAGTGGAGAG
 961 TACAGTTTGA CATATGAAAC ACCAGAAGGA GTGGTTTCTT TGCAGTGCAA AACTGTTGTC
1021 CTGACCATTC CTTCCTATGT TGCTAGTACA TTGCTGCGTC CTCTGCCTGC TGCTGCTGCA
1081 GATGCACTTT CAAAGTTTTA TAACCCTCCA GTTCCTGCAG TTTCCATATC CTATCCAAAA
1141 GAAGCTATTA GATCAGAATG CTTGATAGAT GGTGAGTTGA AGGGGTTTGG TCAATTGCAT
1201 CCACGTAGCC AAGGAGTGGA AACATTAGGA ACTATATACA GCTCACCACT ATTCCCCAAC
1261 CGAGCACCAC CTGGAAGGGT TCTACTCTTG AATTACATTG GAGGAGCAAC TAATACTGGA
1321 ATTTTATCGA AGACGGACAG TGAACTTGTG GAAACAGTTG ATCCAGATTT GAGGAAAATC
1381 CTTATAAACC CAAATGCCCA GGATCCATTT GTAGTGGGGG TGAGACTGTG GCCTCAAGCT
1441 ATTCCACAGT TCTTAGTTGG CCATCTTGAT CTTCTAGATG TTGCTAAAGC TTCTATCAGA
1501 AATACTGGGT TTGAAGGCCT CTTCCTTGGG GGTAATTATG TGTCTGGCGT GGCCTTCGCA
1561 CGATGCGTTG AGGGAGCCTA TGAGGTAGCA GCTGAAGTAA ACGATTTTCT CACAAATAGA
1621 CTCTACAAAT AG
```

图43:黄豆质体原卟啉原IX氧化酶GmcPPX2-Gm10G27890的核苷酸序列(SEQ ID NO:43)

```
   1 MASSATDDNP RSVERVAVVG AGVSGLAAAY KLKSHGLDVT VFEAEGRAGG KLRSVSQDGL
  61 TWDEGANTMT ESEIEVKGLI DALGLQEEQQ FPISQHKRYI VKNGAPLLVP TNPAALLKSK
 121 LLSAQSKIKL IFEPFMWKRS DPSNVCDENS VESVGRFFSR HFGKEVVDYL IDPFVGGTSA
 181 ADPESLSMKH SFPELWNLEK RFGSIIAGAL QSKLFAKNSK TGSNRTALEK NKHFRGSFSF
 241 QGGMQTLSDT LCKELGKDDL KLKEEVLTLA YGHDGSSSSQ NWSITSASNQ STQDVDAVIM
 301 TNLKYLGHSL RNGQAPLYNV KDIKITKRGT SFPPLNFLPE SYVPISVMIT TFKEREVKRP
 361 LEGFGVLVPS KEQKNGLATL GTLFSSMMFP DRAPSDLYLY TTFIGGTQNR ELAQASTDEL
 421 RKIVTSDLRK LLGAEGEPTF VNHFYWGKGF PLYGRNYGSV LQAIDKIEKD LPGFFFAGNY
 481 KGGLSVGKAI ASGCKAADLV ISYLNSASKM TVPDK
```

图44:黄豆线粒体原卟啉原IX氧化酶GmmPPX-Gm19g25100的氨基酸序列(SEQ ID NO:44)

```
  1 ATGGCTTCCT CTGCAACAGA CGATAACCCA AGATCTGTAA AAAGAGTAGC TGTTGTTGGT
 61 GCTGGGGTAA GTGGGCTTGC TGCGGCTTAC AAATTGAAAT CACATGGTCT CGATGTCACT
```

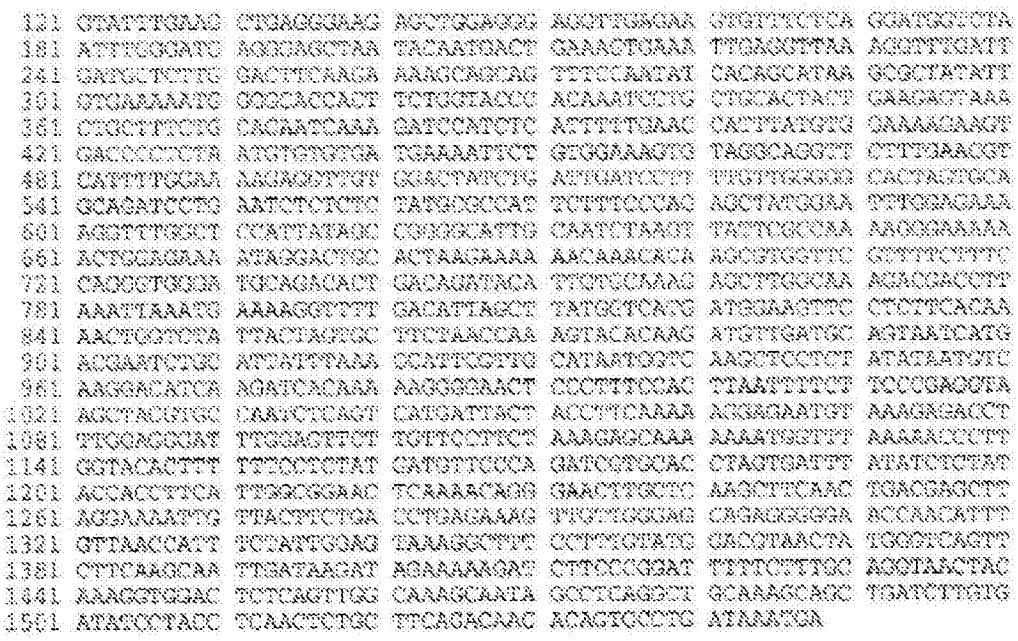
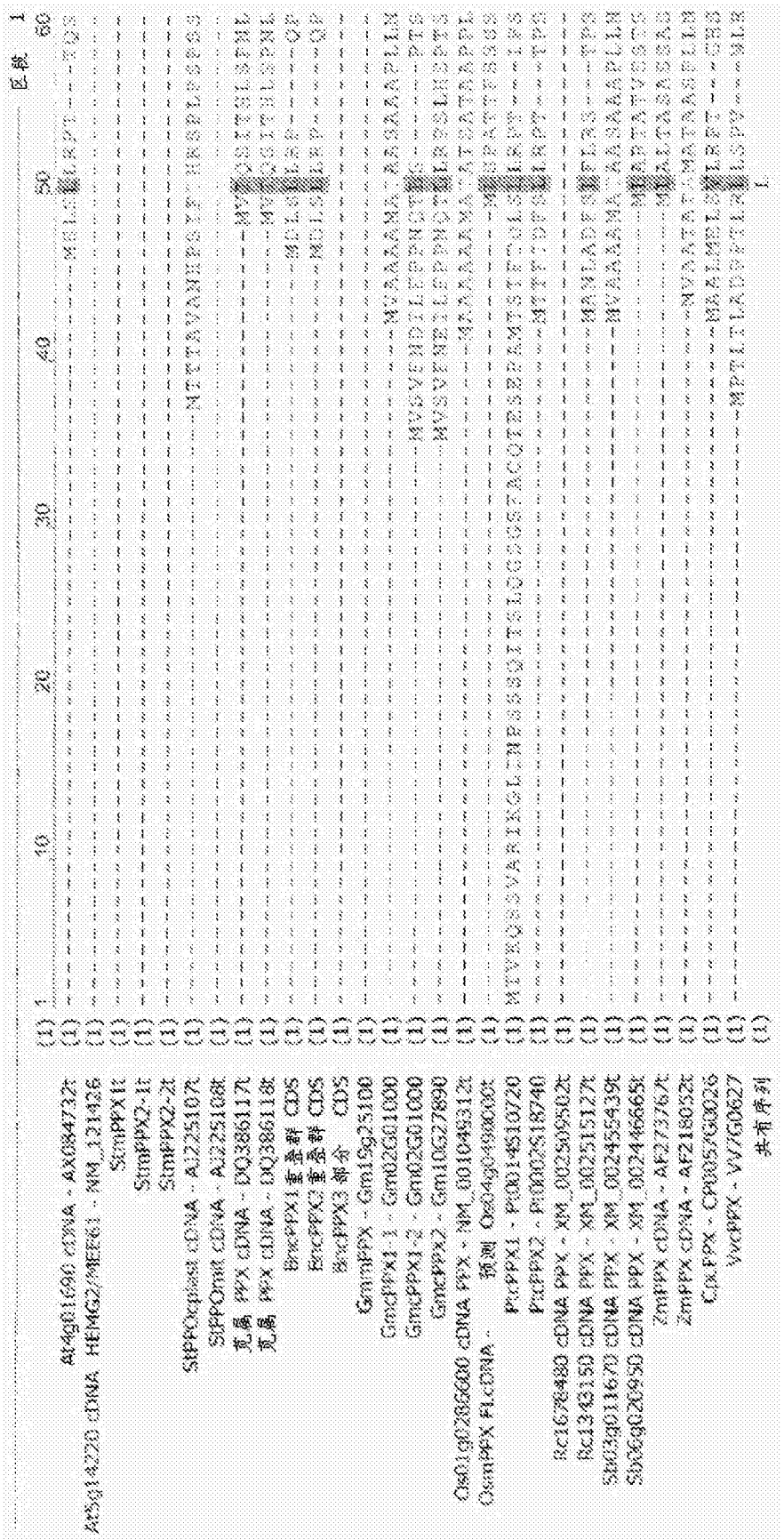
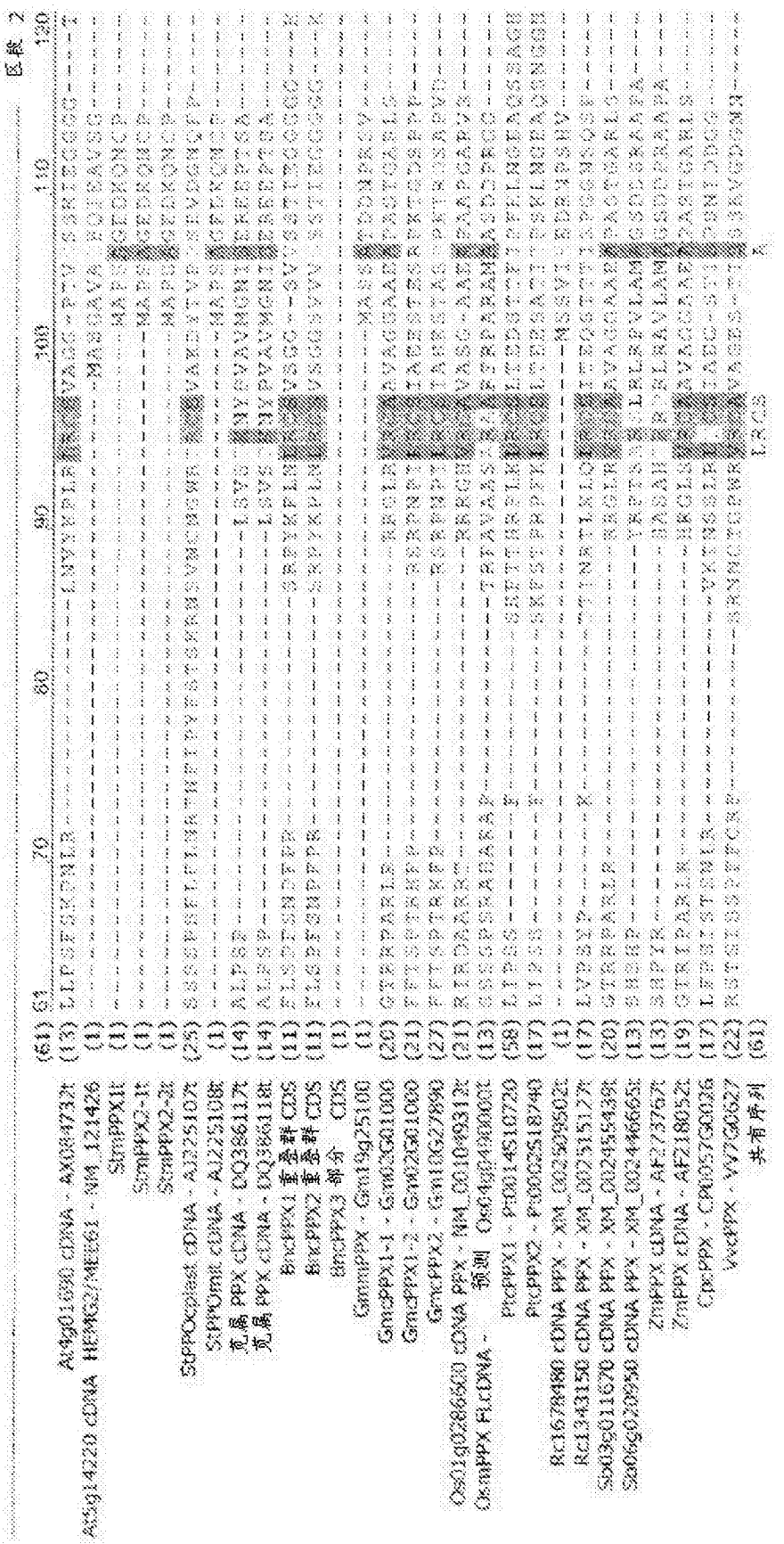
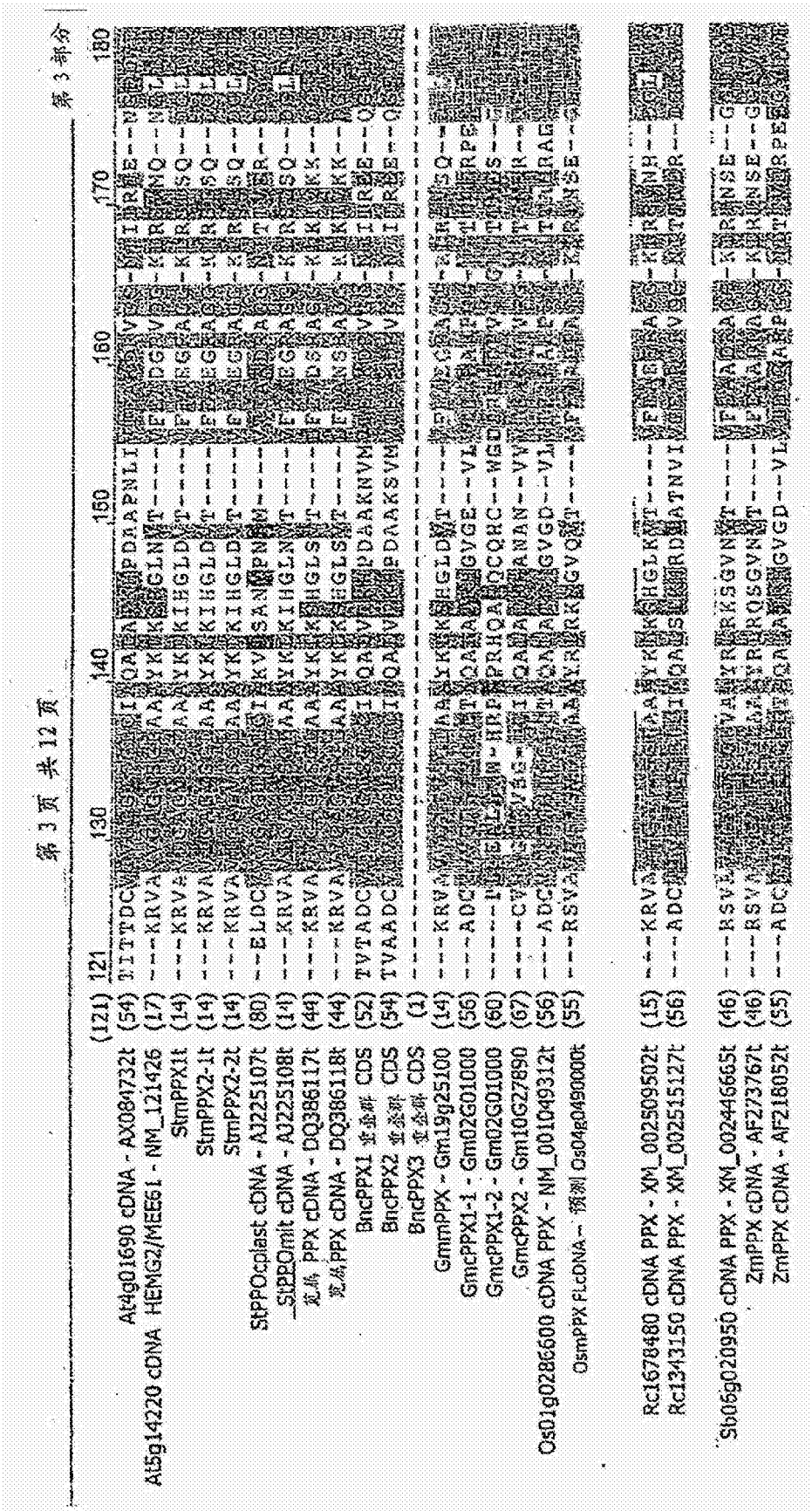
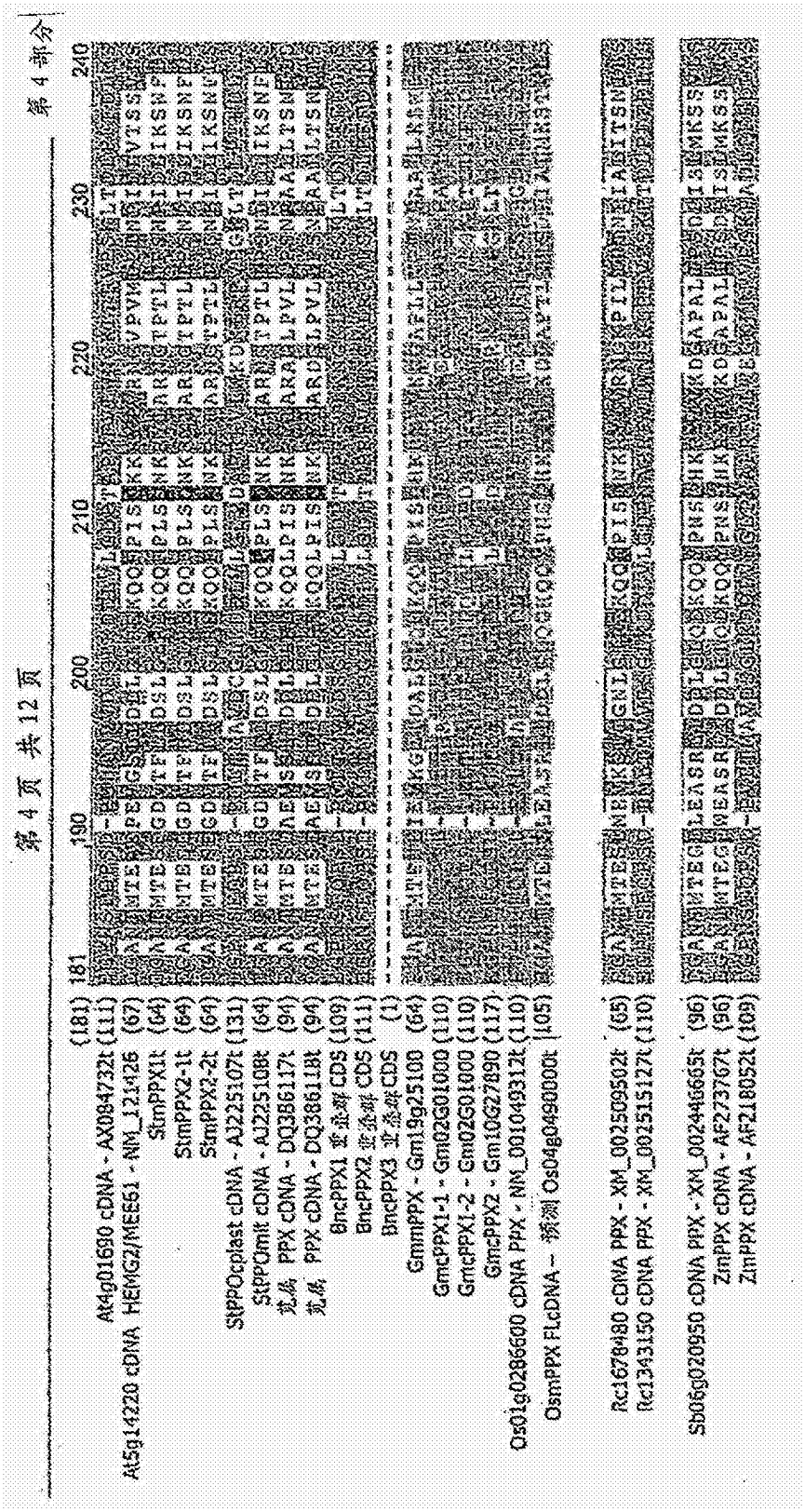


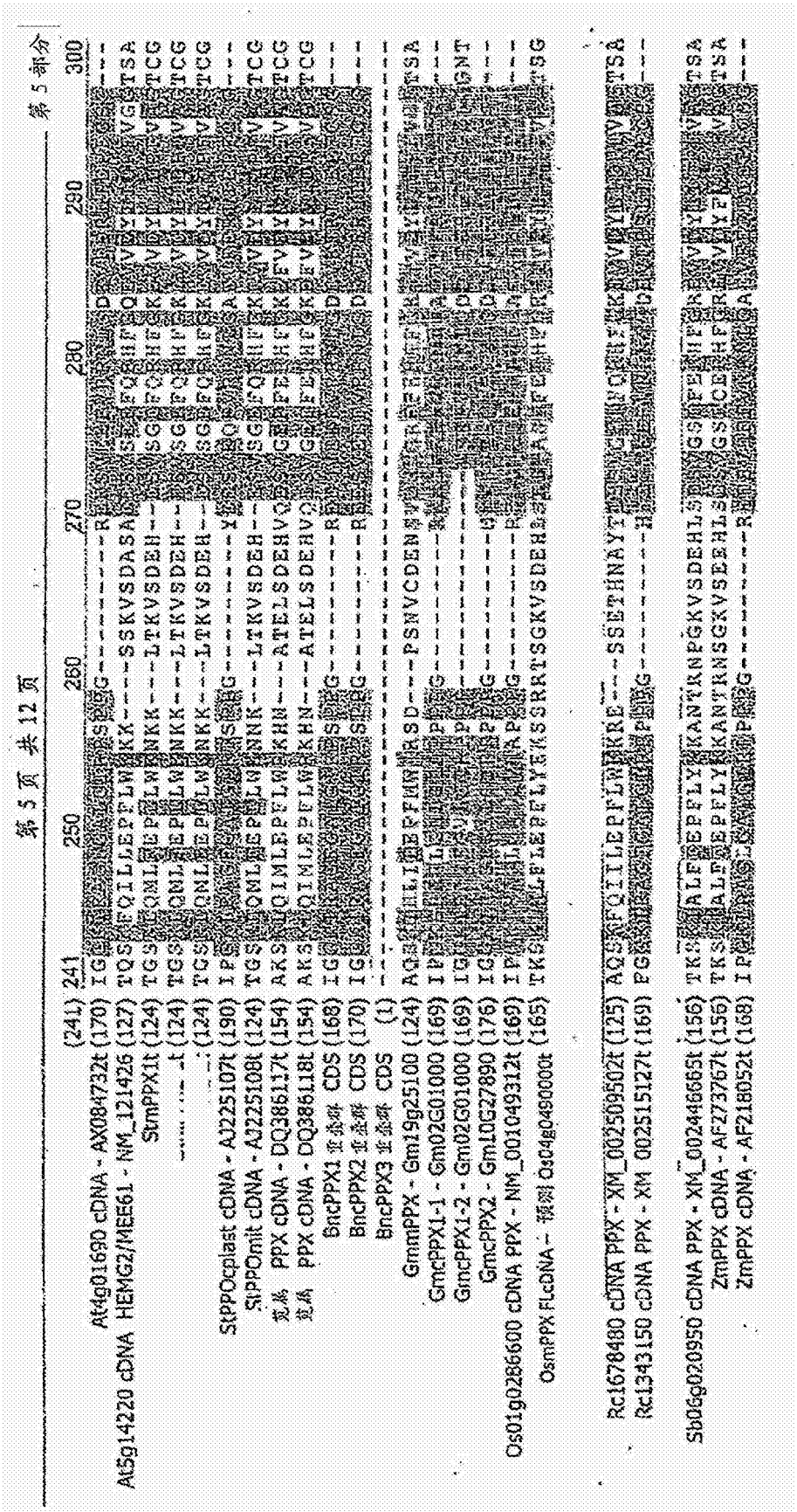
图45:黄豆线粒体原卟啉原IX氧化酶GmmPPX-Gm19gd25100的核苷酸序列(SEQ ID NO:45)

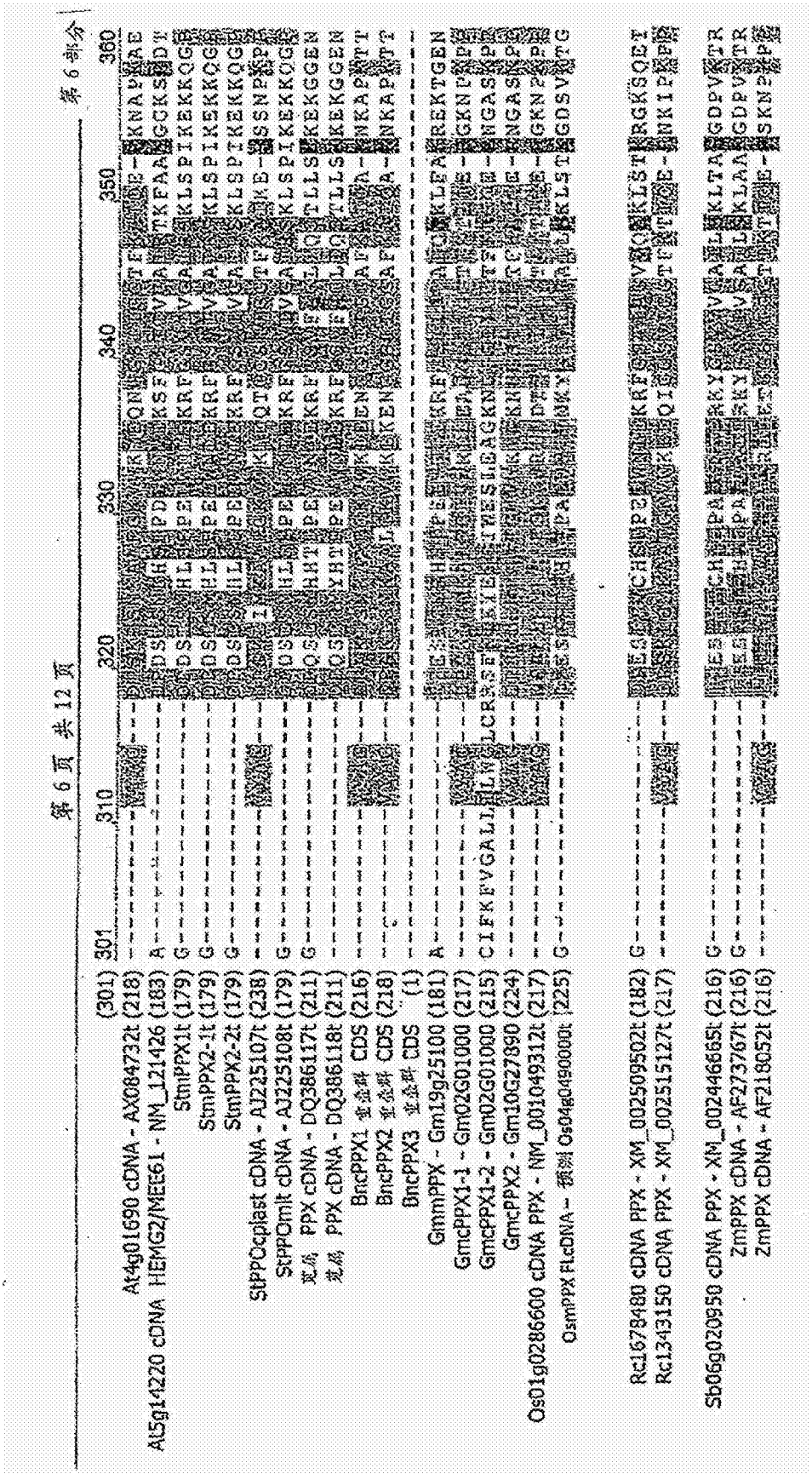


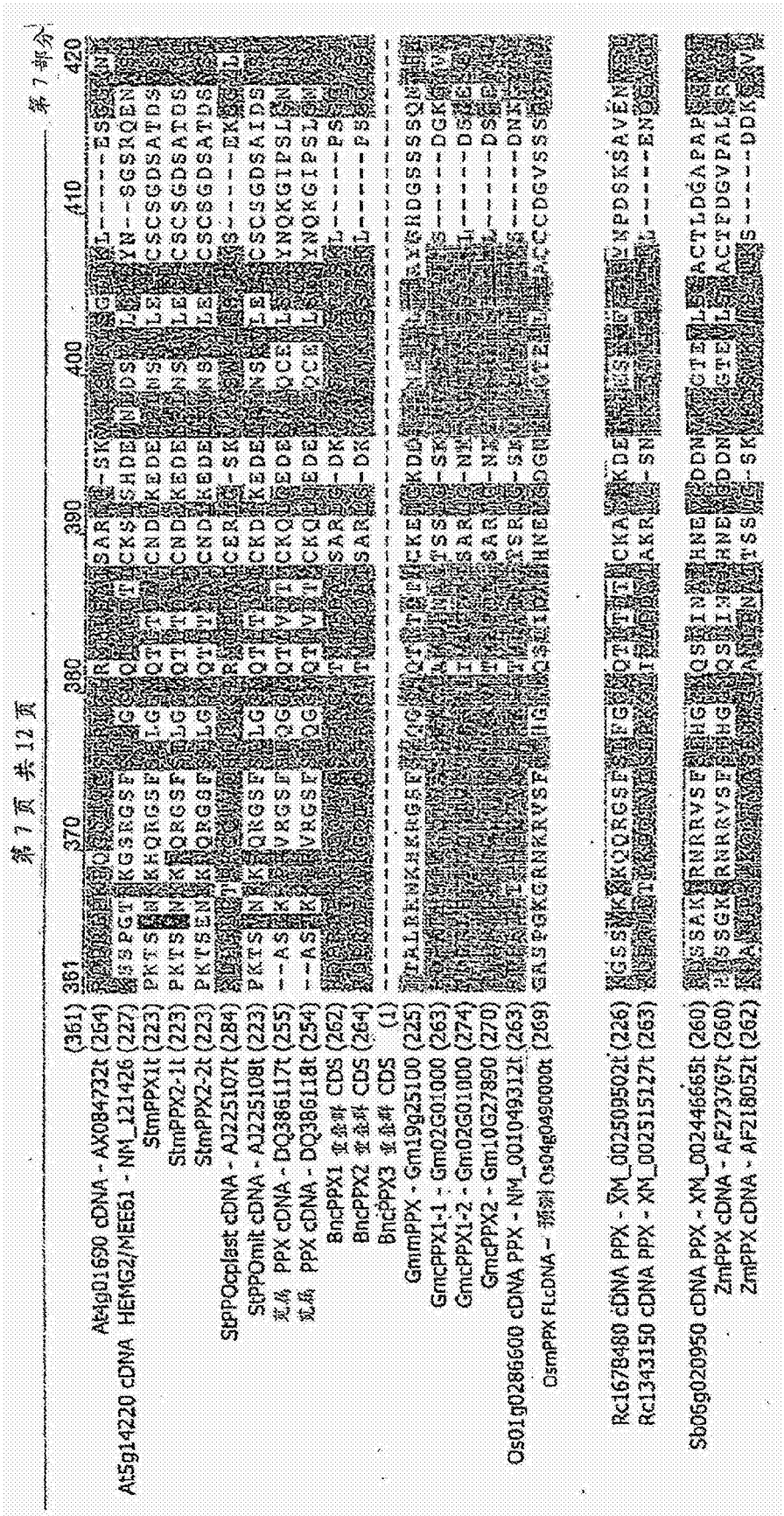


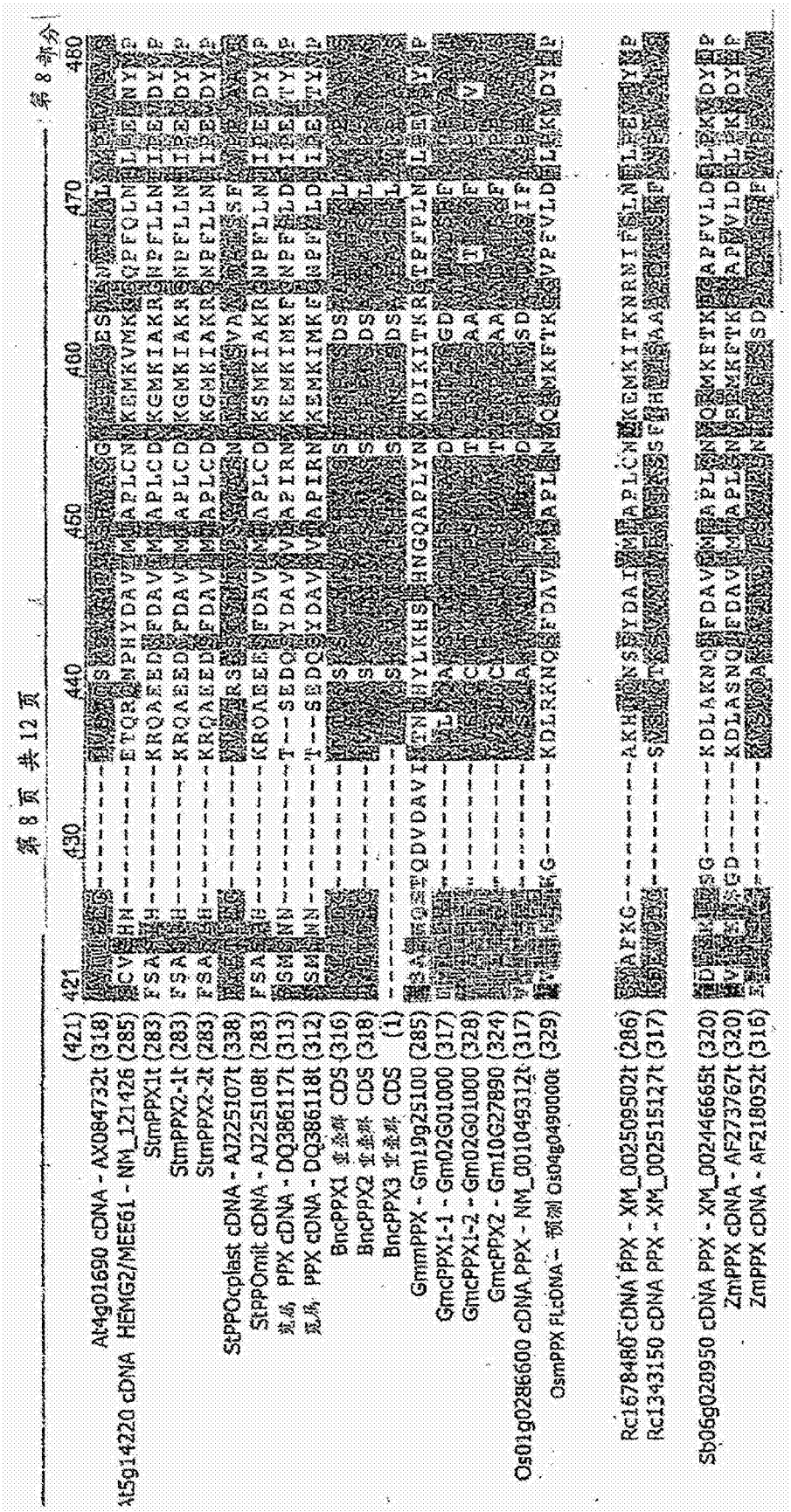


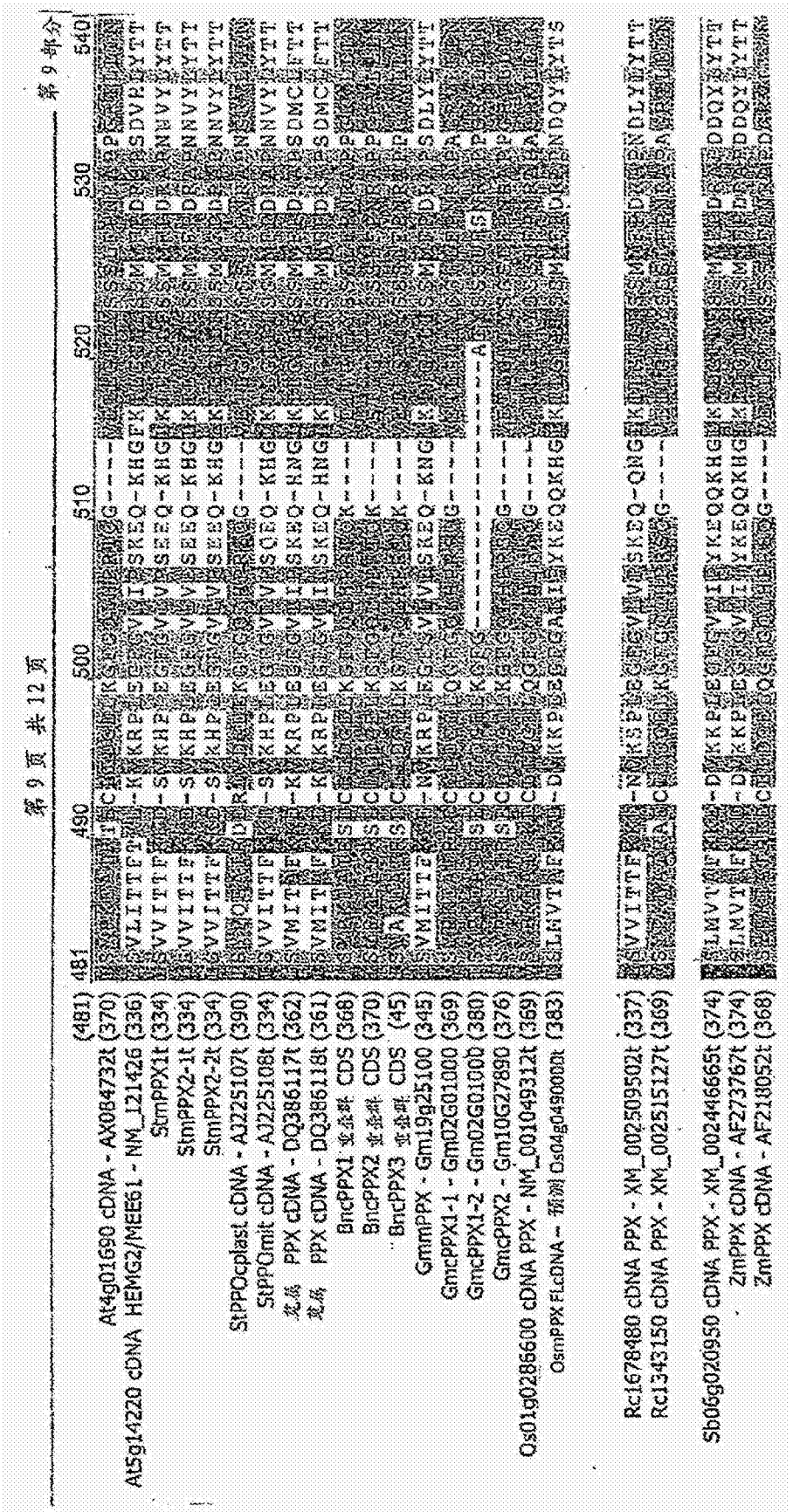

第 4 页 共 12 页
第 4 部分
(181) 181 190 200 210 220 230 240
At4g01690 cDNA - AX084732t (111)
At5g14220 cDNA HEMG2/MEE61 - NM_121426 (67)
StmPPX1t (64)
StmPPX2-1t (64)
StmPPX2-2t (64)
StPPOcplast cDNA - AJ225107t (131)
StPPOmit cDNA - AJ225108t (64)
拟南 PPX cDNA - DQ386117t (94)
拟南 PPX cDNA - DQ386118t (94)
BncPPX1 甘蓝型 CDS (109)
BncPPX2 甘蓝型 CDS (111)
BncPPX3 甘蓝型 CDS (1)
GmmPPX - Gm19g25100 (64)
GmcPPX1-1 - Gm02G01000 (110)
GmcPPX1-2 - Gm02G01000 (110)
GmcPPX2 - Gm10G27890 (117)
Os01g0286600 cDNA PPX - NM_001049312t (110)
OsmPPX FLcDNA – 预测 Os04g0490000t (105)
Rc1678480 cDNA PPX - XM_002509502t (65)
Rc1343150 cDNA PPX - XM_002515127t (110)
Sb06g020950 cDNA PPX - XM_002446665t (96)
ZmPPX cDNA - AF273767t (96)
ZmPPX cDNA - AF218052t (109)

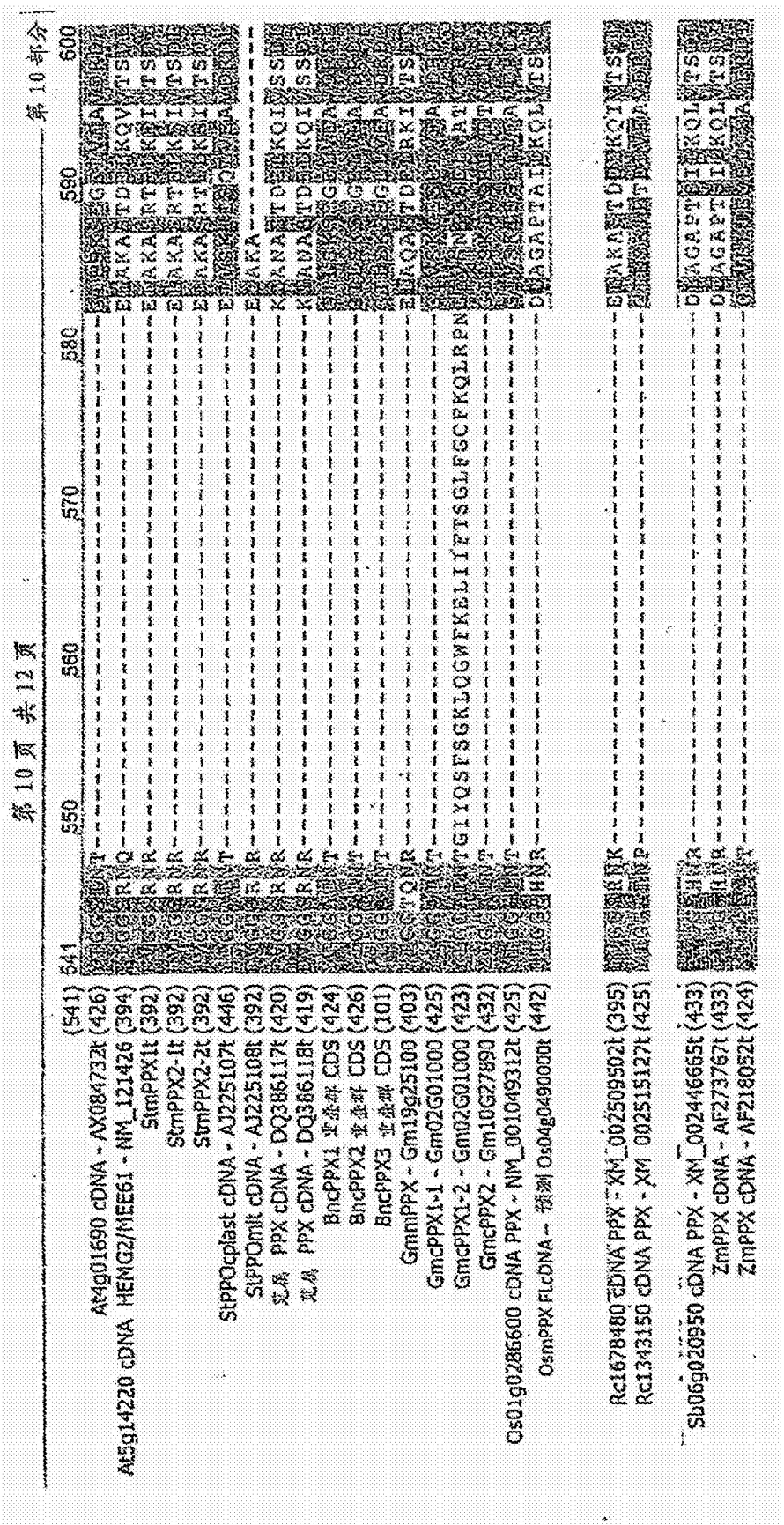

第 5 部分
第 5 页 共 12 页
241
250
260
270
280
290
300
(241)
At4g01690 cDNA - AX084732t (170)
At5g14220 cDNA HEMG2/MEE61 - NM_121426 (127)
StmPPX1t (124)
(124)
(124)
StPPOcplast cDNA - AJ225107t (190)
StPPOmit cDNA - AJ225108t (124)
观点 PPX cDNA - DQ386117t (154)
观点 PPX cDNA - DQ386118t (154)
GmcPPX1 重复项 CDS (168)
BncPPX2 重复项 CDS (170)
BncPPX3 重复项 CDS (1)
GmmPPX - Gm19g25100 (124)
GmcPPX1-1 - Gm02G01000 (169)
GmcPPX1-2 - Gm02G01000 (169)
GmcPPX2 - Gm1OG27890 (176)
Os01g0286600 cDNA PPX - NM_001049312t (169)
OsmPPX FLcDNA - 预测 Os04g0490000t (165)
Rc1678480 cDNA PPX - XM_002509502t (125)
Rc1343150 cDNA PPX - XM 002515127t (169)
Sb06g020950 cDNA PPX - XM_002446665t (156)
ZmPPX cDNA - AF273767t (156)
ZmPPX cDNA - AF218052t (168)

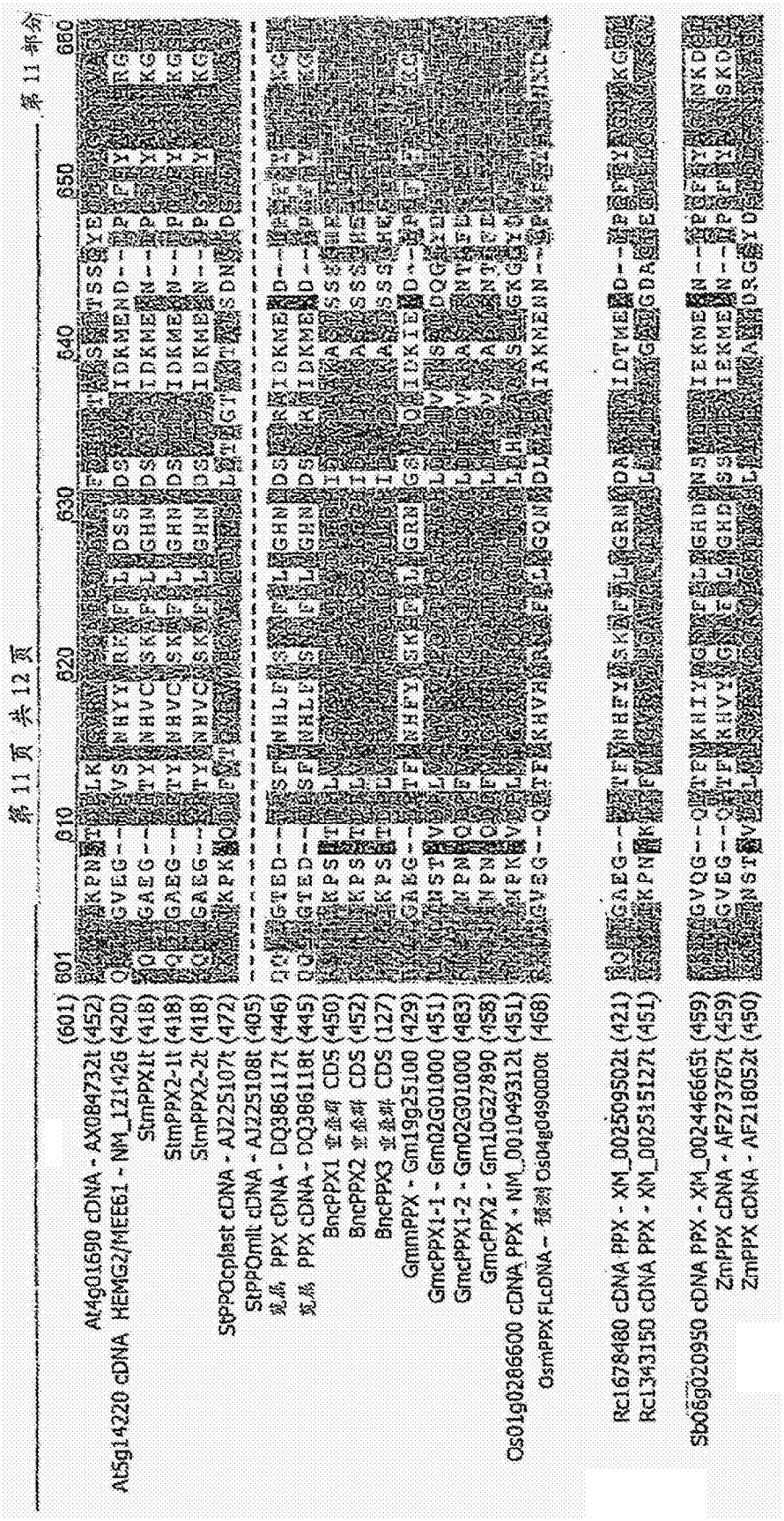

第 6 页 共 12 页
第 6 部分
310
320
330
340
350
360
(301)
(218)
(183)
(179)
(179)
(179)
(238)
(179)
(211)
(211)
(216)
(218)
(1)
(181)
(217)
(215)
(224)
(217)
(225)
(182)
(217)
(216)
(216)
(216)
At4g01690 cDNA - AX084732t
At5g14220 cDNA HEMG2/MEE61 - NM_121426
StmPPX1t
StmPPX2-1t
StmPPX2-2t
StPPOcplast cDNA - AJ225107t
StPPOmit cDNA - AJ225108t
番茄 PPX cDNA - DQ386117t
龙爪 PPX cDNA - DQ386118t
BncPPX1 重金属 CDS
BncPPX2 重金属 CDS
BncPPX3 重金属 CDS
GmmPPX - Gm19g25100
GmcPPX1-1 - Gm02G01000
GmcPPX1-2 - Gm02G01000
GmcPPX2 - Gm10G27890
Os01g0286600 cDNA PPX - NM_001049312t
OsmPPX FLcDNA— 假测 Os04g0490000t
Rc1678480 cDNA PPX - XM_002509502t
Rc1343150 cDNA PPX - XM_002515127t
Sb06g020950 cDNA PPX - XM_002446665t
ZmPPX cDNA - AF273767t
ZmPPX cDNA - AF218052t






第 9 部分
第 9 页 共 12 页
481
490
500
510
520
530
540
(481)
At4g01690 cDNA - AX084732t (370)
At5g14220 cDNA HEMG2/MEE61 - NM_121426 (336)
StmPPX1t (334)
StmPPX2-1t (334)
StmPPX2-2t (334)
StPPOcplast cDNA - AJ225107t (390)
StPPOmit cDNA - AJ225108t (334)
龙葵 PPX cDNA - DQ386117t (362)
龙葵 PPX cDNA - DQ386118t (361)
BncPPX1 甘蓝型 CDS (368)
BncPPX2 甘蓝型 CDS (370)
BncPPX3 甘蓝型 CDS (45)
GmmPPX - Gm19g25100 (345)
GmcPPX1-1 - Gm02G01000 (369)
GmcPPX1-2 - Gm02G01000 (380)
GmcPPX2 - Gm10G27890 (376)
Os01g0286600 cDNA PPX - NM_001049312t (369)
OsmPPX FLcDNA -- 预测 Os04g0490000t (383)
Rc1678480 cDNA PPX - XM_002509502t (337)
Rc1343150 cDNA PPX - XM_002515127t (369)
Sb06g020950 cDNA PPX - XM_002446665t (374)
ZmPPX cDNA - AF273767t (374)
ZmPPX cDNA - AF218052t (368)


第 10 部分
第 10 页 共 12 页
541
550
560
570
580
590
600
(541)
At4g01690 cDNA - AX084732t (426)
At5g14220 cDNA HEMG2/MEE61 - NM_121426 (394)
StmPPX1t (392)
StmPPX2-1t (392)
StmPPX2-2t (392)
StPPOplast cDNA - AJ225107t (446)
StPPOmit cDNA - AJ225108t (392)
拟南 PPX cDNA - DQ386117t (420)
拟南 PPX cDNA - DQ386118t (419)
BnPPX1 甘蓝种 CDS (424)
BnPPX2 甘蓝种 CDS (426)
BnPPX3 甘蓝种 CDS (101)
GmmPPX - Gm19g25100 (403)
GmPPX1-1 - Gm02G01000 (425)
GmPPX1-2 - Gm02G01000 (423)
GmPPX2 - Gm10G27890 (432)
Os01g0286600 cDNA PPX - NM_001049312t (425)
OsmPPX FLcDNA -- 预测 Os04g0490000t (442)
Rc1678480 cDNA PPX - XM_002509502t (395)
Rc1343150 cDNA PPX - XM_002515127t (425)
Sb06g020950 cDNA PPX - XM_002446665t (433)
ZmPPX cDNA - AF273767t (433)
ZmPPX cDNA - AF218052t (424)



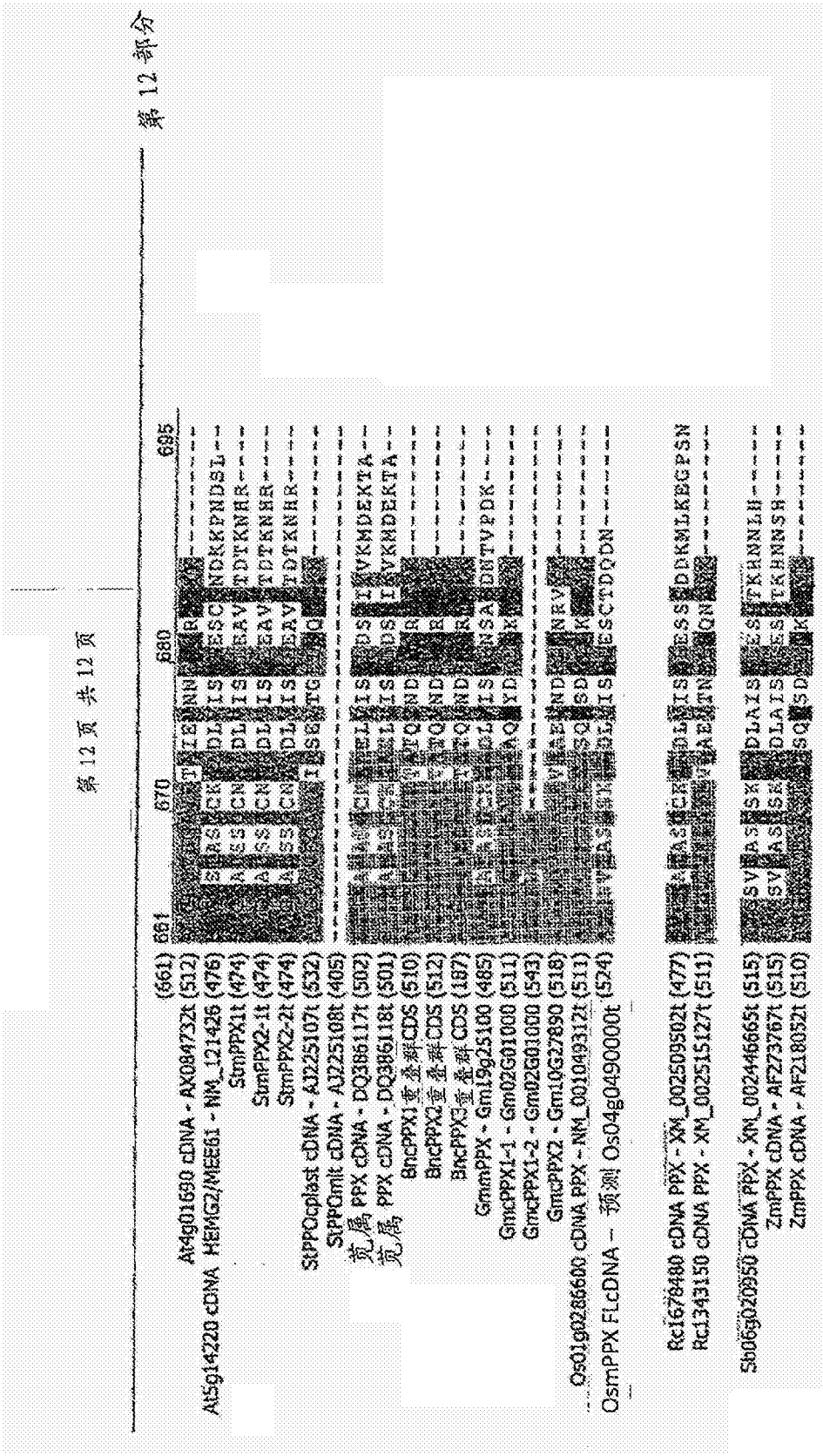

第 12 部分
第 12 页 共 12 页
661
670
680
685
(661)
At4g01690 cDNA - AX084732t (512)
At5g14220 cDNA HEMG2/MEE61 - NM_121426 (476)
SmPPX1t (474)
SmPPX2-1t (474)
SmPPX2-2t (474)
SlPPCcplast cDNA - AJ225107t (532)
SlPPCmit cDNA - AJ225108t (405)
苋属 PPX cDNA - DQ386117t (502)
苋属 PPX cDNA - DQ386118t (501)
BnPPX1查多群CDS (510)
BnPPX2查多群CDS (512)
BnPPX3查多群CDS (187)
GmmPPX - Gm19g25100 (485)
GmPPX1-1 - Gm02G01000 (511)
GmPPX1-2 - Gm02G01000 (543)
GmPPX2 - Gm10G27890 (518)
Os01g0286600 cDNA PPX - NM_001049312t (511)
OsmPPX FLcDNA – 预测 Os04g0490000t (524)
Rc1678480 cDNA PPX - XM_002509502t (477)
Rc1343150 cDNA PPX - XM_002515127t (511)
Sb06g020950 cDNA PPX - XM_002446665t (515)
ZmPPX cDNA - AF273767t (515)
ZmPPX cDNA - AF218052t (510)

图46

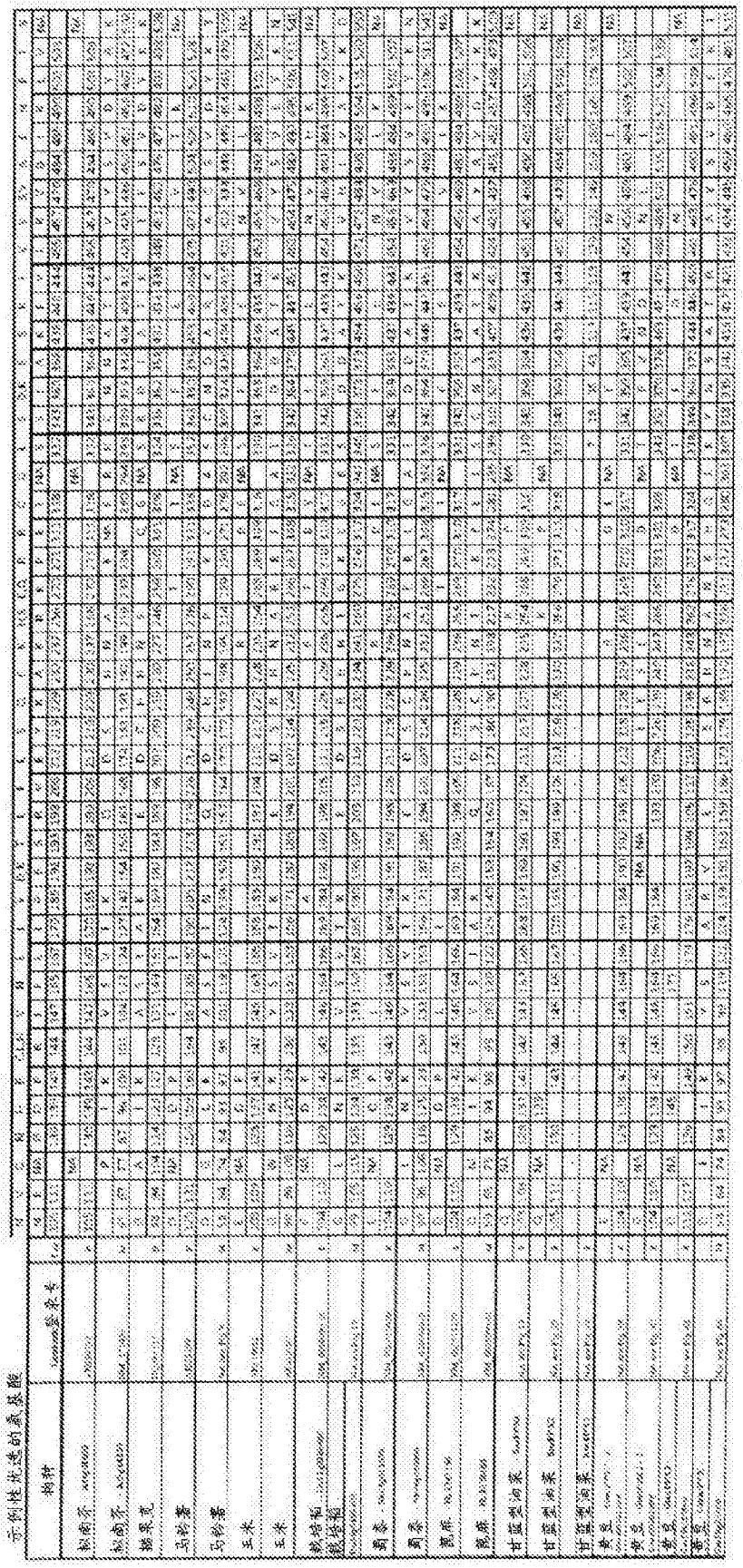


图47

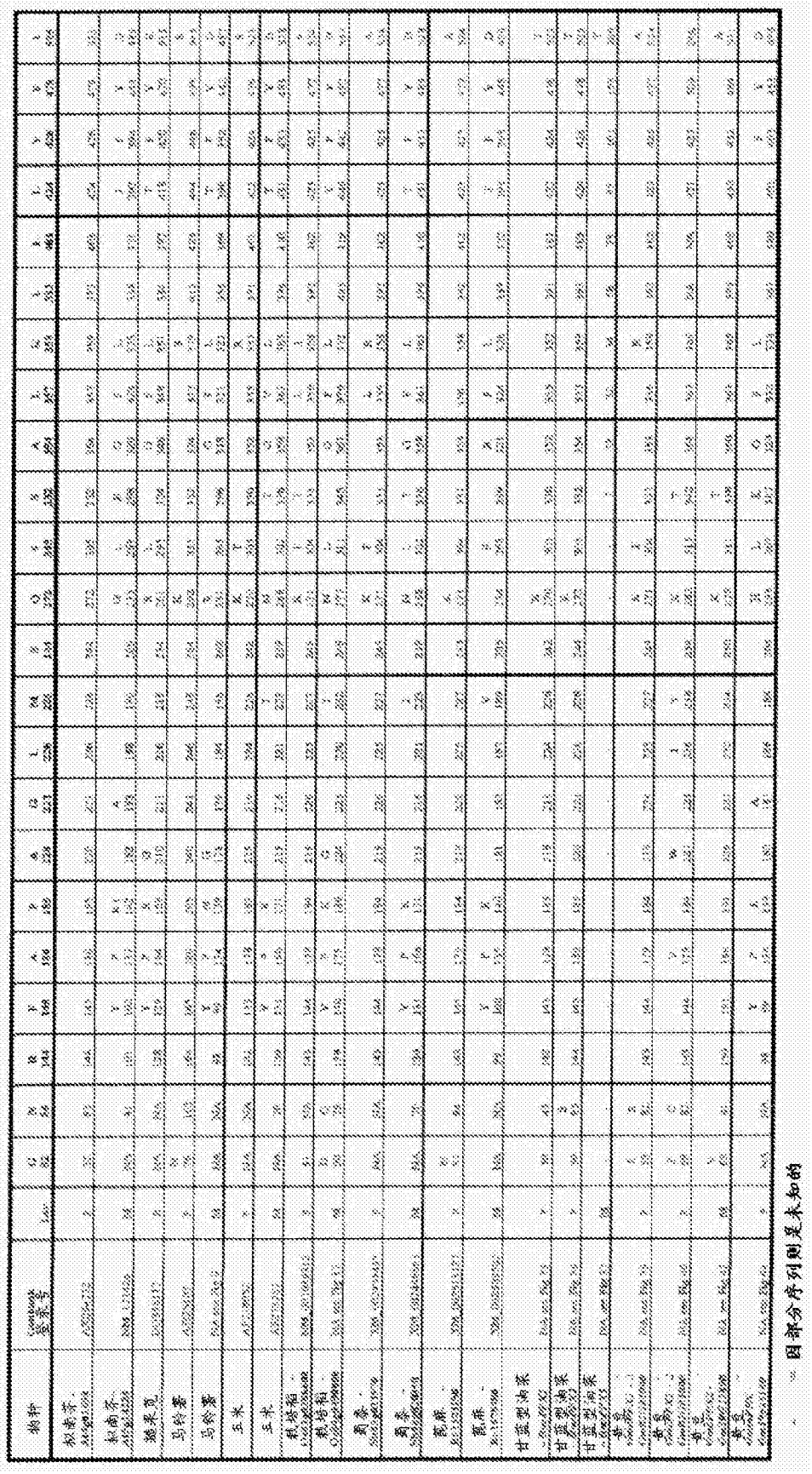


图48