



(51) МПК

A01H 5/00 (2006.01)*C07K 14/195* (2006.01)*C07K 16/12* (2006.01)*C12N 15/31* (2006.01)*C12N 15/82* (2006.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ,
ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(12) ЗАЯВКА НА ИЗОБРЕТЕНИЕ(21), (22) Заявка: **2008148945/13**, 11.05.2007(30) Конвенционный приоритет:
12.05.2006 US 60/747,151(43) Дата публикации заявки: **20.06.2010** Бюл. № 17(85) Дата перевода заявки РСТ на национальную
фазу: **12.12.2008**(86) Заявка РСТ:
AU 2007/000640 (11.05.2007)(87) Публикация РСТ:
WO 2007/131276 (22.11.2007)

Адрес для переписки:
**129090, Москва, ул.Б.Спасская, 25, стр.3,
ООО "Юридическая фирма Городисский и
Партнеры", пат.пов. А.В.Мицу, рег.№ 364**

(71) Заявитель(и):

**КОММОНВЕЛТ САЙЕНТИФИК ЭНД
ИНДАСТРИАЛ РИСЕРЧ
ОРГАНИЗЕЙШН (AU),
ГРЕЙНЗ РИСЕРЧ ЭНД ДИВЕЛОПМЕНТ
КОРПОРЕЙШН (AU)**

(72) Автор(ы):

**ХАРТЛИ Кэрол Дж. (AU),
ДОРРИАН Сузан Дж. (AU),
БРИГГС Линдэлл Дж. (AU),
УИЛЛЬЯМЗ Мишель Р. (AU),
РАССЕЛЛ Робин Дж. (AU),
ОУКСХОТТ Джон Г. (AU)**

(54) ФЕРМЕНТЫ ДЛЯ ДЕГРАДАЦИИ ГЕРБИЦИДОВ**(57) Формула изобретения**

1. Трансгенное растение, содержащее экзогенный полинуклеотид, кодирующий по меньшей мере один полипептид, обладающий одним или несколькими из следующих свойств:

i. расщепляет аминокислотный гербицид и включает последовательность выбранную из

а) аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:1, и

б) аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 25% идентична а),

i) расщепляет глифосат до получения глицина,

ii) расщепляет связь фосфометил-С-3-углерод - азот глифосата,

iii) имеет более высокую эффективность в отношении расщепления глифосата, чем GOX (SEQ ID NO:3), и/или

iv) имеет удельную активность в отношении расщепления глифосата, которая больше 550 мкмоль/мин/мг.

2. По существу, очищенный полипептид, обладающий одним или несколькими из следующих свойств:

i. расщепляет аминокислотный гербицид и включает последовательность выбранную из

- а) аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:1, и
б) аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 25% идентична а),
и)
i) расщепляет глифосат до получения глицина,
ii) расщепляет связь фосфонометил-С-3-углерод - азот глифосата,
iii) имеет более высокую эффективность в отношении расщепления глифосата, чем GOX (SEQ ID NO:3), и/или
iv) имеет удельную активность в отношении расщепления глифосата, которая больше 550 мкмоль/мин/мг.

3. Полипептид по п.2, который является слитым по меньшей мере с одним другим полипептидом.

4. Выделенный полинуклеотид, содержащий нуклеотиды, имеющие последовательность, выбранную из:

- i) SEQ ID NO:2,
ii) последовательности нуклеотидов, кодирующей полипептид по п.2 или 3,
iii) последовательности нуклеотидов, которая по меньшей мере на 25% идентична i),
iv) последовательности нуклеотидов, которая гибридизуется с i) при условиях низкой строгости,
v) последовательности нуклеотидов, комплементарной i)-iv).

5. Рекомбинантный полинуклеотид, содержащий промотор, который функционирует в клетке растения, функционально связанный со структурной ДНК-последовательностью, которая кодирует полипептид по п.2 или 3, функционально связанной с 3'-последовательностью полиаденилирования, которая функционирует в этой клетке, причем этот промотор является гетерологичным относительно этой структурной ДНК-последовательности и способен экспрессировать эту структурную ДНК-последовательность, для повышения устойчивости клетки к аминосодержащему гербициду.

6. Вектор, содержащий полинуклеотид по п.4 или 5.

7. Клетка-хозяин, содержащая по меньшей мере один полинуклеотид по п.4 или 5.

8. Рекомбинантная клетка, которая расщепляет глифосат и продуцирует глицин и/или содержит введенный полипептид, который расщепляет связь фосфонометил-С-3-углерод - азот глифосата.

9. Способ получения полипептида по п.2 или 3, предусматривающий культивирование клетки-хозяина, кодирующей указанный полипептид, или вектор, кодирующий указанный полипептид, при условиях, которые позволяют экспрессию полинуклеотида, кодирующего этот полипептид, и извлечение экспрессированного полипептида.

10. Выделенное антитело, которое специфически связывает полипептид по п.2.

11. Композиция, содержащая по меньшей мере один полипептид по п.2 или 3, по меньшей мере один полинуклеотид кодирующий указанный полипептид, вектор, содержащий указанный полипептид, клетку-хозяина и/или рекомбинантную клетку, продуцирующую указанный полипептид, и/или антитело, которое связывает указанный полипептид, и один или несколько приемлемых носителей.

12. Применение полипептида по п.2 или 3 или полинуклеотида, кодирующего указанный полипептид, в качестве селективируемого маркера для детектирования и/или отбора рекомбинантной клетки.

13. Способ детектирования рекомбинантной клетки, предусматривающий

- i) контактирование клетки или популяции клеток с полинуклеотидом, кодирующим полипептид по п.2 или 3, при условиях, которые позволяют поглощение этого полинуклеотида этой клеткой (клетками), и

ii) отбор рекомбинантной клетки подверганием клеток из стадии i), или их клеточных потомков, действию аминокислотосодержащего гербицида.

14. Трансгенное животное (не человек), содержащее экзогенный полинуклеотид, причем этот полинуклеотид кодирует по меньшей мере один полипептид по п.2 или 3.

15. Выделенный штамм *Arthrobacter* sp., депонированный под номером доступа V06/010960 11 апреля 2006 года в Национальном институте измерений в Австралии.

16. Экстракт клетки-хозяина, рекомбинантная клетка, трансгенное растение, трансгенное животное (не человек) или выделенный штамм *Arthrobacter* sp., содержащие полипептид по п.2 или 3.

17. Композиция для расщепления аминокислотосодержащего гербицида, причем эта композиция содержит штамм по п.15 и/или экстракт 16, и один или несколько приемлемых носителей.

18. Выделенная бактерия, которая продуцирует полипептид по п.2.

19. Применение выделенной природно-встречающейся бактерии, которая продуцирует полипептид по п.2, для расщепления аминокислотосодержащего гербицида.

20. Полимерная губка или пена для расщепления аминокислотосодержащего гербицида, причем эта пена или губка содержит полипептид по п.2 или 3, иммобилизованный на полимерном пористом носителе.

21. Способ расщепления аминокислотосодержащего гербицида, причем этот способ предусматривает контактирование аминокислотосодержащего гербицида с полипептидом по п.2 или 3, штаммом по п.15, экстрактом по п.16, и/или губкой или пеной по п.20.

22. Способ расщепления аминокислотосодержащего гербицида в образце, способ включающий обнаружение этого образца в трансгенном растении по п.1.

23. Часть трансгенного растения, включающая полипептид по п.2 или 3.

24. Способ получения полипептида с усиленной способностью расщеплять аминокислотосодержащий гербицид, предусматривающий

(i) изменение одной или нескольких аминокислот первого полипептида по п.2 или 3,

(ii) определение способности измененного полипептида, полученного из стадии (i), расщеплять аминокислотосодержащий гербицид, и

(iii) отбор измененного полипептида с усиленной способностью расщеплять аминокислотосодержащий гербицид, в сравнении с первым полипептидом.

25. Способ скрининга на микроорганизм, способный расщеплять аминокислотосодержащий гербицид, предусматривающий

i) культивирование кандидатного микроорганизма в присутствии

аминокислотосодержащего гербицида в качестве единственного источника азота и

ii) определение, способен ли этот микроорганизм к росту и/или делению.