

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **035397**

(13) **B1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента
2020.06.05

(51) Int. Cl. *A01H 5/00* (2006.01)

(21) Номер заявки
201390034

(22) Дата подачи заявки
2011.08.02

(54) **МУТАНТНЫЕ ГЕНЫ ПРОТОПОРФИРИНОГЕН IX ОКСИДАЗЫ (PPX)**

(31) **61/370,436**

(56) US-A1-20100100988
US-A1-20050081259
US-A1-20090205064

(32) **2010.08.03**

(33) **US**

(43) **2013.09.30**

(86) **PCT/US2011/046330**

(87) **WO 2012/018862 2012.02.09**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**СИБАС ЮС ЛЛС (US); СИБАС
ЮРОП Б.В. (NL)**

(72) Изобретатель:
**Гокал Грегори Ф.В., Битем Питер Р.,
Де Шопке Аура, Дамм Сара, Пирс
Джеймс, Шопке Кристиан, Волкер
Кейт А. (US)**

(74) Представитель:
Нилова М.И. (RU)

(57) Предложены композиции и способы, относящиеся к генным и/или белковым мутациям трансгенных или нетрансгенных растений. Согласно некоторым вариантам реализации изобретение относится к мутациям гена протопорфириногена IX (PPX). Согласно некоторым вариантам реализации изобретение относится к устойчивым к гербицидам растениям.

B1

035397

**035397
B1**

Область техники

Настоящее изобретение относится по меньшей мере отчасти к мутациям генов и/или белков растений.

Уровень техники

Следующее описание приведено исключительно для облегчения понимания настоящего изобретения и не предназначено для описания или представления известного уровня техники.

Известны примеры некоторых мутаций в генах PPX растений. Например, в патенте США № 5767373 описаны "эукариотические последовательности ДНК, кодирующие нативную протопорфириноген оксидазу (протокс) или модифицированные формы указанного фермента, толерантные к гербицидам"; в патенте США № 6282837 описаны "эукариотические последовательности ДНК, кодирующие нативную протопорфириноген оксидазу (протокс) или модифицированные формы указанного фермента, толерантные к гербицидам, и способ контролирования сорных растений с применением растений с измененной активностью протокса, придающей толерантность к гербицидам"; в патенте США № 6308458 описаны "способы контролирования роста нежелательной растительности, включающие применение эффективного количества протокс-ингибирующего гербицида к популяции трансгенных растений или семян растений, трансформированных последовательностью ДНК, кодирующей модифицированный протокс-фермент, толерантный к протокс-ингибирующему гербициду, или к локусу, где культивируется популяция указанных трансгенных растений или семян растений"; в патенте США № 6905852 описана "протопорфириноген оксидаза, толерантная к фотообесцвечивающему гербициду и его производным, содержащая полипептид с аминокислотной последовательностью, представленной SEQ ID NO: 2 [белок PPX], или мутантные пептиды, полученные из последней путем делеции, добавления, замены и т.д. одной или более аминокислоты вышеуказанной аминокислотной последовательности и обладающие активностью, по существу эквивалентной таковой протопорфириноген оксидазы"; в патенте США № описаны "способы придания устойчивости к протопорфириноген ингибирующим гербицидам сельскохозяйственным растениям. Устойчивость придают посредством генной инженерии указанных растений для экспрессирования ими клонированной ДНК, кодирующей протопорфириноген оксидазу, устойчивую к порфириновым гербицидам"; в опубликованной заявке на патент США № 20020086395 описан "способ оценки способности соединения ингибировать активность протопорфириноген оксидазы, который включает этапы (1) культивирования трансформанта, экспрессирующего ген протопорфириноген оксидазы, присутствующий во фрагменте ДНК, в среде, по существу не содержащей протогемных соединений в каждой сравнительной системе в присутствии и в отсутствие тестируемого соединения для оценки скорости роста указанного трансформанта при каждом условии; указанный трансформант происходит из хозяйской клетки с недостаточной способностью к росту на основе активности протопорфириноген оксидазы, трансформированной фрагментом ДНК, в котором промотор, способный функционировать в указанной хозяйской клетке, и ген протопорфириноген оксидазы функционально связаны; и (2) определения способности указанного соединения ингибировать активность протопорфириноген оксидазы путем сравнения скорости роста; и т.п."; у Patzoldt W.L., et al., PNAS USA, 103:12329-34 (2006) описано "делеция 3 п.о., соответствующих кодону G210" PPX; и у Li X., et al., Plant Physiology 133:736-47 (2003) описано "выделение растительных генов протопорфириноген оксидазы (PPO) и выделение устойчивых к гербицидам мутантов". Термины PPO и PPX используются в настоящем описании взаимозаменяемо.

Краткое описание изобретения

Настоящее изобретение относится по меньшей мере отчасти к способам и композициям в области мутаций генов и белков растений. Согласно некоторым аспектам вариантам реализации настоящее изобретение также может относиться к композициям и способам получения устойчивых к гербицидам растений. Способы и композиции, раскрытые в настоящем описании, относятся по меньшей мере отчасти к мутациям гена протопорфириноген IX оксидазы (PPX).

Согласно одному аспекту предложено(а) растение или растительная клетка, содержащее(ая) мутантный ген PPX. Согласно некоторым вариантам реализации указанный мутантный ген PPX кодирует мутантный белок PPX. Согласно некоторым вариантам реализации растение, содержащее растительную клетку, которая содержит мутантный ген PPX, может быть устойчиво к гербицидам, например устойчиво к ингибирующему PPX гербициду. Согласно некоторым вариантам реализации указанное растение или указанная растительная клетка являются нетрансгенными. Согласно некоторым вариантам реализации указанное растение или указанная растительная клетка являются трансгенными. В настоящем изобретении также предложены рекомбинантные векторы, содержащие такие мутантные гены PPX, а также трансгенные растения, содержащие такие мутантные гены PPX.

В настоящем описании термин "ген PPX" относится к последовательности ДНК, способной производить полипептид PPX, обладающий аминокислотной гомологией и/или идентичностью с последовательностью аминокислот SEQ ID NO: 1, и/или кодирует белок, проявляющий активность PPX. Согласно некоторым вариантам реализации указанный ген PPX на 70; 75; 80; 85; 90; 95; 96; 97; 98; 99 или на 100% идентичен конкретному гену PPX, например митохондриальным генам PPX Рассет Бербанк, например StmPPX1 или StmPPX2; или, например, пластидному гену PPX Рассет Бербанк, например StcPPX1. Согласно некоторым вариантам реализации указанный ген PPX на 60; 70; 75; 80; 85; 90; 95; 96; 97; 98; 99

или на 100% идентичен последовательности, выбранной из последовательностей на фиг. 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 41, 43 и 45. Согласно некоторым вариантам реализации ген PPX представляет собой митохондриальный ген PPX, например StmPPX1 или StmPPX2. Согласно некоторым вариантам реализации ген PPX представляет собой пластидный ген PPX, например StcPPX1. Согласно некоторым вариантам реализации ген PPX представляет собой аллель митохондриального гена PPX, например StmPPX2.1 или StmPPX2.2. Согласно некоторым вариантам реализации ген PPX представляет собой аллель пластидного гена PPX, например StcPPX1 или StcPPX1.1. У некоторых растений, таких как посконник коноплевый, белковый продукт одного гена PPX является и митохондриальным и пластидным согласно описанию у Patzoldt W.L., et al., PNAS USA, 103:12329-34 (2006).

В настоящем описании термин "мутация" относится к изменению по меньшей мере одного нуклеотида в последовательности нуклеиновой кислоты и/или изменению одиночной аминокислоты в полипептиде по сравнению с нормальной последовательностью, или последовательностью дикого типа, или эталонной последовательностью, например SEQ ID NO: 1 или SEQ ID NO: 2. Согласно некоторым вариантам реализации мутация относится к изменению по меньшей мере одного нуклеотида в последовательности нуклеиновой кислоты и/или изменению одной аминокислоты в полипептиде по сравнению с нуклеотидной или аминокислотной последовательностью белка PPX, не устойчивого к гербицидам. Согласно некоторым вариантам реализации мутация может включать замену, делецию, инверсию или вставку. Согласно некоторым вариантам реализации замена, делеция, вставка или инверсия могут включать изменение по 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23 или 24 нуклеотидам. Согласно некоторым вариантам реализации замена, делеция, вставка или инверсия могут включать изменение по 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 положениям аминокислот. Термин "нуклеиновая кислота" или "последовательность нуклеиновой кислоты" относится к олигонуклеотиду, нуклеотиду или полинуклеотиду и их фрагментам или частям, которые могут быть одноцепочечными либо двуцепочечными и представлять смысловую или антисмысловую нить. Нуклеиновая кислота может включать ДНК или РНК и может быть природного или синтетического происхождения. Например, нуклеиновая кислота может включать мРНК или кДНК. Нуклеиновая кислота может включать нуклеиновую кислоту, которая была амплифицирована (например, с применением полимеразной цепной реакции). Для указания мутации, приводящей к замене нуклеотида дикого типа NTwt в положении ### в нуклеиновой кислоте мутантным NTmut, используют выражение "NTwt###NTmut". Однобуквенный код для обозначения нуклеотидов соответствует описанному в "Руководстве по порядку патентной экспертизы патентного ведомства США" (U.S. Patent Office Manual of Patent Examining Procedure), раздел 2422, табл. 1. Соответственно, обозначение нуклеотида "R" означает пурин, такой как гуанин или аденин, "Y" означает пиримидин, такой как цитозин или тимин (урацил в случае РНК); "M" означает аденин или цитозин; "K" означает гуанин или тимин; и "W" означает аденин или тимин.

В настоящем описании термин "мутантный ген PPX" относится к гену PPX, содержащему одну или более мутаций по положениям нуклеотидов относительно эталонной последовательности нуклеиновой кислоты PPX. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный ген PPX содержит одну или более мутаций по сравнению с соответствующей последовательностью PPX дикого типа. В настоящем описании термин "дикий тип" может применяться для обозначения стандартной аллели в локусе либо аллели, встречающейся с наибольшей частотой в конкретной популяции. В некоторых случаях аллель дикого типа может быть представлена определенной аминокислотной или нуклеиново-кислотной последовательностью. Например, пластидный белок PPX картофеля дикого типа может быть представлен SEQ ID NO: 7. Например, митохондриальный белок PPX картофеля дикого типа может быть представлен SEQ ID NO: 9. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный ген PPX содержит одну или более мутаций по сравнению с эталонной последовательностью нуклеиновой кислоты PPX, например SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 41, 43 или 45; или в гомологичных положениях их паралогах. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный ген PPX модифицирован посредством по меньшей мере одной мутации. Согласно другим вариантам реализации мутантный ген PPX модифицирован посредством по меньшей мере двух мутаций. Согласно другим вариантам реализации мутантный ген PPX модифицирован посредством по меньшей мере трех мутаций. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный ген PPX кодирует мутантный белок PPX. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный ген PPX включает две или более мутации последовательности нуклеиновой кислоты, выбранные из табл. 2, 3А и 3В. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный ген PPX кодирует один или более мутантный митохондриальный белок PPX. Согласно другим вариантам реализации мутантный ген PPX кодирует один или более мутантный пластидный белок PPX. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный ген PPX представляет собой мутантный митохондриальный ген PPX, например мутантный StmPPX1. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный ген PPX представляет собой мутантный митохондриальный ген PPX, например мутантный StmPPX2. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный ген PPX представляет собой мутантный пластидный ген PPX, например мутантный StcPPX1. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный ген PPX представляет собой аллель мутантного митохондриального гена PPX, например мутантного StmPPX2.1 или мутантного StmPPX2.2. Согласно некоторым вариантам реализации

мутантный ген PPX представляет собой аллель мутантного пластидного гена PPX, например мутантного StcPPX1 или мутантного StcPPX1.1. Согласно некоторым вариантам реализации по меньшей мере одна мутация присутствует в пластидном гене PPX и по меньшей мере одна мутация присутствует в митохондриальном гене PPX. Согласно некоторым вариантам реализации одна или более мутаций в гене PPX приводят к гербицидоустойчивости, например устойчивости к ингибирующему PPX гербициду. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный ген PPX кодирует мутантный белок PPX, который повышает устойчивость к одному или более гербицидам по сравнению с эталонным белком PPX. Согласно некоторым вариантам реализации указанные мутации в мутантном гене PPX кодируют белок, содержащий комбинацию двух или более мутаций. Согласно некоторым вариантам реализации по меньшей мере одна мутация присутствует в пластидном гене PPX и по меньшей мере одна мутация присутствует в митохондриальном гене PPX. Согласно некоторым вариантам реализации указанные комбинации выбраны из табл. 4А и 4В. Согласно некоторым вариантам реализации указанные мутации в мутантный ген PPX кодируют белок, содержащий комбинацию трех или более мутаций, например комбинации, выбранные из табл. 4А и 4В. Согласно некоторым вариантам реализации указанная по меньшей мере одна мутация в пластидном гене PPX и указанная по меньшей мере одна мутация в митохондриальном гене PPX располагаются в одном и том же соответствующем положении. Согласно другим вариантам реализации указанная по меньшей мере одна мутация в пластидном гене PPX и указанная по меньшей мере одна мутация в митохондриальном гене PPX располагаются в разных соответствующих положениях.

В настоящем описании термин "белок PPX" относится к белку, который гомологичен и/или идентичен аминокислотным последовательностям белка PPX, 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 или 44; и/или проявляет активность PPX. Согласно некоторым вариантам реализации указанный белок PPX на 70; 75; 80; 85; 90; 95; 96; 97; 98; 99 или на 100% идентичен конкретному белку PPX, такому как, например, митохондриальный белок PPX Рассет Бербанк или пластидные белки PPX Рассет Бербанк. Согласно некоторым вариантам реализации белок PPX на 70; 75; 80; 85; 90; 95; 96; 97; 98; 99 или на 100% идентичен последовательности, выбранной из последовательностей на фиг. 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 40, 42 или 44. В настоящем описании термин "мутантный белок PPX" относится к белку PPX, содержащему одну или более мутаций по положениям аминокислот относительно эталонной аминокислотной последовательности PPX, или по гомологичным положениям ее паралоогов. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный белок PPX содержит одну или более мутаций по сравнению с эталонной аминокислотной последовательностью PPX, например эталонной последовательностью аминокислот PPX, соответствующей последовательностям 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 или 44, либо их частям. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный белок PPX содержит одну или более мутацию по сравнению с соответствующим белком дикого типа. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный белок PPX содержит одну или более мутацию по сравнению с соответствующим белком, не являющимся устойчивым к гербицидам. Согласно некоторым вариантам реализации указанный белок PPX модифицирован посредством по меньшей мере одной мутации. Согласно другим вариантам реализации указанный белок PPX модифицирован посредством по меньшей мере двух мутаций. Согласно другим вариантам реализации указанный белок PPX модифицирован посредством по меньшей мере трех мутаций. Согласно некоторым вариантам реализации один или более митохондриальный белок PPX мутирован. Согласно другим вариантам реализации один или более пластидный белок PPX мутирован. Согласно еще одному варианту реализации один или более митохондриальный белок PPX и один или более пластидный белок PPX мутированы. Согласно некоторым вариантам реализации термин "мутантный белок PPX" относится к белку PPX, обладающему повышенной устойчивостью к одному или более гербицидам по сравнению с эталонным белком.

Согласно некоторым вариантам реализации мутантный белок PPX содержит мутацию в одном или более положениях аминокислот, соответствующих положению, выбранному из группы, состоящей из 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 и 525 последовательности SEQ ID NO: 1.

Согласно некоторым вариантам реализации мутантный белок PPX содержит мутацию в одном или более положениях аминокислот, соответствующих положению, выбранному из группы, состоящей из 58, 64, 74, 84, 93, 97, 98, 101, 119, 121, 124, 139, 150, 151, 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 и 500 последовательности SEQ ID NO: 9.

Согласно некоторым вариантам реализации растение или растительная клетка могут содержать мутантный ген протопорфириноген IX оксидазы (PPX), причем указанный ген кодирует белок, содержащий мутацию в одном или более положениях аминокислот, соответствующих положению, выбранному из группы, состоящей из 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 и I525 последовательности SEQ ID NO: 1.

Согласно некоторым вариантам реализации растение или растительная клетка могут содержать мутантный ген протопорфириноген IX оксидазы (PPX), отличающийся тем, что указанный ген кодирует белок, содержащий мутацию в одном или более положениях аминокислот, соответствующих положению, выбранному из группы, состоящей из 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 и T500 последовательности SEQ ID NO: 9.

Согласно некоторым вариантам реализации белок PPX представляет собой паралог белка PPX *Arabidopsis thaliana* (например, указанный белок PPX может представлять собой пластидный белок PPX картофеля) и указанный белок PPX может содержать N в положении, соответствующем положению 52 последовательности SEQ ID NO: 1, причем указанный N заменен на аминокислоту, отличную от N; K в положении, соответствующем положению 272 последовательности SEQ ID NO: 1, причем указанный K заменен на аминокислоту, отличную от K; S в положении, соответствующем положению 359 последовательности SEQ ID NO: 1, причем указанный S заменен на аминокислоту, отличную от S; и/или S в положении, соответствующем положению 525 последовательности SEQ ID NO: 1, причем указанный S заменен на аминокислоту, отличную от S.

Согласно некоторым вариантам реализации мутантный белок PPX включает две или более мутации, по меньшей мере одна из которых находится в положении аминокислоты, соответствующем положению, выбранному из группы, состоящей из 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 и I525 последовательности SEQ ID NO: 1.

Согласно некоторым вариантам реализации мутантный белок PPX включает две или более мутации, по меньшей мере одна из которых находится в положении аминокислоты, соответствующем положению, выбранному из группы, состоящей из 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 и T500 последовательности SEQ ID NO: 9.

Согласно некоторым вариантам реализации белок PPX представляет собой паралог белка PPX *Arabidopsis thaliana* (например, белок PPX может представлять собой пластидный белок PPX картофеля); указанный белок PPX содержит две или более мутации и одно или более из (1) N в положении, соответствующем положению 52 последовательности SEQ ID NO: 1, где указанный N заменен на аминокислоту, отличную от N; (2) K в положении, соответствующем положению 272 последовательности SEQ ID NO: 1, где указанный K заменен на аминокислоту, отличную от K; (3) S в положении, соответствующем положению 359 последовательности SEQ ID NO: 1, где указанный S заменен на аминокислоту, отличную от S; и/или (4) S в положении, соответствующем положению 525 последовательности SEQ ID NO: 1, где указанный S заменен на аминокислоту, отличную от S.

Согласно некоторым вариантам реализации мутантный белок PPX включает три или более мутации, по меньшей мере одна из которых находится в положении аминокислоты, соответствующем положению, выбранному из группы, состоящей из 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 и I525 последовательности SEQ ID NO: 1.

Согласно некоторым вариантам реализации мутантный белок PPX включает три или более мутации, по меньшей мере одна из которых находится в положении аминокислоты, соответствующем положению, выбранному из группы, состоящей из 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 и T500 последовательности SEQ ID NO: 9.

Согласно некоторым вариантам реализации белок PPX представляет собой паралог белка PPX *Arabidopsis thaliana* (например, белок PPX может представлять собой белок PPX картофеля); указанный белок PPX содержит три или более мутации и одно или более из (1) N в положении, соответствующем положению 52 последовательности SEQ ID NO: 1, где указанный N заменен на аминокислоту, отличную от N; (2) K в положении, соответствующем положению 272 последовательности SEQ ID NO: 1, где указанный K заменен на аминокислоту, отличную от K; (3) S в положении, соответствующем положению 359 последовательности SEQ ID NO: 1, где указанный S заменен на аминокислоту, отличную от S; и/или (4) S в положении, соответствующем положению 525 последовательности SEQ ID NO: 1, где указанный

S заменен на аминокислоту, отличную от S.

В соответствии с описанными аспектами, вариантами реализации, композициями и способами мутантный белок PPX содержит одну или более мутацию аминокислот, выбранную из табл. 1, 2, 3A, 3B, 4A, 4B, 8A-F, 9A-D и 10. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный белок PPX включает две или более мутации аминокислот, выбранные из табл. 1, 2, 3A, 3B, 4A, 4B, 8A-F, 9A-D и 10. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный белок PPX включает три или более мутации аминокислот, выбранные из табл. 1, 2, 3A, 3B, 4A, 4B, 8A-F, 9A-D и 10. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный белок PPX содержит одну или более мутаций последовательности нуклеиновой кислоты, выбранных из табл. 2, 3A и 3B.

Согласно некоторым вариантам реализации указанная одна или более мутаций мутантного белка PPX включает одну или более мутацию, две или более мутации или три или более мутации, выбранные из группы, состоящей из

замены глицин→лизин в положении, соответствующем положению 52 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены аспарагин→аспарагиновая кислота в положении, соответствующем положению 85 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены глутаминовая кислота→валин в положении, соответствующем положению 111 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены глицин→аспарагин в положении, соответствующем положению 130 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены аспарагиновая кислота→гистидин в положении, соответствующем положению 139 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены пролин→аргинин в положении, соответствующем положению 143 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены аргинин→цистеин в положении, соответствующем положению 144 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены аргинин→клеяцин в положении, соответствующем положению 144 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены аргинин→гистидин в положении, соответствующем положению 144 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены фенилаланин→клеяцин в положении, соответствующем положению 145 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены фенилаланин→тирозин в положении, соответствующем положению 145 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены лейцин→валин в положении, соответствующем положению 147 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены фенилаланин→аспарагин в положении, соответствующем положению 165 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены аланин→треонин в положении, соответствующем положению 180 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены пролин→аргинин в положении, соответствующем положению 185 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены пролин→гистидин в положении, соответствующем положению 185 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены пролин→тирозин в положении, соответствующем положению 185 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены глутаминовая кислота→аспарагиновая кислота в положении, соответствующем положению 192 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены глутаминовая кислота→лизин в положении, соответствующем положению 192 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены серин→треонин в положении, соответствующем положению 193 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены аргинин→лейцин в положении, соответствующем положению 199 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены валин→фенилаланин в положении, соответствующем положению 206 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены тирозин→серин в положении, соответствующем положению 219 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены аланин→цистеин в положении, соответствующем положению 220 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены лейцин→аргинин в положении, соответствующем положению 403 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены лейцин→серин в положении, соответствующем положению 403 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены лейцин→серин в положении, соответствующем положению 424 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены тирозин→цистеин в положении, соответствующем положению 426 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены тирозин→фенилаланин в положении, соответствующем положению 426 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены тирозин→гистидин в положении, соответствующем положению 426 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены тирозин→изолейцин в положении, соответствующем положению 426 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены тирозин→лейцин в положении, соответствующем положению 426 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены тирозин→аргинин в положении, соответствующем положению 426 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены тирозин→треонин в положении, соответствующем положению 426 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены тирозин→валин в положении, соответствующем положению 426 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены серин→лейцин в положении, соответствующем положению 430 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены лизин→серин в положении, соответствующем положению 438 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены глутаминовая кислота→лизин в положении, соответствующем положению 440 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены валин→изолейцин в положении, соответствующем положению 444 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены лейцин→валин в положении, соответствующем положению 455 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены лизин→валин в положении, соответствующем положению 457 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены валин→серин в положении, соответствующем положению 470 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены валин→тирозин в положении, соответствующем положению 470 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены фенилаланин→серин в положении, соответствующем положению 478 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены фенилаланин→глицин в положении, соответствующем положению 483 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены аспарагиновая кислота→аланин в положении, соответствующем положению 484 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены изолейцин→глутаминовая кислота в положении, соответствующем положению 485 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены аспарагиновая кислота→глицин в положении, соответствующем положению 487 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены лизин→аспарагин в положении, соответствующем положению 490 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены лейцин→фенилаланин в положении, соответствующем положению 503 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены валин→треонин в положении, соответствующем положению 508 последовательности SEQ ID NO: 1; и

замены изолейцин→треонин в положении, соответствующем положению 525 последовательности SEQ ID NO: 1.

Согласно некоторым вариантам реализации белок PPX представляет собой паралог белка PPX *Arabidopsis thaliana* (например, белок PPX может представлять собой белок PPX картофеля); указанный белок PPX может содержать N в положении, соответствующем положению 52 последовательности SEQ ID NO: 1, где указанный N заменен на аминокислоту, отличную от N; K в положении, соответ-

вующем положению 272 последовательности SEQ ID NO: 1, где указанный К заменен на аминокислоту, отличную от К; S в положении, соответствующем положению 359 последовательности SEQ ID NO: 1, где указанный S заменен на аминокислоту, отличную от S; и/или S в положении, соответствующем положению 525 последовательности SEQ ID NO: 1, где указанный S заменен на аминокислоту, отличную от S.

Согласно подобным вариантам реализации указанная одна или более мутаций в мутантном белке PPX включает одну или более мутацию, две или более мутации или три или более мутации, выбранные из группы, состоящей из

замены аспарагин→лизин в положении, соответствующем положению 52 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены аспарагин→аспарагиновая кислота в положении, соответствующем положению 85 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены аргинин→цистеин в положении, соответствующем положению 144 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены аргинин→гистидин в положении, соответствующем положению 144 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены фенилаланин→лейцин в положении, соответствующем положению 145 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены фенилаланин→тирозин в положении, соответствующем положению 145 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены аланин→треонин в положении, соответствующем положению 180 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены пролин→аргинин в положении, соответствующем положению 185 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены пролин→гистидин в положении, соответствующем положению 185 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены аланин→цистеин в положении, соответствующем положению 220 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены аланин→изолейцин в положении, соответствующем положению 220 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены аланин→лейцин в положении, соответствующем положению 220 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены аланин→треонин в положении, соответствующем положению 220 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены аланин→валин в положении, соответствующем положению 220 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены лейцин→метионин в положении, соответствующем положению 226 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены метионин→лейцин в положении, соответствующем положению 228 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены серин→глицин в положении, соответствующем положению 244 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены серин→треонин в положении, соответствующем положению 244 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены лизин→фенилаланин в положении, соответствующем положению 272 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены серин→лейцин в положении, соответствующем положению 305 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены серин→цистеин в положении, соответствующем положению 332 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены лейцин→изолейцин в положении, соответствующем положению 357 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены серин→аргинин в положении, соответствующем положению 359 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены серин→треонин в положении, соответствующем положению 359 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены лейцин→метионин в положении, соответствующем положению 393 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены лейцин→серин в положении, соответствующем положению 393 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены лейцин→валин в положении, соответствующем положению 393 последовательности

SEQ ID NO: 9;

замены лейцин→валин в положении, соответствующем положению 421 последовательности SEQ ID NO: 9;

замены аланин→валин в положении, соответствующем положению 423 последовательности SEQ ID NO: 9;

замены цистеин→серин в положении, соответствующем положению 434 последовательности SEQ ID NO: 9;

замены цистеин→тирозин в положении, соответствующем положению 434 последовательности SEQ ID NO: 9;

замены аспарагиновая кислота→глицин в положении, соответствующем положению 447 последовательности SEQ ID NO: 9;

замены серин→аланин в положении, соответствующем положению 448 последовательности SEQ ID NO: 9;

замены валин→глутаминовая кислота в положении, соответствующем положению 449 последовательности SEQ ID NO: 9;

замены аспарагиновая кислота→глицин в положении, соответствующем положению 451 последовательности SEQ ID NO: 9;

замены аспарагиновая кислота→аспарагин в положении, соответствующем положению 454 последовательности SEQ ID NO: 9;

замены тирозин→фенилаланин в положении, соответствующем положению 465 последовательности SEQ ID NO: 9;

замены лизин→треонин в положении, соответствующем положению 470 последовательности SEQ ID NO: 9; и

замены треонин→серин в положении, соответствующем положению 500 последовательности SEQ ID NO: 9.

В соответствии с любыми описанными в настоящем документе аспектами, вариантами реализации, способами и/или композициями, согласно некоторым вариантам реализации мутантный белок PPX может содержать комбинацию мутаций, например комбинацию мутаций, выбранных из табл. 4А и 4В. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный белок PPX содержит комбинацию двух или более мутаций, например комбинации, выбранные из табл. 4а и 4b. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный белок PPX содержит комбинацию трех или более мутаций, например комбинации, выбранные из табл. 4А и 4В. Согласно некоторым вариантам реализации указанная комбинация мутаций в мутантном гене PPX кодирует белок, содержащий мутацию в положении, соответствующем Y426 последовательности SEQ ID NO: 1, и мутацию в одном или более положениях аминокислот, соответствующих положению, выбранному из группы, состоящей из N85, R144, F145, A180, A220, L226 и S244 последовательности SEQ ID NO: 1. Согласно некоторым вариантам реализации указанная комбинация мутаций в мутантном гене PPX кодирует белок, содержащий мутацию в положении, соответствующем L393 последовательности SEQ ID NO: 1, и мутацию в одном или более положениях аминокислот, соответствующих положению, выбранному из группы, состоящей из R144, F145, A220, S224 и S244 последовательности SEQ ID NO: 1. Согласно некоторым вариантам реализации указанная комбинация мутаций кодирует белок, содержащий мутацию в положении, соответствующем L403 последовательности SEQ ID NO: 1, и мутацию в одном или более положениях аминокислот, соответствующих положению, выбранному из группы, состоящей из F145, A220 и L226 последовательности SEQ ID NO: 1. Согласно некоторым вариантам реализации указанная комбинация мутаций кодирует белок, содержащий мутацию в положении, соответствующем R144 последовательности SEQ ID NO: 1, и мутацию в одном или более положениях аминокислот, соответствующих положению, выбранному из группы, состоящей из G52, N85, A220, S244, L226, M228, K272, S332, L393, L424, Y426 и I525 последовательности SEQ ID NO: 1. Согласно некоторым вариантам реализации указанная комбинация мутаций кодирует белок, содержащий мутацию в положении, соответствующем N85 последовательности SEQ ID NO: 1, и мутацию в одном или более положениях аминокислот, соответствующих положению, выбранному из группы, состоящей из R144, F145, A180, A220, L226, M228, и Q272 последовательности SEQ ID NO: 1. Согласно некоторым вариантам реализации указанная комбинация мутаций кодирует белок, содержащий мутацию в положении, соответствующем L424 последовательности SEQ ID NO: 1, и мутацию в положении аминокислоты, соответствующем положению, выбранному из группы, состоящей из R144, F145, A220, L226 и L393 последовательности SEQ ID NO: 1. Согласно некоторым вариантам реализации указанная комбинация мутаций кодирует белок, содержащий мутацию в положении, соответствующем I525 последовательности SEQ ID NO: 1, и мутацию в положении аминокислоты, соответствующем положению N85, F144, F145, A180, L226 и S244 последовательности SEQ ID NO: 1. Согласно некоторым вариантам реализации указанная комбинация мутаций кодирует белок, содержащий мутацию в положении, соответствующем R144 последовательности SEQ ID NO: 1, и мутацию в положении аминокислоты, соответствующем положению A220 последовательности SEQ ID NO: 1. Согласно некоторым вариантам реализации белок PPX пред-

ставляет собой паралог белка PPX *Arabidopsis thaliana* (например, белок PPX может представлять собой белок PPX картофеля); указанный белок PPX может содержать N в положении, соответствующем положению 52 последовательности SEQ ID NO: 1, где указанный N заменен на аминокислоту, отличную от N; K в положении, соответствующем положению 272 последовательности SEQ ID NO: 1, где указанный K заменен на аминокислоту, отличную от K; S в положении, соответствующем положению 359 последовательности SEQ ID NO: 1, где указанный S заменен на аминокислоту, отличную от S; и/или S в положении, соответствующем положению 525 последовательности SEQ ID NO: 1, где указанный S заменен на аминокислоту, отличную от S. Согласно подобным вариантам реализации указанный мутантный белок PPX содержит комбинацию двух или более мутации, например комбинации, выбранные из табл. 4А и 4В. Согласно подобным вариантам реализации указанный мутантный белок PPX содержит комбинацию трех или более мутаций, например комбинации, выбранные из табл. 4А и 4В. Согласно некоторым вариантам реализации указанная комбинация мутаций в мутантном гене PPX кодирует белок, содержащий мутацию в положении, соответствующем Y426 последовательности SEQ ID NO: 1, и мутацию в одном или более положениях аминокислот, соответствующих положению, выбранному из группы, состоящей из N85, R144, F145, A180, A220, L226 и S244 последовательности SEQ ID NO: 1. Согласно некоторым вариантам реализации указанная комбинация мутаций в мутантном гене PPX кодирует белок, содержащий мутацию в положении, соответствующем L393 последовательности SEQ ID NO: 1, и мутацию в одном или более положениях аминокислот, соответствующих положению, выбранному из группы, состоящей из R144, F145, A220, S244 и S224 последовательности SEQ ID NO: 1. Согласно некоторым вариантам реализации указанная комбинация мутаций кодирует белок, содержащий мутацию в положении, соответствующем L403 последовательности SEQ ID NO: 1, и мутацию в одном или более положениях аминокислот, соответствующих положению, выбранному из группы, состоящей из F145, A220 и L226 последовательности SEQ ID NO: 1. Согласно некоторым вариантам реализации указанная комбинация мутаций кодирует белок, содержащий мутацию в положении, соответствующем R144 последовательности SEQ ID NO: 1, и мутацию в одном или более положениях аминокислот, соответствующих положению, выбранному из группы, состоящей из N52, N85, A220, S244, L226, M228, K272, S332, L393, L424, Y426 и S525 последовательности SEQ ID NO: 1. Согласно некоторым вариантам реализации указанная комбинация мутаций кодирует белок, содержащий мутацию в положении, соответствующем N85 последовательности SEQ ID NO: 1, и мутацию в одном или более положениях аминокислот, соответствующих положению, выбранному из группы, состоящей из R144, F145, A180, A220, L226, M228, и K272 последовательности SEQ ID NO: 1. Согласно некоторым вариантам реализации указанная комбинация мутаций кодирует белок, содержащий мутацию в положении, соответствующем L424 последовательности SEQ ID NO: 1, и мутацию в положении аминокислоты, соответствующем положению, выбранному из группы, состоящей из R144, F145, A220, L226 и L393 последовательности SEQ ID NO: 1. Согласно некоторым вариантам реализации указанная комбинация мутаций кодирует белок, содержащий мутацию в положении, соответствующем S525 последовательности SEQ ID NO: 1, и мутацию в положении аминокислоты, соответствующем положению N85, F144, F145, A180, L226 и S244 последовательности SEQ ID NO: 1. Согласно некоторым вариантам реализации указанная комбинация мутаций кодирует белок, содержащий мутацию в положении, соответствующем 98 последовательности SEQ ID NO: 9, и мутацию в положении аминокислоты, соответствующем положению, выбранному из группы, состоящей из 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 и 500 последовательности SEQ ID NO: 9. Согласно некоторым вариантам реализации указанная комбинация мутаций кодирует белок, содержащий мутацию в положении, соответствующем 98 последовательности SEQ ID NO: 9, и мутацию в положении аминокислоты, соответствующем положению, выбранному из группы, состоящей из 271, 274, 292, 307, 324, 330, 396, 404, 406, 410, 423, 434, 447, 448, 454, 465, 470 и 500 последовательности SEQ ID NO: 9. Согласно некоторым вариантам реализации указанная комбинация мутаций кодирует белок, содержащий мутацию в положении, соответствующем 98 последовательности SEQ ID NO: 9, и мутацию в положении аминокислоты, соответствующем положению, выбранному из группы, состоящей из 307 и 423 последовательности SEQ ID NO: 9. Согласно некоторым вариантам реализации указанная комбинация мутаций кодирует белок, содержащий мутацию в положении, соответствующем 98 последовательности SEQ ID NO: 9, и мутацию в положении аминокислоты, соответствующем положению, выбранному из группы, состоящей из 124, 188, 214 и 229 последовательности SEQ ID NO: 9.

В соответствии с любыми описанными в настоящем документе аспектами, вариантами реализации, способами и/или композициями белок PPX может представлять собой паралог белка PPX *Arabidopsis thaliana* (например, белок PPX может представлять собой митохондриальный белок PPX картофеля); указанный белок PPX может содержать одну или более аминокислоту PPX, соответствующую SEQ ID NO: 9. В соответствии с любыми описанными в настоящем документе аспектами, вариантами реализации, способами и/или композициями, указанный одна или более мутаций в мутантном гене PPX может кодировать мутантный белок PPX, содержащий одну или более мутацию, две или более мутации, три или более мутации, выбранные из группы, состоящей из мутантного белка PPX, который может содержать одну или более мутацию в положении аминокислоты, соответствующем одному или более по-

ложению, выбранному из группы, состоящей из положений 58, 64, 74, 84, 93, 97, 98, 101, 119, 121, 124, 139, 150, 151, 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 и 500 последовательности SEQ ID NO: 9.

В соответствии с любыми описанными в настоящем документе аспектами, вариантами реализации, способами и/или композициям, растительная клетка может содержать мутантный ген PPX. Согласно некоторым вариантам реализации указанный мутантный ген PPX кодирует мутантный белок PPX. Согласно некоторым вариантам реализации указанная растительная клетка может представлять собой часть устойчивого к гербицидам растения. Указанный способ может включать введение в растительную клетку олигонуклеотида репарации генов (GRON), например применение GRON с направленной мутацией в гене PPX. Согласно некоторым вариантам реализации полученная указанным способом растительная клетка может содержать ген PPX, способный экспрессировать мутантный белок PPX. Указанный способ также может включать идентификацию растительной клетки или растения, в том числе растительной клетки, которая (1) содержит мутантный ген PPX и/или (2) обладает нормальным ростом и/или каталитической активностью по сравнению с соответствующей растительной клеткой дикого типа. Устойчивое к гербицидам растение, содержащее растительную клетку согласно настоящей заявке, может быть определено в присутствии ингибирующего PPX гербицида. Согласно некоторым вариантам реализации указанная растительная клетка является нетрансгенной. Согласно некоторым вариантам реализации указанная растительная клетка является трансгенной. Растение, которое содержит растительную клетку согласно описанию, может представлять собой нетрансгенное или трансгенное устойчивое к гербицидам растение, например указанное(ые) растение и/или растительная клетка может(гут) содержать мутантный ген PPX, что приводит к устойчивости по меньшей мере к одному гербициду. Согласно некоторым вариантам реализации растение, содержащее растительную клетку согласно описанию в настоящем документе, может быть получено путем бесполого размножения, например, из одной или более растительных клеток или из растительной ткани, состоящей из одной или более растительных клеток, например из клубня. Согласно другим вариантам реализации растение, содержащее растительную клетку согласно описанию в настоящем документе, может быть получено путем полового размножения.

Согласно другому аспекту предложен способ получения устойчивого к гербицидам растения. Указанный способ может включать введение в растительную клетку олигонуклеотида репарации генов (GRON), например, применение GRON, сконструированных с направленной мутацией в гене PPX. Указанный мутантный ген PPX может экспрессировать мутантный белок PPX. Указанный способ также может включать определение растения с нормальным(и) ростом и/или каталитической активностью по сравнению с соответствующей растительной клеткой дикого типа. Указанное растение может быть определено в присутствии Ингибирующего PPX гербицида. Согласно некоторым вариантам реализации указанное растение является нетрансгенным. Указанное растение может согласно некоторым вариантам реализации представлять собой нетрансгенное устойчивое к гербицидам растение, например, указанное растение может содержать мутантный ген PPX, что приводит к устойчивости или толерантности по меньшей мере к одному гербициду.

Согласно другому аспекту предложено семя, содержащее мутантный ген PPX. Согласно некоторым вариантам реализации указанное семя содержит мутантный ген PPX. Согласно некоторым вариантам реализации указанный мутантный PPX кодирует мутантный белок PPX. Согласно некоторым вариантам реализации указанный мутантный белок PPX может быть устойчив к гербициду, например ингибирующему PPX гербициду. Согласно некоторым вариантам реализации растение, выращенное из указанного семени, устойчиво по меньшей мере к одному гербициду, например ингибирующему PPX гербициду.

Согласно другому аспекту предложен способ повышения устойчивости растения к гербицидам посредством (a) скрещивания первого растения со вторым растением, где указанное первое растение содержит мутантный ген PPX, и при этом указанный ген кодирует мутантный белок PPX; (b) скрининга популяции, полученной в результате скрещивания, на повышенную устойчивость к гербицидам, например повышенную устойчивость к ингибирующему PPX гербициду; (c) отбора представителя, полученного в результате скрещивания, имеющего повышенную устойчивость к гербицидам; и/или (d) получения семян, образующихся в результате скрещивания. Согласно некоторым вариантам реализации гибридное семя получают любым способом, например, выбранным из описанных в настоящем изобретении. Согласно некоторым вариантам реализации растения выращивают из семян, полученных любым способом, например, таким как способ, описанный в настоящем изобретении. Согласно некоторым вариантам реализации указанные растения и/или семена являются нетрансгенными. Согласно некоторым вариантам реализации указанные растения и/или семена являются трансгенными. Согласно другому аспекту предложен способ контроля сорняков на поле, содержащем растения, путем применения эффективного количества по меньшей мере одного гербицида на поле, содержащем сорняки и растения. Согласно некоторым вариантам реализации указанного способа указанный по меньшей мере один гербицид представляет собой гербицид, ингибирующий PPX. Согласно некоторым вариантам реализации указанного способа одно или более указанное растение на поле содержит мутантный ген PPX, например, такой как описанный в настоящем изобретении. Согласно некоторым вариантам реализации указанного способа одно или

более из указанных растений на поле включает нетрансгенное или трансгенное растение, имеющее мутантный ген PPX, такой как описанный в настоящем изобретении. Согласно некоторым вариантам реализации указанный мутантный ген PPX кодирует мутантный белок PPX. Согласно некоторым вариантам реализации еще одно из указанных растений на поле является устойчивым к гербицидам, например устойчивым к ингибирующему PPX гербициду.

Согласно другому аспекту предложена выделенная нуклеиновая кислота, кодирующая белок PPX или его часть. Согласно некоторым вариантам реализации указанная выделенная нуклеиновая кислота содержит одну или более мутацию гена PPX, такую как описанные в настоящем изобретении. Согласно некоторым вариантам реализации указанная выделенная нуклеиновая кислота кодирует мутантный белок PPX согласно описанию в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам реализации указанная выделенная нуклеиновая кислота кодирует белок PPX, который является устойчивым к гербицидам, например устойчивым к ингибирующему PPX гербициду. Согласно другому аспекту предложен экспрессионный вектор, содержащий выделенную нуклеиновую кислоту мутантного гена PPX. Согласно некоторым вариантам реализации указанный экспрессионный вектор содержит выделенную нуклеиновую кислоту, кодирующую белок PPX. Согласно некоторым вариантам реализации указанная выделенная нуклеиновая кислота кодирует белок, содержащий мутацию, выбранную из мутаций, приведенных в табл. 1, 2, 3A, 3B, 4A, 4B, 8A-F, 9A-D и 10. Согласно некоторым вариантам реализации указанная выделенная нуклеиновая кислота кодирует белок, имеющий две или более мутации. Согласно некоторым вариантам реализации указанные две или более мутации выбраны из табл. 1, 2, 3A, 3B, 4A, 4B, 8A-F, 9A-D и 10. Согласно некоторым вариантам реализации указанная выделенная нуклеиновая кислота кодирует белок PPX, который является устойчивым к гербицидам, например, устойчивым к ингибирующему PPX гербициду.

В настоящем описании термин "гербицид" относится к любому химикату или веществу, способному уничтожить растение или способному остановить или снизить рост и/или жизнеспособность растения. Согласно некоторым вариантам реализации гербицидоустойчивость представляет собой генетически наследуемую способность растения выживать и воспроизводиться после обработки гербицидом в концентрации, которая в норме уничтожает или серьезно повреждает немодифицированное растение дикого типа. Согласно некоторым вариантам реализации в соответствии с любыми описанными в настоящем документе аспектами, вариантами реализации, способами и/или композициями, указанный гербицид представляет собой Гербицид, ингибирующий PPX. Согласно некоторым вариантам реализации ингибирующий PPX гербицид представляет собой гербицид из химического семейства, выбранные из группы химических семейств, перечисленных в табл. 5. Согласно некоторым вариантам реализации ингибирующий PPX гербицид представляет собой гербицид из химического семейства, выбранного из группы химических семейств, состоящей из N-фенилфталимидов, триазинонов и пиримидиндионов. Согласно некоторым вариантам реализации ингибирующий PPX гербицид выбран из группы гербицидов, перечисленных в табл. 5. Согласно некоторым вариантам реализации ингибирующий PPX гербицид выбран из группы гербицидов, состоящей из флумиоксазина, сульфентразона и сафлуфенацила. Согласно другим вариантам реализации указанный ингибирующий PPX гербицид представляет собой гербицид флумиоксазин. Согласно другим вариантам реализации указанный ингибирующий PPX гербицид представляет собой гербицид сульфентразон. Согласно другим вариантам реализации указанный ингибирующий PPX гербицид представляет собой гербицид сафлуфенацил.

В соответствии с любыми описанными в настоящем документе аспектами, вариантами реализации, способами и/или композициями указанное(ая) растение или растительная клетка происходят из урожая растений, выбранных из группы, состоящей из картофеля, подсолнечника, сахарной свеклы, кукурузы, хлопка, сои, пшеницы, ржи, овса, риса, канолы, плодовых растений, овощей, табака, ячменя, сорго, томата, манго, персика, яблони, груши, клубники, банана, дыни, моркови, салата, лука, видов сои, сахарного тростника, гороха, кормовых бобов, тополя, винограда, цитрусовых, люцерны, ржи, овса, дернообразующих и кормовых трав, льна, масличного рапса, огурца, вьюнка, бальзамина, перца, баклажана, бархатцев, лотоса, капусты, астровых, гвоздики, петунии, тюльпана, ириса, лилии и дающих орехи растений, если они уже не указаны конкретно. Согласно некоторым вариантам реализации указанное(ая) растение или растительная клетка относятся к видам, выбранным из табл. 6. Согласно некоторым вариантам реализации указанное(ая) растение или растительная клетка относятся к видам, выбранным из группы, состоящей из *Arabidopsis thaliana*, *Solanum tuberosum*, *Solanum phureja*, *Oryza sativa*, *Amaranthus tuberculatus*, *Zea mays*, *Brassica napus* и *Glycine max*.

Согласно некоторым вариантам реализации указанное(ая) растение или растительная клетка представляют собой сорт картофеля Рассет Бербанк. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный ген PPX кодирует белок PPX Рассет Бербанк. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный ген PPX кодирует белок PPX *Arabidopsis thaliana*. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный ген PPX кодирует белок PPX *Solanum tuberosum*. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный ген PPX кодирует белок PPX *Solanum phureja*. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный ген PPX кодирует белок PPX *Zea mays*. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный ген PPX кодирует белок PPX *Oryza sativa*. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный ген

PPX кодирует белок PPX *Amaranthus tuberculatus*. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный ген PPX кодирует белок PPX *Ricinus communis*. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный ген PPX кодирует белок PPX *Brassica napus*. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный ген PPX кодирует белок PPX *Glycine max*. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный ген PPX At4g01690 кодирует белок PPX *Arabidopsis thaliana*. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный ген PPX At5g14220 кодирует белок PPX *Arabidopsis thaliana*.

В любом аспекте, варианте реализации, способы или композиции, описанные в настоящем изобретении, могут включать один или более мутантных генов PPX. Согласно некоторым вариантам реализации указанные способы и композиции включают один или более мутантных генов PPX, кодирующих один или более митохондриальный белок PPX. Согласно другим вариантам реализации указанные способы и композиции включают один или более мутантных генов PPX, кодирующих один или более пластидный белок PPX. Согласно некоторым вариантам реализации указанные способы и композиции включают один или более мутантных генов PPX, кодирующих один или более митохондриальный белок PPX. Согласно некоторым вариантам реализации указанные способы и композиции включают мутантный митохондриальный ген PPX StmPPX1. Согласно некоторым вариантам реализации указанные способы и композиции включают мутантный митохондриальный ген PPX StmPPX2. Согласно некоторым вариантам реализации растение содержит мутантный пластидный ген PPX StcPPX1. Согласно некоторым вариантам реализации указанные способы и композиции включают аллель мутантного митохондриального гена PPX StcPPX2.1. Согласно некоторым вариантам реализации указанные способы и композиции включают аллель мутантного митохондриального гена PPX StcPPX2.2. Согласно некоторым вариантам реализации указанные способы и композиции включают аллель мутантного пластидного гена PPX StcPPX1. Согласно некоторым вариантам реализации указанные способы и композиции включают аллель мутантного пластидного гена PPX StcPPX1.1.

В настоящем описании термин "ген" относится к последовательности ДНК, которая содержит контрольные и кодирующие последовательности, необходимые для синтеза РНК, которая может иметь некодирующую функцию (например, рибосомальной или транспортной РНК) или кодировать полипептид или предшественник полипептида. Указанная(ый) РНК или полипептид могут кодироваться полноразмерной кодирующей последовательностью или любой частью указанной кодирующей последовательности, при условии, что сохраняется требуемая активность или функция. В настоящем описании термин "кодирующая последовательность" относится к последовательности нуклеиновой кислоты, или ее компонента, или ее(его) части, которая может быть транскрибирована и/или транслирована с получением мРНК для и/или указанного полипептида или его фрагмента. Кодирующие последовательности включают экзоны в геномной ДНК или незрелые первичные транскрипты РНК, которые объединяются за счет биохимических механизмов клетки с получением зрелой мРНК. Антисмысловая нить представляет собой комплемент такой нуклеиновой кислоты, и из нее может быть выведена кодирующая последовательность.

В настоящем описании термин "некодирующая последовательность" относится к последовательности нуклеиновой кислоты, или ее компонента, или ее части, не транскрибируемой в аминокислоту *in vivo* или характеризующейся тем, что тРНК не взаимодействует с аминокислотами для их размещения или не пытается их размещать. Некодирующие последовательности включают как интронные последовательности в геномной ДНК или незрелые первичные РНК-транскрипты, так и ассоциированные с генами последовательности, такие как промоторы, энхансеры, сайленсеры и т.д. Нуклеиновое основание/нуклеосооснование представляет собой основание, которое в определенных предпочтительных вариантах реализации представляет собой пурин, пиримидин, или их производное или аналог. Нуклеозиды представляют собой нуклеиновые основания, содержащие пентозофуранозильные фрагменты, например необязательно замещенный рибозид или 2'-дезоксирибозид. Указанный фрагмент может представлять собой любую группу, увеличивающую ДНК-связывание и/или уменьшающую разложение нуклеазы по сравнению с нуклеозидом, не содержащим указанного фрагмента. Нуклеозиды могут быть связаны одним из нескольких линкерных фрагментов, которые могут содержать или не содержать фосфор. Нуклеозиды, связанные незамещенными фосфодиэфирными связями, называются нуклеотидами. В настоящем описании термин "нуклеосооснование" включает пептидные нуклеиновые основания, субъединицы пептидных нуклеиновых кислот, морфолиновые нуклеиновые основания, а также нуклеозиды и нуклеотиды.

Олигонуклеотид представляет собой полимер, содержащий нуклеиновые основания, предпочтительно по меньшей мере часть которого способна гибридизоваться посредством спаривания оснований по Уотсону-Крику с ДНК, имеющей комплементарную последовательность. Цепь олигонуклеотида может содержать один 5'- и 3'-конец, которые представляют собой конечные нуклеиновые основания указанного полимера. Конкретная цепь олигонуклеотида может содержать нуклеиновые основания всех типов. Олигонуклеотид представляет собой соединение, содержащее одну или более цепей олигонуклеотидов, которые могут быть комплементарным и гибридным по механизму спаривания оснований по Уотсону-Крику. Нуклеиновые основания рибо-типа включают пентозофуранозил-содержащие нуклеиновые основания, где 2' углерод представляет собой метилен, замещенный гидроксилом, алкилкси или галогеном. Дезоксинуклеосооснования рибо-типа представляют собой нуклеиновые основания, отличаю-

щиеся от нуклеоснований рибо-типа, и включают все нуклеиновые основания, не содержащие пентозо-фуранозильных фрагментов.

В соответствии с любыми описанными в настоящем документе аспектами, вариантами реализации, способами и/или композициями нить олигонуклеотида может включать как цепи олигонуклеотида, так и сегменты или области цепей олигонуклеотида. Нить олигонуклеотида может иметь 5'-конец и 3'-конец, и, если длина нити олигонуклеотида равна длине цепи, 5'- и 3'-концы указанной нити являются также 5'- и 3'-концами указанной цепи.

В настоящем описании термин "олигонуклеотид для репарации генов" или "GRON" относится к олигонуклеотидам, включая смешанные дуплексные олигонуклеотиды, молекулы, содержащие фрагменты, отличные от нуклеотидов, одноцепочечные олигодезоксинуклеотиды и другие молекулы для репарации генов. В настоящем описании термин "трансгенный" относится к организму или клетке, который(ая) содержит ДНК, полученную из другого организма, встроенную в его(ее) геном. Например, согласно некоторым вариантам реализации трансгенный(ая) организм или клетка включают встроенную ДНК, которая содержит чужеродный промотор и/или кодирующую область.

В настоящем описании термин "нетрансгенные" относится к организму или клетке, который(ая) не содержит ДНК, полученной из другого организма, встроенной в его(ее) геном, хотя нетрансгенное растение или клетка могут содержать одну или более введенных искусственным образом направленных мутаций.

В настоящем описании термин "выделенный" в отношении нуклеиновой кислоты (например, олигонуклеотида, такого как РНК, ДНК или смешанного полимера) относится к нуклеиновой кислоте, отделенной от существенной части генома, в котором она присутствует в природе, и/или по существу отделенной от других компонентов клетки, которые сопровождают такую нуклеиновую кислоту в природе. Например, любая нуклеиновая кислота, полученная синтетическим путем (например, посредством серийной конденсации оснований), считается выделенной. Сходным образом, нуклеиновые кислоты, рекомбинантным образом экспрессируемые, клонированные, полученные с помощью реакции удлинения праймера (например, ПЦР) или иным образом вырезанные из генома, также считаются выделенными.

В настоящем описании термин "аминокислотная последовательность" относится к полипептидной или белковой последовательности. Выражение "AAwt###AAmut" используют для обозначения мутации, приводящей к замене аминокислоты дикого типа AAwt в положении ### в полипептиде мутантной AAmut.

В настоящем описании термин "комплемент" относится к комплементарной последовательности нуклеиновой кислоты в соответствии со стандартными правилами спаривания по Уотсону-Крику. Комплементарная последовательность может также представлять собой последовательность РНК, комплементарную последовательности ДНК или комплементарной ей последовательности, а также может представлять собой кДНК. В настоящем описании термин "по существу комплементарный" относится к двум последовательностям, которые гибридизуются в условиях гибридизации, близких к строгим. Специалисту в данной области техники будет понятно, что по существу комплементарные последовательности необязательно должны гибридизоваться на протяжении всей длины.

В настоящем описании термин "кодон" относится к последовательности трех смежных нуклеотидов (РНК или ДНК), составляющей генетический код, определяющий вставку конкретной аминокислоты в полипептидную цепь в процессе синтеза белка, или сигнал к остановке синтеза белка. Термин "кодон" также относится к соответствующим (и комплементарным) последовательностям трех нуклеотидов в матричной РНК, в которую транскрибируется исходная ДНК.

В настоящем описании термин "гомология" относится к сходству последовательностей белков и ДНК. Термин "гомология" или "гомологичный" относится к степени идентичности. Гомология может быть частичной или полной. Частично гомологичная последовательность представляет собой такую последовательность, которая менее на 100% идентична другой последовательности.

В настоящем описании термин "приблизительно" в количественном выражении означает плюс или минус 10%. Например, "приблизительно 3%" охватывает диапазон 2,7-3,3%, а "приблизительно 10%" охватывает 9-11%. Далее, в тех случаях, когда термин "приблизительно" используется в отношении количественной характеристики, понятно, что, помимо значений, соответствующих плюс или минус 10%, он также охватывает и описывает точное значение количественной характеристики. Например, термин "приблизительно 3%" однозначно охватывает, описывает и включает "точно 3%".

Краткое описание чертежей

На фиг. 1 представлена последовательность аминокислот хлоропластного (пластидного) белка PPX *Arabidopsis thaliana* (SEQ ID NO: 1).

На фиг. 2 представлена последовательность нуклеиновой кислоты кДНК *Arabidopsis thaliana* хлоропластного (пластидного) PPX (SEQ ID NO: 2).

На фиг. 3 представлена последовательность аминокислот митохондриального белка PPX *Arabidopsis thaliana* (SEQ ID NO: 3).

На фиг. 4 представлена последовательность нуклеиновой кислоты кДНК *Arabidopsis thaliana* митохондриального PPX (SEQ ID NO: 4).

На фиг. 5 представлена последовательность аминокислот митохондриального белка PPX *Amaranthus tuberculatus* (SEQ ID NO: 5).

На фиг. 6 представлена последовательность нуклеиновой кислоты кДНК митохондриального PPX *Amaranthus tuberculatus* (SEQ ID NO: 6).

На фиг. 7 представлена последовательность аминокислот пластидного белка PPX *Solanum tuberosum* StmPPX (SEQ ID NO: 7).

На фиг. 8 представлена последовательность нуклеиновой кислоты кДНК пластидного PPX *Solanum tuberosum* (SEQ ID NO: 8).

На фиг. 9 представлена последовательность аминокислот митохондриального белка PPX *Solanum tuberosum* (SEQ ID NO: 9).

На фиг. 10 представлена последовательность нуклеиновой кислоты кДНК митохондриального PPX *Solanum tuberosum* (SEQ ID NO: 10).

На фиг. 11 представлена последовательность аминокислот пластидного белка PPX *Zea mays* (SEQ ID NO: 11).

На фиг. 12 представлена последовательность нуклеиновой кислоты кДНК пластидного PPX *Zea mays* (SEQ ID NO: 12).

На фиг. 13 представлена последовательность аминокислот митохондриального белка PPX *Zea mays* (SEQ ID NO: 13).

На фиг. 14 представлена последовательность нуклеиновой кислоты кДНК митохондриального PPX *Zea mays* (SEQ ID NO: 14).

На фиг. 15 представлена последовательность аминокислот пластидного белка PPX *Oryza sativa* (SEQ ID NO: 15).

На фиг. 16 представлена последовательность нуклеиновой кислоты кДНК пластидного PPX *Oryza sativa* (SEQ ID NO: 16).

На фиг. 17 представлена последовательность аминокислот кДНК митохондриального белка PPX *Oryza sativa* (SEQ ID NO: 17).

На фиг. 18 представлена последовательность нуклеиновой кислоты кДНК митохондриального PPX *Oryza sativa* (SEQ ID NO: 18).

На фиг. 19 представлена последовательность аминокислот пластидного белка PPX *Sorghum bicolor* (SEQ ID NO: 19).

На фиг. 20 представлена последовательность нуклеиновой кислоты кДНК пластидного PPX *Sorghum bicolor* (SEQ ID NO: 20).

На фиг. 21 представлена последовательность аминокислот митохондриального белка PPX *Sorghum bicolor* (SEQ ID NO: 21).

На фиг. 22 представлена последовательность нуклеиновой кислоты кДНК митохондриального PPX *Sorghum bicolor* (SEQ ID NO: 22).

На фиг. 23 представлена последовательность аминокислот пластидного белка PPX *Ricinus communis* (SEQ ID NO: 23).

На фиг. 24 представлена последовательность нуклеиновой кислоты кДНК пластидного PPX *Ricinus communis* (SEQ ID NO: 24).

На фиг. 25 представлена последовательность аминокислот митохондриального белка PPX *Ricinus communis* (SEQ ID NO: 25).

На фиг. 26 представлена последовательность нуклеиновой кислоты кДНК митохондриального PPX *Ricinus communis* (SEQ ID NO: 26).

На фиг. 27 представлена последовательность аминокислот митохондриального белка PPX *Solanum tuberosum* StmPPX1 (SEQ ID NO: 27).

На фиг. 28 представлена последовательность нуклеиновой кислоты кДНК митохондриального PPX *Solanum tuberosum* StmPPX1 (SEQ ID NO: 28).

На фиг. 29 представлена последовательность аминокислот митохондриального белка PPX *Solanum tuberosum* StmPPX2.1 (SEQ ID NO: 29).

На фиг. 30 представлена последовательность нуклеиновой кислоты кДНК митохондриального PPX *Solanum tuberosum* StmPPX2.1 (SEQ ID NO: 30).

На фиг. 31 представлена последовательность аминокислот митохондриального белка PPX *Solanum tuberosum* StmPPX2.2 (SEQ ID NO: 31).

На фиг. 32 представлена последовательность нуклеиновой кислоты кДНК митохондриального PPX *Solanum tuberosum* StmPPX2.2 (SEQ ID NO: 32).

На фиг. 33 представлена последовательность аминокислот пластидного белка PPX *Brassica napus* BncPPX1 (SEQ ID NO: 33).

На фиг. 34 представлена последовательность нуклеиновой кислоты кДНК PPX *Brassica napus* BncPPX1 (SEQ ID NO: 34).

На фиг. 35 представлена последовательность аминокислот пластидного белка PPX *Brassica napus* BncPPX2 (SEQ ID NO: 35).

На фиг. 36 представлена последовательность нуклеиновой кислоты кДНК PPX Brassica napus BncPPX2 (SEQ ID NO: 36).

На фиг. 37 представлена часть последовательности аминокислот пластидного белка PPX Brassica napus BncPPX3 (SEQ ID NO: 37).

На фиг. 38 представлена часть последовательности нуклеиновой кислоты кДНК PPX Brassica napus BncPPX3 (SEQ ID NO: 38).

На фиг. 39 представлена последовательность аминокислот пластидного белка PPX Glycine max GmcPPX1-1 (SEQ ID NO: 39).

На фиг. 40 представлена последовательность аминокислот пластидного белка PPX Glycine max GmcPPX1-2 (SEQ ID NO: 40).

На фиг. 41 представлена последовательность нуклеиновой кислоты пластидного белка PPX Glycine max GmcPPX1 (SEQ ID NO: 41).

На фиг. 42 представлена последовательность аминокислот пластидного белка PPX Glycine max GmcPPX2 (SEQ ID NO: 42).

На фиг. 43 представлена последовательность нуклеиновой кислоты пластидного белка PPX Glycine max GmcPPX2 (SEQ ID NO: 43).

На фиг. 44 представлена последовательность аминокислот митохондриального белка PPX Glycine max GmcPPX (SEQ ID NO: 44).

На фиг. 45 представлена последовательность нуклеиновой кислоты митохондриального белка PPX Glycine max GmcPPX (SEQ ID NO: 45).

На фиг. 46 приведено выравнивание белков PPX различных видов растений.

На фиг. 47 представлена таблица гомологичных положений аминокислот аминокислотных последовательностей PPX растений различных видов.

На фиг. 48 представлена таблица гомологичных положений аминокислот аминокислотных последовательностей PPX растений различных видов.

Подробное описание изобретения

Система быстрого проявления признака (RTDS™).

Согласно любому из различных аспектов и вариантов реализации композиций и способов, описанных в настоящем изобретении, мутации в генах и белках могут быть осуществлены с применением, например, "системы быстрого проявления признака" (RTDS™), технологии, разработанной Cibus. В комбинации или по отдельности, растения, содержащие любую из мутации, описанных в настоящем документе, могут формировать основу для новых устойчивых к гербицидам продуктов. Также предложены семена, полученные из мутантных растений, в которых гены PPX либо гомозиготны, либо гетерозиготны по указанным мутациям. Мутации, описанные в настоящем изобретении, могут быть скомбинированы с любой другой известной мутацией или с мутациями, которые будут открыты в будущем.

В настоящем описании термин "гетерозиготный" относится к присутствию разных аллелей в одном или более геном локусе в гомологичных хромосомных сегментах. В настоящем описании термин "гетерозиготный" может также относиться к образцу, клетке, популяции клеток или организму, в котором(ой) могут обнаруживаться разные аллели в одном или более геном локусе. Гетерозиготные образцы могут также быть определены с помощью известных в данной области техники способов, таких как, например, секвенирование нуклеиновых кислот. Так, если электрофореграмма при секвенировании показывает два пика в одном локусе и оба пика имеют примерно одинаковый размер, данный образец может быть охарактеризован как гетерозиготный. Либо, если один пик меньше другого, но его размер составляет по меньшей мере приблизительно 25% от размера большего пика, данный образец может быть охарактеризован как гетерозиготный. Согласно некоторым вариантам реализации размер меньшего пика составляет по меньшей мере приблизительно 15% от большего пика. Согласно другим вариантам реализации размер меньшего пика составляет по меньшей мере приблизительно 10% от большего пика. Согласно другим вариантам реализации размер меньшего пика составляет по меньшей мере приблизительно 5% от большего пика. Согласно другим вариантам реализации обнаруживается минимальный размер меньшего пика.

В настоящем описании термин "гомозиготный" относится к присутствию идентичных аллелей в одном или более геном локусе в гомологичных хромосомных сегментах. "Гомозиготный" может также относиться к образцу, клетке, популяции клеток или организму, в котором могут обнаруживаться одни и те же аллели в одном или более геном локусе. Гомозиготные образцы могут быть определены посредством известных в данной области техники способов, таких как, например, секвенирование нуклеиновых кислот. Так, если электрофореграмма при секвенировании показывает одиночный пик в конкретном локусе, данный образец может быть назван "гомозиготным" по этому локусу. Термин "гомозиготный" относится к гену или сегменту гена, присутствующему в генотипе клетки или организма в единственном числе ввиду того, что вторая аллель делетирована. В настоящем описании термин "гомозиготный" может также относиться к образцу, клетке, популяции клеток или организму, в котором аллель в одном или более геном локусе обнаруживается в генотипе в единственном числе. Согласно некоторым вариантам

реализации RTDS основана на изменении гена-мишени за счет применения собственной клеточной системы репарации генов для специфичной модификации генной последовательности *in situ*, без встраивания чужеродной ДНК и/или контролирующей экспрессию генов последовательностей. Эта процедура позволяет вносить высокоточные изменения в генетическую последовательность, в то время как остальная часть генома остается неизменной. В отличие от общепринятых трансгенных ГМО, отсутствует встраивание чужеродного генетического материала, и никакой чужеродный генетический материал не остается в растении. Согласно многим вариантам реализации изменения в генетической последовательности, введенные с помощью RTDS, встраиваются неслучайным образом. За счет того, что подвергающиеся воздействию гены сохраняют природную локализацию, отсутствует случайное, неконтролируемое или неблагоприятное действие экспрессионного вектора.

RTDS, обеспечивающая указанное изменение, представляет собой химически синтезированный олигонуклеотид (например, с применением олигонуклеотида репарации генов (GRON)), который может состоять как из ДНК-, так и из модифицированных РНК-оснований, а также других химических фрагментов, и сконструирован так, чтобы гибридизоваться с целевой локализацией в гене с образованием ошибочно спаренных(ой) пар(ы) оснований. Такая ошибочно спаренная пара оснований действует как сигнал для привлечения клеточной собственной природной системы репарации генов к этому участку и коррекции (замены, вставки или делеции) указанного(ых) нуклеотида(ов) в составе гена. По завершении процесса коррекции молекула RTDS распадается, и новомодифицированный или репарированный ген экспрессируется под контролем нормальных для гена эндогенных контрольных механизмов.

Олигонуклеотиды генной репарации ("GRON").

Способы и композиции, описанные в настоящем изобретении, могут быть применены или реализованы с использованием "олигонуклеотидов для генной репарации", например, имеющих конформации и химические свойства согласно приведенному ниже подробному описанию. "Олигонуклеотиды для генной репарации" в контексте настоящего описания также были описаны в опубликованных научных и патентных источниках с применением других названий, включая "рекомбинагенные олигонуклеотиды"; "РНК/ДНК гибридные олигонуклеотиды"; "гибридные олигонуклеотиды"; "смешанные дуплексные олигонуклеотиды" (MDON); "РНК ДНК олигонуклеотиды (RDO)"; "олигонуклеотиды для направленного воздействия на гены (таргетинга)"; "генопласты"; "одноцепочечные модифицированные олигонуклеотиды"; "одноцепочечные олигодезоксинуклеотидные мутационные векторы" (SSOMV); "дуплексные мутационные векторы" и "гетеродуплексные мутационные векторы".

Олигонуклеотиды, обладающие конформациями и химическими свойствами согласно описанию Кмies в патентах США № 5565350 (Кмies I) и № 5731181 (Кмies II), включенных в настоящее описание посредством ссылок, подходят для применения в качестве "олигонуклеотидов для генной репарации" согласно настоящему изобретению. Олигонуклеотиды репарации генов по Кмies I и/или Кмies II содержат две комплементарные нити, одна из которых содержит по меньшей мере один сегмент нуклеотидов РНК-типа ("РНК-сегмент"), спаренных с нуклеотидами ДНК-типа другой нити.

Согласно описанию в Кмies II нуклеотиды, содержащие пуриновые и пиримидиновые основания, могут быть заменены нуклеотидами. Дополнительные молекулы для репарации генов, которые могут применяться в целях настоящего изобретения, включают, но не ограничиваясь перечисленными, описанные в патентах США № 5756325; 5871984; 5760012; 5888983; 5795972; 5780296; 5945339; 6004804 и 6010907; в международном патенте № PCT/US00/23457; и в международных патентных публикациях WO 98/49350; WO 99/07865; WO 99/58723; WO 99/58702 и WO 99/40789, включенных в настоящее описание по всей полноте.

В соответствии с любыми описанными в настоящем документе аспектами, вариантами реализации, способами и/или композициями олигонуклеотиды репарации генов могут представлять собой смешанные дуплексные олигонуклеотиды (MDON), в которых нуклеотидам РНК-типа смешанного дуплексного олигонуклеотида придана устойчивость к РНКазе за счет замещения 2'-гидроксила фтор-, хлор- или бромсодержащей функциональной группой или введения заместителя по 2'-О. Подходящие заместители включают заместители, описанные в Кмies II. Альтернативные заместители могут включать, не ограничиваясь перечисленными, заместители, описанные в патенте США № 5334711 (Sproat), и заместители, описанные в патентных публикациях EP 629387 и EP 679657 (обобщенно - "заявки Martin" (Martin Applications)), которые включены в настоящее описание посредством ссылок. В контексте настоящего описания 2'-фтор, хлор- или бром- производное рибонуклеотида, либо рибонуклеотида с 2'-ОН, замещенным заместителем, описанным в заявках Martin или Sproat, называется "2'-замещенным рибонуклеотидом". В контексте настоящего описания термин "нуклеотид РНК-типа" означает 2'-гидроксил или 2'-замещенный нуклеотид, который связан с другими нуклеотидами смешанного дуплексного олигонуклеотида незамещенной фосфодиэфирной связью или любой ненатуральной связью из описанных в Кмies I или Кмies II. В контексте настоящего описания термин "нуклеотид дезоксирибо-типа" означает нуклеотид, содержащий 2'-Н, который может быть связан с другими нуклеотидами олигонуклеотида репарации генов незамещенной фосфодиэфирной связью или любой ненатуральной связью согласно Кмies I или Кмies II.

В соответствии с любыми описанными в настоящем документе аспектами, вариантами реализации,

способами и/или композициями олигонуклеотид для репарации генов может представлять собой смешанный дуплексный олигонуклеотид (MDON), связанный исключительно незамещенными фосфодиэфирными связями. Согласно альтернативным вариантам реализации связь осуществляется за счет замещенных фосфодиэфиров, производных фосфодиэфиров и связей не на основе фосфора согласно описанию в Кміес II. Согласно еще одному варианту реализации каждый нуклеотид РНК-типа в смешанном дуплексном олигонуклеотиде представляет собой 2'-замещенный нуклеотид. В частности, предпочтительные варианты реализации 2'-замещенных рибонуклеотидов включают, не ограничиваясь перечисленными, 2'-фтор, 2'-метокси, 2'-пропилокси, 2'-аллиокси, 2'-гидроксилэтилокси, 2'-метоксиэтилокси, 2'-фторпропилокси и 2'-трифторпропилокси-замещенные рибонуклеотиды. Более предпочтительные варианты реализации 2'-замещенных рибонуклеотидов представлены 2'-фтор, 2'-метокси, 2'-метоксиэтилокси и 2'-аллиокси-замещенными нуклеотидами. Согласно другому варианту реализации смешанный дуплексный олигонуклеотид связан посредством незамещенных фосфодиэфирных связей.

Несмотря на то что смешанные дуплексные олигонуклеотиды (MDON), содержащие только один тип 2'-замещенных нуклеотидов РНК-типа, удобнее для синтеза, способы согласно настоящему изобретению могут также включать применение смешанных дуплексных олигонуклеотидов, содержащих два или более типа нуклеотидов РНК-типа. На функцию РНК-сегмента может и не влиять разрыв, вызванный введением дезоксинуклеотида между двумя тринуклеотидами РНК-типа, соответственно термин "РНК-сегмент" охватывает такие термины, как "прерванный РНК-сегмент". Непрерывный РНК-сегмент называется сплошным РНК-сегментом. Согласно альтернативному варианту реализации РНК-сегмент может содержать чередующиеся устойчивые к РНКазе и незамещенные 2'-ОН нуклеотиды. Указанные смешанные дуплексные олигонуклеотиды предпочтительно содержат менее 100 нуклеотидов, более предпочтительно менее 85 нуклеотидов, но более 50 нуклеотидов. Первая и вторая нити спарены по Уотсону-Крику. Согласно одному из вариантов реализации нити смешанного дуплексного олигонуклеотида ковалентно связаны линкером, таким как одноцепочечный гекса-, пента- или тетрануклеотид, таким образом, что первая и вторая нити представляют собой сегменты одной олигонуклеотидной цепи, имеющей один 3'- и один 5'-конец. Указанные 3'- и 5'-концы могут быть защищены добавлением "шпилькообразного кэпа", отличающегося тем, что 3'- и 5'-концевые нуклеотиды спарены по Уотсону-Крику со смежными нуклеотидами. Второй шпилькообразный кэп может дополнительно присутствовать в месте соединения первой и второй нитей, удаленном от 3'- и 5'-концов, стабилизируя спаривание по Уотсону-Крику между первой и второй нитями. Указанные первая и вторая нити содержат две области, гомологичные двум фрагментам целевого гена, т.е. имеющие ту же последовательность, что и целевой ген. Гомологичная область содержит нуклеотиды РНК-сегмента и может содержать один или более нуклеотид ДНК-типа соединяющего ДНК-сегмента, а также может содержать нуклеотиды ДНК-типа, не входящие в состав вставочного ДНК-сегмента. Указанные две области гомологии разделены областью, содержащей последовательность, отличающуюся от последовательности целевого гена и называемую "гетерологичной областью"; и каждая из них примыкает к ней. Указанная гетерологичная область может содержать один, два или три ошибочно спаренных нуклеотида. Указанные ошибочно спаренные нуклеотиды могут быть сплошными или, в одном из вариантов могут быть разделены одним или двумя нуклеотидами, гомологичными целевому гену. В одном из вариантов указанная гетерологичная область может также содержать вставку из одного, двух, трех, или из пяти или менее нуклеотидов. В одном из вариантов последовательность смешанного дуплексного олигонуклеотида может отличаться от последовательности целевого гена только делецией одного, двух, трех, или пяти или менее нуклеотидов из смешанного дуплексного олигонуклеотида. Длина и расположение гетерологичной области в этом случае соответствуют длине делеции, даже если в составе указанной гетерологичной области отсутствуют нуклеотиды смешанного дуплексного олигонуклеотида. Расстояние между фрагментами целевого гена, комплементарными двум гомологичным областям, идентично длине гетерологичной области, где планируется замена или замены. Если гетерологичная область содержит вставку, указанные гомологичные области за счет этого разнесены в смешанном дуплексном олигонуклеотиде на большее расстояние по сравнению с комплементарными им гомологичными фрагментами в гене; если гетерологичная область кодирует делецию, справедливо обратное. Каждый из РНК-сегментов смешанных дуплексных олигонуклеотидов представляет собой часть гомологичной области, т.е. области, идентичной по последовательности фрагменту целевого гена; указанные сегменты в совокупности предпочтительно содержат по меньшей мере 13 нуклеотидов РНК-типа и предпочтительно от 16 до 25 нуклеотидов РНК-типа, или еще более предпочтительно 18-22 нуклеотидов РНК-типа, или наиболее предпочтительно 20 нуклеотидов. Согласно одному из вариантов реализации РНК-сегменты гомологичных областей разделены промежуточным ДНК-сегментом и смежны с ним, т.е. "соединены" им. Согласно одному из вариантов реализации каждый нуклеотид гетерологичной области представляет собой нуклеотид промежуточного ДНК-сегмента. Промежуточный ДНК-сегмент, который содержит гетерологичную область смешанного дуплексного олигонуклеотида, называется "мутаторным сегментом".

В соответствии с любыми описанными в настоящем документе аспектами, вариантами реализации, способами и/или композициями олигонуклеотид для репарации генов (GRON) может представлять собой одноцепочечный олигодезоксинуклеотидный мутационный вектор (SSOMV), например, такой как опи-

санный в международной заявке на патент PCT/US00/23457, патентах США № 6271360, 6479292 и 7060500, включенных в настоящее описание по всей полноте посредством ссылок. Последовательность SSOMV основана на тех же принципах, что и мутационные векторы, описанные, например, в патентах США № 5756325, 5871984, 5760012, 5888983, 5795972, 5780296, 5945339, 6004804 и 6010907 и в международных публикациях № WO 98/49350, WO 99/07865, WO 99/58723, WO 99/58702 и WO 99/40789. Последовательность SSOMV содержит две области, гомологичные целевой последовательности, разделенные областью, называемой мутаторной областью, которая содержит требуемое генетическое изменение. Указанная мутаторная область может иметь последовательность той же длины, что и последовательность, разделяющая гомологичные области в целевой последовательности, но отличающуюся. Такая мутаторная область может вызывать замену. В одном из вариантов гомологичные области в SSOMV могут быть последовательными относительно друг друга, в то время как области в целевом гене, имеющие ту же последовательность, разделены одним, двумя или более нуклеотидами. Такой SSOMV приводит к удалению из целевого гена нуклеотидов, отсутствующих в указанном SSOMV. Наконец, последовательность целевого гена, идентичная гомологичным областям, может быть смежной в целевом гене, но разделенной одним, двумя или более нуклеотидами в последовательности SSOMV. Такой SSOMV приводит к вставке в последовательности целевого гена.

Нуклеотиды SSOMV представляют собой дезоксирибонуклеотиды, связанные немодифицированными фосфодиэфирными связями, за исключением того, что 3'-конечная и/или 5'-конечная межнуклеотидная связь или в одном из вариантов две 3'-конечные и/или 5'-конечные межнуклеотидные связи могут быть фосфотиоатными или фосфоамидатными. В контексте настоящего описания межнуклеотидная связь представляет собой связь между нуклеотидами SSOMV и не включает связь между 3'-концевым нуклеотидом или 5'-концевым нуклеотидом и блокирующим заместителем. Согласно конкретному варианту реализации длина SSOMV составляет от 21 до 55 дезоксинуклеотидов, а длины гомологичных областей равны соответственно общей длине по меньшей мере 20 дезоксинуклеотидов, и по меньшей мере две гомологичные области, каждая, должны иметь длину, составляющую по меньшей мере 8 дезоксинуклеотидов.

SSOMV может быть сконструирован так, чтобы быть комплементарным либо кодирующей, либо некодирующей нити целевого гена. Если требуемая мутация представляет собой замену одного основания, предпочтительно, чтобы и мутаторный нуклеотид, и нуклеотид-мишень представляли собой пиримидин. В том случае, если это согласуется с достижением требуемого функционального результата, предпочтительно, чтобы и мутаторный нуклеотид, и нуклеотид-мишень в комплементарной нити представляли собой пиримидины. В частности, предпочтительными являются такие SSOMV, которые кодируют трансверсионные мутации, т.е. С или Т мутаторный нуклеотид ошибочно спаривается соответственно с нуклеотидом С или Т в комплементарной нити.

Помимо олигодезоксинуклеотида, SSOMV может содержать 5'-блокирующий заместитель, присоединенный к 5'-конечным углеродам через линкер. Химия линкера не критична, в отличие от его длины, которая предпочтительно составляет по меньшей мере 6 атомов, а также того, что линкер должен быть гибким. Могут применяться различные нетоксичные заместители, такие как биотин, холестерин или другие стероиды, либо неинтеркалирующий катионный флуоресцентный краситель. В частности, предпочтительными реагентами для получения SSOMV являются реагенты, продаваемые как Cu_3^{TM} и Cu_5^{TM} компанией Glen Research, Стерлинг, Виргиния (в настоящее время -GE Healthcare), которые представляют собой заблокированные фосфоамидиты, при введении в олигонуклеотид дающие 3,3,3',3'-тетраметил N,N'-изопропил-замещенные индомонакарбоцианиновые и индодикарбоцианиновые красители соответственно. Cu_3 особенно предпочтителен. Если индокарбоцианин является N-оксиалкил-замещенным, он может быть удобно присоединен к 5'-концу олигодезоксинуклеотида в виде фосфодиэфира с 5'-концевым фосфатом. Химия линкера красителя между красителем и олигодезоксинуклеотидом не критична, и его выбирают исходя из удобства синтеза. При применении по назначению коммерчески доступного фосфоамидита Cu_3 результирующая 5'-модификация состоит из блокирующего заместителя и линкера, которые вместе составляют N-гидроксипропил-, N'-фосфатидилпропил-3,3,3',3'-тетраметилиндокарбоцианин.

Согласно предпочтительному варианту реализации индокарбоцианиновый краситель является тетра-замещенным по положениям 3 и 3' индольных колец. Без определенного теоретического обоснования можно считать, что указанные замещения не позволяют красителю быть интеркалирующим красителем. Природа заместителей в этих положениях не критична. SSOMV может дополнительно содержать 3'-блокирующий заместитель. В этом случае также химия указанного 3'-блокирующего заместителя не критична.

Описанные в настоящем изобретении мутации могут также быть осуществлены путем мутагенеза (случайного, соматического или направленного) и любых других техник "редактирования" ДНК или рекомбинации, включая, но не ограничиваясь перечисленными, направленное воздействие на гены с применением сайт-специфической гомологичной рекомбинации при помощи нуклеаз "цинковые пальцы".

Доставка олигонуклеотидов репарации генов в растительные клетки.

Любой общеизвестный способ, подходящий для трансформации растительной клетки, может при-

меняться для доставки олигонуклеотидов репарации генов.

Примеры способов описаны ниже.

Микроносители и микроволокна.

Применение металлических микроносителей (микрофер) для введения больших фрагментов ДНК в растительные клетки с целлюлозными клеточными стенками путем проникновения бомбардирующих частиц общеизвестно специалистам в соответствующей области техники (здесь и далее - биолистической доставки). В патентах США № 4945050; 5100792 и 5204253 описаны общие методы выбора микроносителей и устройств для бомбардировки ими.

Конкретные условия применения микроносителей в способах согласно настоящему изобретению описаны в международной публикации WO 99/07865. Согласно иллюстративной методике охлажденные до температуры льда микроносители (60 мг/мл), смешанный дуплексный олигонуклеотид (60 мг/мл), 2,5 М CaCl₂ и 0,1 М спермидина добавляют в указанном порядке; смесь осторожно перемешивают, например, на вортексе в течение 10 мин и затем оставляют при комнатной температуре на 10 мин, после чего микроносители разводят в 5 объемах этанола, центрифугируют и ресуспендируют в 100% этаноле. Хорошие результаты могут быть получены при концентрации в адгезивном растворе 8-10 мкг/мл микроносителей, 14-17 мкг/мл смешанного дуплексного олигонуклеотида, 1,1-1,4 М CaCl₂ и 18-22 мМ спермидина. Оптимальные результаты наблюдались в условиях с 8 мкг/мл микроносителей, 16,5 мкг/мл смешанного дуплексного олигонуклеотида, 1,3 М CaCl₂ и 21 мМ спермидина. Олигонуклеотиды репарации генов могут также быть введены в растительные клетки для применения согласно настоящему описанию с использованием микроволокон для прохождения через клеточную стенку и клеточную мембрану. В патенте США № 5302523 (Coffee et al.) описано применение 30×0,5 мкм и 10×0,3 мкм волокон карбида кремния для облегчения трансформации суспензионных культур кукурузы Black Mexican Sweet. Любые физические методы, подходящие для введения ДНК для трансформации растительной клетки с применением микроволокон, могут применяться для доставки олигонуклеотидов для репарации генов для трансмутации.

Пример методики доставки олигонуклеотидов репарации генов с помощью микроволокон выглядит следующим образом. Стерильные микроволокна (2 мкг) суспендируют в 150 мкл культуральной среды для растений, содержащей приблизительно 10 мкг смешанного дуплексного олигонуклеотида. Суспензионной культуре дают осесть; равные объемы клеточного осадка и стерильной суспензии волокон/нуклеотид перемешивают на вортексе в течение 10 мин и высевают. Селективные среды применяют сразу или с задержкой до приблизительно 120 ч в зависимости от требований для конкретного признака.

Электропорация протопластов.

Согласно альтернативному варианту реализации олигонуклеотиды репарации генов могут быть доставлены в растительную клетку посредством электропорации протопласта, полученного из частей растений. Указанные протопласты получают при помощи обработки частей растений ферментами, в частности листа, в соответствии с методиками, общеизвестными специалистам в данной области техники. См., например, Gallois et al., 1996, в *Methods in Molecular Biology* 55:89-107, Humana Press, Totowa, N.J.; Kipp et al., 1999, в *Methods in Molecular Biology* 133:213-221, Humana Press, Totowa, N.J. Указанные протопласты не нуждаются в культивировании на ростовых средах перед электропорацией. Иллюстративные условия для электропорации - 3×10⁵ протопластов в общем объеме 0,3 мл с концентрацией олигонуклеотида репарации генов от 0,6 до 4 мкг/мл.

ПЭГ-опосредованный захват ДНК протопластами.

Согласно альтернативному варианту реализации нуклеиновые кислоты захватываются растительными протопластами в присутствии мембраномодифицирующего агента полиэтиленгликоля, в соответствии с методиками, общеизвестными специалистам в данной области техники (см., например, Gharti-Chhetri et al., 1992; Datta et al., 1992).

Микроинъектирование.

Согласно альтернативному варианту реализации олигонуклеотида репарации генов могут быть доставлены инъектированием через микрокапилляр в растительные клетки или в протопласты (см., например, Miki et al., 1989; Schnorf et al., 1991).

Трансгеника.

Согласно любому из различных аспектов и вариантов реализации композиций и способов, описанных в настоящем документе, мутации в генах и белках могут быть получены с применением, например, трансгенной технологии. Согласно некоторым вариантам реализации указанные композиции и способы включают растение или растительную клетку, содержащее(ую) трансформированную конструкцию нуклеиновой кислоты, включающую промотор, функционально связанный с описанным в настоящей заявке нуклеотидом РРХ. Способы согласно настоящему изобретению могут включать введение описанной в настоящей заявке конструкции нуклеиновой кислоты РРХ по меньшей мере в одну растительную клетку и регенерирование из нее трансформированного растения. Указанная конструкция нуклеиновой кислоты содержит по меньшей мере один нуклеотид, который кодирует устойчивый к гербицидам белок РРХ согласно описанию в настоящем документе, в частности нуклеотидные последовательности из приведен-

ных на фиг. 2, 4, 6, 8, 10 и 12 и их фрагменты и варианты. Указанные способы также включают применение промотора, способного управлять генной экспрессией в растительной клетке. Согласно одному из вариантов реализации такой промотор представляет собой конститутивный промотор или тканеселективный промотор. Растение, полученное с помощью указанных способов, может обладать повышенной активностью РРХ и/или, в частности, активностью устойчивого к гербицидам РРХ по сравнению с нетрансформированным растением. Соответственно, указанные способы находят применение для усиления или увеличения устойчивости растений по меньшей мере к одному гербициду, что увеличивает активность фермента РРХ, в частности, в присутствии ингибирующего РРХ гербицида.

В соответствии с любыми описанными в настоящем документе аспектами, вариантами реализации, способами и/или композициями способы получения устойчивого к гербицидам растения могут включать трансформирование растительной клетки конструкцией нуклеиновой кислоты, содержащей нуклеотидную последовательность, функционально связанную с промотором, управляющим экспрессией в растительной клетке, и регенерирование трансформированного растения из указанной трансформированной растительной клетки. Указанная нуклеотидная последовательность выбрана из таких нуклеотидных последовательностей, которые кодируют устойчивые к гербицидам РРХ, описанные в настоящем изобретении, в частности из нуклеотидных последовательностей, приведенных на фиг. 2, 4, 6, 8, 10 и 12 и их фрагментов и вариантов. Устойчивое к гербицидам растение, полученное указанным способом, обладает повышенной устойчивостью по сравнению с нетрансформированным растением по меньшей мере к одному гербициду, в частности гербициду, влияющему на активность фермента РРХ, такому как, например, гербицид, ингибирующий РРХ.

Описанные молекулы нуклеиновых кислот могут применяться в конструкциях нуклеиновой кислоты для трансформации растений, например сельскохозяйственных растений, таких как *Solanum tuberosum*. Согласно одному из вариантов реализации такие конструкции нуклеиновой кислоты, содержащие молекулы нуклеиновых кислот согласно настоящему описанию, могут применяться для получения трансгенных растений, обладающих устойчивостью к гербицидам, например известным подавляющим активность РРХ гербицидам, таким как РРХ-ингибирующие гербициды. Указанные конструкции нуклеиновой кислоты могут применяться в экспрессионных кассетах, экспрессионных векторах, трансформирующих векторах, плаزمидях и т.п. Трансгенные растения, полученные после трансформации такими конструкциями, демонстрируют повышенную устойчивость к РРХ-ингибирующим гербицидам, таким как, например, гербициды флумиоксазин и сульфентразон.

Конструкции.

Молекулы нуклеиновых кислот, описанные в настоящем изобретении (например, мутантные гены РРХ), могут применяться при получении рекомбинантных конструкций нуклеиновой кислоты. Согласно одному из вариантов реализации молекулы нуклеиновых кислот согласно настоящему описанию могут применяться при получении конструкций нуклеиновой кислоты, например экспрессионных кассет для экспрессии в представляющем интерес растении.

Экспрессионные кассеты могут включать регуляторные последовательности, функционально связанные с последовательностями нуклеиновых кислот РРХ, описанными в настоящем документе. Указанная кассета может дополнительно содержать по меньшей мере один дополнительный ген, которым ко-трансформируют организм. В одном из вариантов указанный(ые) дополнительный(ые) ген(ы) могут быть заключены в нескольких экспрессионных кассетах.

Указанные конструкции нуклеиновой кислоты могут содержать множество сайтов рестрикции для вставки последовательностей нуклеиновой кислоты РРХ, с регуляцией их транскрипции регуляторными областями. Указанные конструкции нуклеиновой кислоты могут дополнительно содержать молекулы нуклеиновых кислот, кодирующие гены маркеров селекции.

При получении указанных конструкций нуклеиновой кислоты может применяться любой промотор. Указанный промотор может быть нативным или аналогичным, чужеродным или гетерологичным для растения-хозяина и/или последовательностям нуклеиновых кислот РРХ, описанным в настоящем документе. Кроме того, указанный промотор может представлять собой природную последовательность или в одном из вариантов синтетическую последовательность. В том случае, если промотор является "чужеродным" или "гетерологичным" для растения-хозяина, предполагается, что указанный промотор не обнаруживается в природном растении, в которое вводят указанный промотор. В том случае, если указанный промотор является "чужеродным" или "гетерологичным" последовательностям нуклеиновых кислот РРХ, описанным в настоящем документе, предполагается, что указанный промотор не является нативным или встречающимся в природе промотором для функционально связанных последовательностей нуклеиновых кислот РРХ, описанных в настоящем документе. В контексте настоящего описания гибридный ген содержит кодирующую последовательность, функционально связанную с областью инициации транскрипции, гетерологичной указанной кодирующей последовательности.

В соответствии с любыми описанными в настоящем документе аспектами, вариантами реализации, способами и/или композициями последовательности нуклеиновых кислот РРХ, описанные в настоящем изобретении, могут быть экспрессированы с применением гетерологичных промоторов; при получении указанных конструкций могут применяться последовательности нативного промотора. Такие конструк-

ции изменяют уровни экспрессии белка PPX в растении или растительной клетке. Соответственно, изменяется фенотип указанного(ой) растения или растительной клетки. При получении конструкций для контроля экспрессии кодирующей последовательности PPX могут применяться любые промоторы, такие как промоторы для конститутивной, тканеселективной, индуцируемой экспрессии, или другие промоторы для экспрессии в растениях. Конститутивные промоторы включают, например, коровый промотор промотора Rsyn7 и другие конститутивные промоторы, описанные в WO 99/43838 и патенте США № 6072050; коровый промотор CaMV 35S (O'Shell et al. (1985), *Nature*, 313:810-812); актина риса (McElroy et al. (1990), *Plant Cell*, 2:163-171); убиквитина (Christensen et al. (1989), *Plant Mol. Biol.* 12:619-632 и Christensen et al. (1992), *Plant Mol. Biol.* 18:675-689); pEMU (Last et al. (1991), *Theor. Appl. Genet.* 81:581-588); MAS (Velten et al. (1984), *EMBO J.* 3:2723-2730); промотор ALS (патент США № 5659026) и т.п. Другие конститутивные промоторы включены, например, в патенты США № 5608149; 5608144; 5604121; 5569597; 5466785; 5399680; 5268463; 5608142 и 6177611. Тканеселективные промоторы могут применяться для направленной экспрессии PPX в определенной ткани растения. Такие тканеселективные промоторы включают, не ограничиваясь перечисленными, специфичные для листьев промоторы, специфичные для корней промоторы, специфичные для семян промоторы и специфичные для стеблей промоторы. Тканеселективные промоторы включают Yamamoto et al. (1997), *Plant J.* 12(2):255-265; Kawamata et al. (1997), *Plant Cell Physiol.* 38(7):792-803; Hansen et al. (1997), *Mol. Gen. Genet.* 254(3):337-343; Russell et al. (1997), *Transgenic Res.* 6(2):157-168; Rinehart et al. (1996), *Plant Physiol.* 112(3):1331-1341; Van Camp et al. (1996), *Plant Physiol.* 112(2):525-535; Canevascini et al. (1996), *Plant Physiol.* 112(2):513-524; Yamamoto et al. (1994), *Plant Cell Physiol.* 35(5):773-778; Lam (1994), *Results Probl. Cell Differ.* 20:181-196; Orozco et al. (1993), *Plant Mol. Biol.* 23(6):1129-1138; Matsuoka et al. (1993), *Proc Natl. Acad. Sci. USA* 90(20):9586-9590 и Guevara-Garcia et al. (1993), *Plant J.* 4(3):495-505. Указанные конструкции нуклеиновой кислоты также могут включать области терминации транскрипции. При применении областей терминации транскрипции любая область терминации может применяться при получении указанных конструкций нуклеиновой кислоты. Например, указанная область терминации может быть нативной для указанной области инициации транскрипции, может быть нативной для функционально связанной представляющей интерес последовательности PPX, может быть нативной для растения-хозяина, или может быть получена из другого источника (т.е. чужеродного или гетерологичного промотору, представляющей интерес молекуле нуклеиновой кислоты PPX, растению-хозяину или любой их комбинации). Примеры областей терминации, доступных для применения в конструкциях согласно настоящему описанию, включают таковые из Ti-плазмиды *A. tumefaciens*, такие как области терминации октопинсинтазы и нопалинсинтазы. См. также Guerineau et al. (1991), *Mol. Gen. Genet.* 262:141-144; Proudfoot (1991), *Cell* 64:671-674; Sanfacon et al. (1991), *Genes Dev.* 5:141-149; Mogen et al. (1990), *Plant Cell*, 2:1261-1272; Munroe et al. (1990), *Gene* 91:151-158; Ballas et al. (1989), *Nucleic Acids Res.* 17:7891-7903 и Joshi et al. (1987), *Nucleic Acid Res.* 15:9627-9639.

В соответствии с любыми описанными в настоящем документе аспектами, вариантами реализации, способами и/или композициями нуклеиновые кислоты могут быть оптимизированы для повышения экспрессии в трансформированном растении, т.е. нуклеиновые кислоты, кодирующие мутантные белки PPX, могут быть синтезированы с применением кодон-оптимизации для повышения экспрессии в растениях. См., например, описание применения хозяйской кодон-оптимизации у Campbell and Gowri (1990), *Plant Physiol.* 92:1-11. В данной области техники существуют способы синтеза генов, оптимизированных для растений. См., например, патенты США № 5380831 и 5436391 и Murray et al. (1989), *Nucleic Acids Res.* 17:477-498.

Кроме того, описанные в настоящем изобретении последовательности нуклеиновых кислот могут быть модифицированы иным образом. Например, известно, что дополнительные модификации последовательностей повышают экспрессию в клетках-хозяевах. Такие модификации включают элиминацию последовательностей, кодирующих ложные сигналы полиаденилирования, сигналы сайтов сплайсинга экзонов/интронов, транспозоноподобные повторы и другие такие хорошо изученные последовательности, которые могут оказывать отрицательное действие на генную экспрессию. Содержание G-C в указанной последовательности также может быть скорректировано до уровней, примерно соответствующих целевым клеткам-хозяевам, согласно подсчетам, основанным на сравнении с известными генами, экспрессируемыми в клетке-хозяине. Кроме того, указанная последовательность может быть модифицирована, чтобы избежать формирования предсказанных вторичных шпилечных структур мРНК. Другие последовательности нуклеиновых кислот могут также применяться при получении конструкций согласно настоящему изобретению, например, для повышения экспрессии кодирующей последовательности PPX. Такие последовательности нуклеиновых кислот включают интроны AdhI кукурузы, ген intron1 (Callis et al. (1987), *Genes and Development* 1:1183-1200) и лидерные последовательности (W-последовательность) вируса табачной мозаики (TMV), вируса хлоротичной пятнистости кукурузы и вируса мозаики люцерны (Gallie et al. (1987), *Nucleic Acid Res.* 15:8693-8711 и Skuzeski et al. (1990), *Plant Mol. Biol.* 15:65-79, 1990). Было показано, что первый интрон локуса *shrunken-1* кукурузы увеличивает экспрессию генов в гибридных генных конструкциях. В патентах США № 5424412 и 5593874 описано применение конкретных интронов в конструкциях для генной экспрессии; Gallie et al. ((1994), *Plant Physiol.* 106:929-939) также пока-

зали, что интроны подходят для регуляции генной экспрессии тканеспецифическим образом. Для большего усиления или оптимизации экспрессии гена PPX растительные экспрессионные векторы, описанные в настоящем изобретении, могут также содержать последовательности ДНК, содержащие участки прикрепления к матриксу (MAR). Растительные клетки, трансформированные такими модифицированными экспрессионными системами, соответственно, могут демонстрировать сверхэкспрессию или конститутивную экспрессию нуклеотидной последовательности согласно настоящему описанию.

Экспрессионные конструкции, описанные в настоящем изобретении, могут также включать последовательности нуклеиновых кислот, способные направлять экспрессию последовательности PPX в хлоропласты. Такие последовательности нуклеиновых кислот включают нацеленные на хлоропласты последовательности, которые кодируют транзитный пептид хлоропласта для направления представляющего интерес генного продукта в хлоропласты растительной клетки. Такие транзитные пептиды известны в данной области техники. В отношении нацеленных на хлоропласты последовательностей "функционально связанный" означает, что последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая транзитный пептид (т.е. нацеленная на хлоропласты последовательность), связана с молекулами нуклеиновых кислот PPX, описанными в настоящем патенте таким образом, что указанные две последовательности являются последовательными и находятся в пределах одной и той же рамки считывания. См., например, Von Heijne et al. (1991), *Plant Mol. Biol. Rep.* 9:104-126; Clark et al. (1989), *J. Biol. Chem.* 264:17544-17550; Della-Cioppa et al. (1987), *Plant Physiol.* 84:965-968; Romer et al. (1993), *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 196:1414-1421 и Shah et al. (1986), *Science* 233:478-481. В то время как белки PPX, описанные в настоящем изобретении, могут включать нативный транзитный пептид хлоропласта, любой известный в данной области техники транзитный пептид хлоропласта может быть гибридизован с последовательностью аминокислот зрелого белка PPX путем функционального связывания нацеленной на хлоропласты последовательности с 5'-концом нуклеотидной последовательности, кодирующей зрелый белок PPX. Нацеленные на хлоропласты последовательности известны в данной области техники и включают хлоропластную малую субъединицу рибулозо-1,5-бифосфаткарбоксилазы (Rubisco) (de Castro Silva Filho et al. (1996), *Plant Mol. Biol.* 30:769-780; Schnell et al. (1991), *J. Biol. Chem.* 266(5):3335-3342); 5-(еноилпирувил)шикимат-3-фосфатсинтазу (EPSPS) (Archer et al. (1990), *J. Bioenerg. Biomemb.* 22(6):789-810); триптофансинтазу (Zhao et al. (1995), *J. Biol. Chem.* 270(11):6081-6087); пластоцианин (Lawrence et al. (1997), *J. Biol. Chem.* 272(33):20357-20363); хоризматсинтазу (Schmidt et al. (1993), *J. Biol. Chem.* 268(36):27447-27457) и свето-собирающий хлорофилл А/В-связывающий белок (LHBP) (Lamppa et al. (1988), *J. Biol. Chem.* 263:14996-14999). См. также Von Heijne et al. (1991), *Plant Mol. Biol. Rep.* 9:104-126; Clark et al. (1989), *J. Biol. Chem.* 264:17544-17550; Della-Cioppa et al. (1987), *Plant Physiol.* 84:965-968; Romer et al. (1993), *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 196:1414-1421 и Shah et al. (1986), *Science*, 233 :478-481.

В соответствии с любыми описанными в настоящем документе аспектами, вариантами реализации, способами и/или композициями могут быть получены конструкции нуклеиновой кислоты для направления экспрессии мутантной кодирующей последовательности PPX из хлоропласта растительной клетки. Способы трансформации хлоропластов известны в данной области техники. См., например, Svab et al. (1990), *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 87:8526-8530; Svab and Maliga (1993), *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90:913-917; Svab and Maliga (1993), *EMBO J.* 12:601-606. Указанный способ основан на доставке с помощью генной пушки ДНК, содержащей меркер селекции, и направленном перемещении указанной ДНК в пластидный геном посредством гомологичной рекомбинации. Дополнительно, трансформация пластид может производиться путем трансактивации молчащего трансгена пластидного происхождения посредством тканеселективной экспрессии кодируемой в ядре и направляемой в пластиды РНК-полимеразы. Такая система описана у McBride et al. (1994), *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 91:7301-7305.

Представляющие интерес нуклеиновые кислоты для направленного перемещения в хлоропласт могут быть оптимизированы для экспрессии в указанном хлоропласте с учетом разницы во встречаемости кодонов между ядром растительной клетки и указанной органеллой. Таким образом, представляющие интерес нуклеиновые кислоты могут быть синтезированы с применением хлоропласт-оптимизированных кодонов. См., например, патент США № 5380831, включенный в настоящий документ посредством ссылки. Указанные конструкции нуклеиновой кислоты могут применяться для трансформирования растительных клеток и регенерирования трансгенных растений, содержащих кодирующие последовательности мутантного PPX. Существуют разнообразные растительные трансформирующие векторы и способы трансформации растений. См., например, патент США № 6753458, An, G. et al. (1986), *Plant Physiol.*, 81:301-305; Fry, J. et al. (1987), *Plant Cell Rep.* 6:321-325; Block, M. (1988), *Theor. Appl. Genet.* 76:767-774; Hinchee et al. (1990), *Stadler. Genet. Symp.* 203212. 203-212; Cousins et al. (1991), *Aust. J. Plant Physiol.* 18:481-494; Chee, P.P. and Slightom, J.L. (1992), *Gene*. 118:255-260; Christou et al. (1992), *Trends. Biotechnol.* 10:239-246; D'Halluin et al. (1992), *Bio/Technol.* 10:309-314; Dhir et al. (1992), *Plant Physiol.* 99:81-88; Casas et al. (1993), *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 90:11212-11216; Christou, P. (1993), *In Vitro Cell. Dev. Biol.-Plant*, 29P:119-124; Davies, et al. (1993), *Plant Cell Rep.* 12:180-183; Dong, J.A. and Mc Hughen, A. (1993), *Plant Sci.* 91:139-148; Franklin, C.I. and Trieu, T.N. (1993), *Plant. Physiol.* 102:167; Golovkin et al. (1993), *Plant Sci.* 90:41-52; Guo Chin Sci. Bull. 38:2072-2078; Asano, et al. (1994), *Plant Cell Rep.* 13; Ayeres N.M. and Park, W.D. (1994), *Crit. Rev. Plant. Sci.* 13:219-239; Barcelo et al. (1994), *Plant. J.* 5:583-592;

Becker, et al. (1994), *Plant. J.* 5:299-307; Borkowska et al. (1994), *Acta. Physiol. Plant.* 16:225-230; Christou, P. (1994), *Agro. Food. Ind. Hi Tech.* 5:17-27; Eapen et al. (1994), *Plant Cell Rep.* 13:582-586; Hartman et al. (1994), *Bio-Technology* 12: 919923; Ritala et al. (1994), *Plant. Mol. Biol.* 24:317-325; and Wan, Y.C. and Lemaux, P.G. (1994), *Plant Physiol.* 104:3748. Указанные конструкции могут быть трансформированы в растительных клетках с применением гомологичной рекомбинации.

Данные конструкции, содержащие описанные в настоящем изобретении последовательности нуклеиновых кислот РРХ, могут применяться в различных способах получения трансгенных клеток-хозяев, таких как бактерии и дрожжи, и для трансформирования растительных клеток и в некоторых случаях регенерирования трансгенных растений. Например, способы получения трансгенного сельскохозяйственного растения, содержащего мутантные белки РРХ, описанные в настоящем изобретении, отличающегося тем, что экспрессия нуклеиновой(ых) кислот(ы) в указанном растении приводит к толерантности к гербицидам по сравнению с растениями дикого типа или с известными растениями с мутантным РРХ, включающий (а) введение в растительную клетку экспрессионного вектора, содержащего нуклеиновую кислоту, кодирующую мутантный белок РРХ, и (б) получение из указанной растительной клетки трансгенного растения, которое является гербицидотолерантным.

Мутации РРХ.

Указанные композиции и способы могут относиться по меньшей мере отчасти к мутациями в гене РРХ, например мутациям, которые придают растению устойчивость или толерантность к гербициду из семейства ингибирующих РРХ гербицидов. Также указанные композиции и способы согласно некоторым вариантам реализации относятся к применению олигонуклеотида репарации генов для получения требуемой мутации в хромосомных или эпизомных генных последовательностях растений, кодирующего белок РРХ. Мутантный белок, который может согласно некоторым вариантам реализации в существенной мере поддерживать каталитическую активность белка дикого типа, обеспечивает повышенную устойчивость или толерантность растения к гербициду РРХ-ингибирующего семейства и, таким образом, согласно некоторым вариантам реализации обеспечивает в существенной мере нормальный рост или развитие указанного растения, его органов, тканей или клеток по сравнению с растением дикого типа независимо от присутствия или отсутствия указанного гербицида. Указанные композиции и способы также относятся к нетрансгенной или трансгенной растительной клетке, ген РРХ которой подвергся мутации, регенерированному из нее нетрансгенному или трансгенному растению, а также растению, полученному в результате скрещивания с применением регенерированного нетрансгенного или трансгенного растения с растением, содержащим мутацию, например, в другом гене РРХ. Применение указанных мутаций может также быть нацелено на толерантность к данным ингибиторам в растениях, включая сельскохозяйственные растения, водоросли, бактерии, грибы и системы на основе млекопитающих.

В соответствии с любыми описанными в настоящем документе аспектами, вариантами реализации, способами и/или композициями по меньшей мере одна мутация мутантного белка РРХ может присутствовать в положении аминокислоты, соответствующем положению, выбранному из группы, состоящей из положений 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 и 525 последовательности SEQ ID NO: 1.

Согласно некоторым вариантам реализации мутантный белок РРХ содержит мутацию в одном или более положениях аминокислот, соответствующих положению, выбранному из группы, состоящей из положений 58, 64, 74, 84, 93, 97, 98, 101, 119, 121, 124, 139, 150, 151, 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 и 50 последовательности SEQ ID NO: 9.

Согласно некоторым вариантам реализации мутантный белок РРХ содержит мутацию в положении аминокислоты, соответствующем положению 52 последовательности SEQ ID NO: 1. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный белок РРХ содержит мутацию в положении аминокислоты, соответствующем положению 85 последовательности SEQ ID NO: 1. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный белок РРХ содержит мутацию в положении аминокислоты, соответствующем положению 111 последовательности SEQ ID NO: 1. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный белок РРХ содержит мутацию в положении аминокислоты, соответствующем положению 130 последовательности SEQ ID NO: 1. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный белок РРХ содержит мутацию в положении аминокислоты, соответствующем положению 139 последовательности SEQ ID NO: 1. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный белок РРХ содержит мутацию в положении аминокислоты, соответствующем положению 143 последовательности SEQ ID NO: 1. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный белок РРХ содержит мутацию в положении аминокислоты, соответствующем положению 144 последовательности SEQ ID NO: 1. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный белок РРХ содержит мутацию в положении аминокислоты, соответствующем положению 145 последовательности SEQ ID NO: 1. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный белок РРХ содержит мутацию в положении аминокислоты, соответствующем положению 147 последовательности SEQ ID NO: 1. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный белок РРХ

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 и 525 последовательности SEQ ID NO: 1.

Согласно некоторым вариантам реализации мутантный белок PPX включает три или более мутации, по меньшей мере одна из которых находится в положении аминокислоты, соответствующем положению, выбранному из группы, состоящей из 58, 64, 74, 84, 93, 97, 98, 101, 119, 121, 124, 139, 150, 151, 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 и 500 последовательности SEQ ID NO: 9.

В соответствии с любыми описанными в настоящем документе аспектами, вариантами реализации, способами и/или композициями, по меньшей мере одна мутация мутантного белка PPX может присутствовать в положении аминокислоты, соответствующем положению, выбранному из группы, состоящей из 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 и I525 последовательности SEQ ID NO: 1.

В соответствии с любыми описанными в настоящем документе аспектами, вариантами реализации, способами и/или композициями, по меньшей мере одна мутация мутантного белка PPX может присутствовать в положении аминокислоты, соответствующем положению, выбранному из группы, состоящей из 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 и T500 последовательности SEQ ID NO: 9.

Согласно некоторым вариантам реализации мутантный белок PPX содержит мутацию в положении аминокислоты, соответствующем положению G52 последовательности SEQ ID NO: 1. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный белок PPX содержит мутацию в положении аминокислоты, соответствующем положению N85 последовательности SEQ ID NO: 1. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный белок PPX содержит мутацию в положении аминокислоты, соответствующем положению E111 последовательности SEQ ID NO: 1. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный белок PPX содержит мутацию в положении аминокислоты, соответствующем положению G130 последовательности SEQ ID NO: 1. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный белок PPX содержит мутацию в положении аминокислоты, соответствующем положению D139 последовательности SEQ ID NO: 1. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный белок PPX содержит мутацию в положении аминокислоты, соответствующем положению P143 последовательности SEQ ID NO: 1. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный белок PPX содержит мутацию в положении аминокислоты, соответствующем положению R144 последовательности SEQ ID NO: 1. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный белок PPX содержит мутацию в положении аминокислоты, соответствующем положению F145 последовательности SEQ ID NO: 1. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный белок PPX содержит мутацию в положении аминокислоты, соответствующем положению L147 последовательности SEQ ID NO: 1. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный белок PPX содержит мутацию в положении аминокислоты, соответствующем положению F165 последовательности SEQ ID NO: 1. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный белок PPX содержит мутацию в положении аминокислоты, соответствующем положению L167 последовательности SEQ ID NO: 1. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный белок PPX содержит мутацию в положении аминокислоты, соответствующем положению I170 последовательности SEQ ID NO: 1. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный белок PPX содержит мутацию в положении аминокислоты, соответствующем положению A180 последовательности SEQ ID NO: 1. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный белок PPX содержит мутацию в положении аминокислоты, соответствующем положению P185 последовательности SEQ ID NO: 1. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный белок PPX содержит мутацию в положении аминокислоты, соответствующем положению E192 последовательности SEQ ID NO: 1. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный белок PPX содержит мутацию в положении аминокислоты, соответствующем положению S193 последовательности SEQ ID NO: 1. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный белок PPX содержит мутацию в положении аминокислоты, соответствующем положению R199 последовательности SEQ ID NO: 1. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный белок PPX содержит мутацию в положении аминокислоты, соответствующем положению V206 последовательности SEQ ID NO: 1. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный белок PPX содержит мутацию в положении аминокислоты, соответствующем положению E212 последовательности SEQ ID NO: 1. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный белок PPX содержит мутацию в положении аминокислоты, соответствующем положению Y219 последовательности SEQ ID NO: 1. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный белок PPX содержит мутацию в положении аминокислоты, соответствующем положению A220 последовательности SEQ ID NO: 1. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный

способами и/или композициями мутантный белок PPX может содержать одну или более мутаций, выбранных из мутаций, приведенных в табл. 1.

Таблица 1

Мутации аминокислот в белке PPX *Arabidopsis thaliana*

G52K	F145Y	A220I	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	S332L	E440K	V470Y	V508T
R144L	E192K	K229Q	K270Q	L360D	V444I	D484A	

В соответствии с любыми описанными в настоящем документе аспектами, вариантами реализации, способами и/или композициями, указанная одна или более мутаций в мутантном гене PPX может кодировать мутантный белок PPX, содержащий одну или более мутацию, две или более мутации или три или более мутации, выбранные из группы, состоящей из

замены глицин→лизин в положении, соответствующем положению 52 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены аспарагин→аспарагиновая кислота в положении, соответствующем положению 85 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены глутаминовая кислота→валин в положении, соответствующем положению 111 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены глицин→аспарагин в положении, соответствующем положению 130 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены аспарагиновая кислота→гистидин в положении, соответствующем положению 139 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены пролин→аргинин в положении, соответствующем положению 143 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены аргинин→цистеин в положении, соответствующем положению 144 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены аргинин→гистидин в положении, соответствующем положению 144 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены аргинин→лейцин в положении, соответствующем положению 144 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены фенилаланин→лейцин в положении, соответствующем положению 145 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены фенилаланин→тирозин в положении, соответствующем положению 145 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены лейцин→валин в положении, соответствующем положению 147 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены фенилаланин→аспарагин в положении, соответствующем положению 165 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены аланин→треонин в положении, соответствующем положению 180 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены пролин→гистидин в положении, соответствующем положению 185 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены пролин→аргинин в положении, соответствующем положению 185 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены пролин→тирозин в положении, соответствующем положению 185 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены глутаминовая кислота→аспарагиновая кислота в положении, соответствующем положению 192 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены глутаминовая кислота→лизин в положении, соответствующем положению 192 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены серин→треонин в положении, соответствующем положению 193 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены аргинин→лейцин в положении, соответствующем положению 199 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены валин→фенилаланин в положении, соответствующем положению 206 последовательности

тельности SEQ ID NO: 1;

замены лейцин→метионин в положении, соответствующем положению 393 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены лейцин→серин в положении, соответствующем положению 393 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены лейцин→валин в положении, соответствующем положению 393 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены лейцин→аргинин в положении, соответствующем положению 403 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены лейцин→серин в положении, соответствующем положению 403 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены лейцин→серин в положении, соответствующем положению 424 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены тирозин→цистеин в положении, соответствующем положению 426 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены тирозин→фенилаланин в положении, соответствующем положению 426 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены тирозин→гистидин в положении, соответствующем положению 426 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены тирозин→изолейцин в положении, соответствующем положению 426 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены тирозин→лейцин в положении, соответствующем положению 426 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены тирозин→аргинин в положении, соответствующем положению 426 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены тирозин→треонин в положении, соответствующем положению 426 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены тирозин→валин в положении, соответствующем положению 426 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены лизин→серин в положении, соответствующем положению 438 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены глутаминовая кислота→лизин в положении, соответствующем положению 440 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены валин→изолейцин в положении, соответствующем положению 444 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены лейцин→валин в положении, соответствующем положению 455 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены лизин→валин в положении, соответствующем положению 457 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены валин→серин в положении, соответствующем положению 470 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены валин→тирозин в положении, соответствующем положению 470 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены фенилаланин→серин в положении, соответствующем положению 478 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены фенилаланин→глицин в положении, соответствующем положению 483 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены аспарагиновая кислота→аланин в положении, соответствующем положению 484 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены изолейцин→глутаминовая кислота в положении, соответствующем положению 485 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены лизин→аспарагин в положении, соответствующем положению 490 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены лейцин→фенилаланин в положении, соответствующем положению 503 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены валин→треонин в положении, соответствующем положению 508 последовательности SEQ ID NO: 1; и замену

изолейцин→треонин в положении, соответствующем положению 525 последовательности SEQ ID NO: 1.

В соответствии с любыми описанными в настоящем документе аспектами, вариантами реализации,

антам реализации мутантный ген PPX кодирует мутантный белок PPX, который содержит замену изолейцин→треонин в положении, соответствующем положению 525 последовательности SEQ ID NO: 1.

В табл. 2 приведен обзор нуклеотидных/кодонных мутаций в пластидном гене PPX Arabidopsis, приводящих к заменам аминокислот, которые придают толерантность к ингибиторам PPX. Номера положений основаны на нумерации в пластидном гене PPX Arabidopsis No. At4g01690 (SEQ ID NO: 1).

Таблица 2

АК МТЦ	НК мтц	АК МТЦ	НК мтц	АК МТЦ	НК мтц	АК МТЦ	НК мтц
G52K	GGG → AAA	A220I	GCT → ATT	S332C	TCT → TGT	Y426C	TAC → TGC
N85D	AAT → GAT	A220L	GCT → CTT	L357I	CTC → ATC	Y426F	TAC → TTC
R144C	AGG → TGC AGG → TGT	A220T	GCT → ACT	K359R	AAA → AGA	Y426H	TAC → CAC
R144H	AGG → CAC AGG → CAT	A220V	GCT → GTT	K359T	AAA → ACT	Y426I	TAC → ATC
F145L	TTT → CTT	L226M	GTG → ATG	L393M	TTG → ATG	Y426L	TAC → TTA TAC → CTC
F145Y	TTT → TAT	M228L	ATG → CTG	L393S	TTG → TCG	Y426R	TAC → CGC
A180T	GCA → ACA	S244G	AGC → GGC	L393V	TTG → GTG	Y426T	TAC → ACC
P185H	CCG → CAC CCG → CAT	S244T	AGC → ACC	L403R	TTA → CGA	Y426V	TAC → GTC
P185R	CCG → CGG	Q272F	CAG → TTC CAG → TTT	L403S	TTA → TCA	F478S	TTT → TCT
A220C	GCT → TGT	S305L	TCA → TTA	L424S	TTG → TCG	S525T	ATT → ACT

"АК мтц" относится к мутации аминокислоты;

"НК мтц" относится к мутации нуклеиновой кислоты.

В соответствии с любыми описанными в настоящем документе аспектами, вариантами реализации, способами и/или композициями мутантный ген PPX может содержать замену GGG→AAA, которая кодирует мутантный белок PPX, который содержит замену глицин→лизин в положении, соответствующем положению 52 последовательности SEQ ID NO: 1. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный ген PPX содержит мутацию нуклеиновой кислоты AAT→GAT, которая кодирует мутантный белок PPX, который содержит замену аспарагин→аспарагиновая кислота в положении, соответствующем положению 85 последовательности SEQ ID NO: 1. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный ген PPX содержит мутацию нуклеиновой кислоты AGG→TGC или TGT, которая кодирует мутантный белок PPX, который содержит замену аргинин→цистеин в положении, соответствующем положению 144 последовательности SEQ ID NO: 1. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный ген PPX содержит мутацию нуклеиновой кислоты AGG→CAC или CAT, которая кодирует мутантный белок PPX, который содержит замену аргинин→гистидин в положении, соответствующем положению 144 последовательности SEQ ID NO: 1. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный ген PPX содержит мутацию нуклеиновой кислоты TTT→CTT, которая кодирует мутантный белок PPX, который содержит замену фенилаланин→лейцин в положении, соответствующем положению 145 последовательности SEQ ID NO: 1. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный ген PPX содержит мутацию нуклеиновой кислоты TTT→TAT, которая кодирует мутантный белок PPX, который содержит замену фенилаланин→тирозин в положении, соответствующем положению 145 последовательности SEQ ID NO: 1. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный ген PPX содержит мутацию нуклеиновой кислоты GCA→ACA, которая кодирует мутантный белок PPX, который содержит замену аланин→треонин в положении, соответствующем положению 180 последовательности SEQ ID NO: 1. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный ген PPX содержит мутацию нуклеиновой кислоты CCG→CAC или CAT, которая кодирует мутантный белок PPX, который содержит замену пролин→аргинин в положении, соответствующем положению 185 последовательности SEQ ID NO: 1. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный ген PPX содержит мутацию нуклеиновой кислоты CCG→CGT, которая кодирует мутантный белок PPX, который содержит замену пролин→гистидин в положении, соответствующем положению 185 последовательности SEQ ID NO: 1. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный ген PPX содержит мутацию нуклеиновой кислоты CCG→CGG, которая кодирует мутантный белок PPX, который содержит замену пролин→аргинин в положении, соответствующем положению 185 последовательности SEQ ID NO: 1. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный ген PPX содержит мутацию нуклеиновой кислоты GCT→TGT, которая кодирует мутантный белок PPX, который содержит замену аланин→цистеин в положении, соответствующем положению 220 последовательности SEQ ID NO: 1. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный ген PPX содержит мутацию нуклеиновой кислоты GCT→ATT, которая кодирует мутантный белок PPX, который содержит замену ала-

зин→фенилаланин в положении, соответствующем положению 426 последовательности SEQ ID NO: 1. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный ген PPX содержит мутацию нуклеиновой кислоты TAC→CAC, которая кодирует мутантный белок PPX, который содержит замену тирозин→гистидин в положении, соответствующем положению 426 последовательности SEQ ID NO: 1. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный ген PPX содержит мутацию нуклеиновой кислоты TAC→ATC, которая кодирует мутантный белок PPX, который содержит замену тирозин→изолейцин в положении, соответствующем положению 426 последовательности SEQ ID NO: 1. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный ген PPX содержит мутацию нуклеиновой кислоты TAC→TTA или CTC, которая кодирует мутантный белок PPX, который содержит замену тирозин→лейцин в положении, соответствующем положению 426 последовательности SEQ ID NO: 1. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный ген PPX содержит мутацию нуклеиновой кислоты TAC→CGC, которая кодирует мутантный белок PPX, который содержит замену тирозин→аргинин в положении, соответствующем положению 426 последовательности SEQ ID NO: 1. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный ген PPX содержит мутацию нуклеиновой кислоты TAC→ACC, которая кодирует мутантный белок PPX, который содержит замену тирозин→треонин в положении, соответствующем положению 426 последовательности SEQ ID NO: 1. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный ген PPX содержит мутацию нуклеиновой кислоты TAC→GTC, которая кодирует мутантный белок PPX, который содержит замену тирозин→валин в положении, соответствующем положению 426 последовательности SEQ ID NO: 1. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный ген PPX содержит мутацию нуклеиновой кислоты TTT→TCT, которая кодирует мутантный белок PPX, который содержит замену фенилаланин→серин в положении, соответствующем положению 478 последовательности SEQ ID NO: 1. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный ген PPX содержит мутацию нуклеиновой кислоты ATT→ACT, которая кодирует мутантный белок PPX, который содержит замену изолейцин→треонин в положении, соответствующем положению 525 последовательности SEQ ID NO: 1.

В табл. 3А приведен обзор нуклеотидных/кодонных мутаций в пластидном гене PPX картофеля, приводящих к заменам аминокислот, которые придают толерантность к ингибиторам PPX. Номера положений основаны на нумерации пластидного гена PPX Arabidopsis No. At4g01690 (SEQ ID NO: 1).

Таблица 3А

АК мтц	НК мтц	АК мтц	НК мтц	АК мтц	НК мтц	АК мтц	НК мтц
N52K	AAT → AAA	A220I	GCC → ATC	S332C	AGT → TGT	Y426C	TAC → TGC
N85D	AAT → GAT	A220L	GCC → CTC	L357I	CTT → ATT	Y426F	TAC → TTC
R144C	CGC → TGC	A220T	GCC → ACC	S359R	AGT → AGA	Y426H	TAC → CAC
R144H	CGC → CAC	A220V	GCC → GTC	S359T	AGT → ACT	Y426I	TAC → ATC
F145L	TTT → CTT	L226M	TTG → ATG	L393M	TTG → ATG	Y426L	TAC → TTA TAC → CTC
F145Y	TTT → TAT	M228L	ATG → CTG	L393S	TTG → TCG	Y426R	TAC → CGC
A180T	GCC → ACC	S244G	AGC → GGC	L393V	TTG → GTG	Y426T	TAC → ACC
P185H	CCT → CAT	S244T	AGC → ACC	L403R	CTA → CGA	Y426V	TAC → GTC
P185R	CCT → CGT	K272F	AAA → TTT AAA → TTC	L403S	CTA → TCA	F478S	TTT → TCT
A220C	GCC → TGC	S305L	TCT → CTT	L424S	TTG → TCG	S525T	TCT → ACT

"АК мтц" относится к мутации аминокислоты;

"НК мтц" относится к мутации нуклеиновой кислоты.

Согласно некоторым вариантам реализации в соответствии с любыми описанными в настоящем документе аспектами, вариантами реализации, способами и/или композициями, указанная одна или более мутаций в мутантном гене PPX может кодировать мутантный белок PPX, содержащий одну или более мутацию, две или более мутации, или три или более мутации, выбранные из группы, состоящей из

замены аспарагин→лизин в положении, соответствующем положению 52 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены аспарагин→аспарагиновая кислота в положении, соответствующем положению 85 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены аргинин→цистеин в положении, соответствующем положению 144 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены аргинин→гистидин в положении, соответствующем положению 144 последовательности SEQ ID NO: 1;

замены фенилаланин→лейцин в положении, соответствующем положению 145 последовательности

лейновой кислоты TTG→GTG, которая кодирует мутантный белок PPX, который содержит замену лейцин→валин в положении, соответствующем положению 393 последовательности SEQ ID NO: 7. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный ген PPX содержит мутацию нуклеиновой кислоты СТА→СГА, которая кодирует мутантный белок PPX, который содержит замену лейцин→аргинин в положении, соответствующем положению 403 последовательности SEQ ID NO: 7. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный ген PPX содержит мутацию нуклеиновой кислоты СТА→ТСА, которая кодирует мутантный белок PPX, который содержит замену лейцин→серин в положении, соответствующем положению 403 последовательности SEQ ID NO: 7. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный ген PPX содержит мутацию нуклеиновой кислоты TTG→TCG, которая кодирует мутантный белок PPX, который содержит замену лейцин→серин в положении, соответствующем положению 424 последовательности SEQ ID NO: 7. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный ген PPX содержит мутацию нуклеиновой кислоты ТАС→ТGC, которая кодирует мутантный белок PPX, который содержит замену тирозин→цистеин в положении, соответствующем положению 426 последовательности SEQ ID NO: 7. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный ген PPX содержит мутацию нуклеиновой кислоты ТАС→ААС, которая кодирует мутантный белок PPX, который содержит замену тирозин→фенилаланин в положении, соответствующем положению 426 последовательности SEQ ID NO: 7. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный ген PPX содержит мутацию нуклеиновой кислоты ТАС→САС, которая кодирует мутантный белок PPX, который содержит замену тирозин→гистидин в положении, соответствующем положению 426 последовательности SEQ ID NO: 7. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный ген PPX содержит мутацию нуклеиновой кислоты ТАС→АТС, которая кодирует мутантный белок PPX, который содержит замену тирозин→изолейцин в положении, соответствующем положению 426 последовательности SEQ ID NO: 7. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный ген PPX содержит мутацию нуклеиновой кислоты ТАС→ТТС, которая кодирует мутантный белок PPX, который содержит замену тирозин→лейцин в положении, соответствующем положению 426 последовательности SEQ ID NO: 7. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный ген PPX содержит мутацию нуклеиновой кислоты ТАС→CGC, которая кодирует мутантный белок PPX, который содержит замену тирозин→аргинин в положении, соответствующем положению 426 последовательности SEQ ID NO: 7. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный ген PPX содержит мутацию нуклеиновой кислоты ТАС→ACC, которая кодирует мутантный белок PPX, который содержит замену тирозин→треонин в положении, соответствующем положению 426 последовательности SEQ ID NO: 7. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный ген PPX содержит мутацию нуклеиновой кислоты ТАС→GTC, которая кодирует мутантный белок PPX, который содержит замену тирозин→валин в положении, соответствующем положению 426 последовательности SEQ ID NO: 7. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный ген PPX содержит мутацию нуклеиновой кислоты TTT→TCT, которая кодирует мутантный белок PPX, который содержит замену фенилаланин→серин в положении, соответствующем положению 478 последовательности SEQ ID NO: 7. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный ген PPX содержит мутацию нуклеиновой кислоты TCT→ACT, которая кодирует мутантный белок PPX, который содержит замену изолейцин→треонин в положении, соответствующем положению 525 последовательности SEQ ID NO: 7.

В табл. 3В приведен обзор нуклеотидных/кодонных мутаций в митохондриальном гене PPX картофеля, приводящих к заменам аминокислот, которые придают толерантность к ингибиторам PPX. Номера положений основаны на нумерации митохондриального гена PPX *Solanum tuberosum* No. AJ225108 (SEQ ID NO: 9).

Таблица 3В

AK мтц	HK мтц						
D58N	GAT → AAT	S151T	AGT → ACT	K229Q	AAG → CAG	R406K	AGG → AAG
E64V	GAA → GTA	Q157L	CAG → CTG	K230R	AAG → AGG	K410I	AAA → ATA
G74C	GGT → TGT	V164F	GTT → TTT	F283G	GAC → GGC	A423V	GCT → GTT
G84N	GGA → GAT	D170E	GAT → GAA	A292G	GCA → GGA	C434S	TGC → AGC
R98C	CGC → CAC	H187Q	AAG → CAG	S296L	TCA → TTA	C434Y	TGC → TAC
R98H	CGC → TGC	L188F	CTT → TTT	C307S	TGT → AGT	S448A	TCA → GCA
R98L	CGC → CTC	N195K	AAT → AAA	N324D	AAT → GAT	D451G	GAT → GGT
N139Y	CCT → TAT	P214H	CCT → CAT	N324K	AAT → AAA	D454N	GAC → AAC
E150D	GAA → GAT	P214S	CCT → TCT	D330E	GAT → GAA	Y465F	TAT → TTT
E150K	GAA → AAA	K229E	AAG → GAG	A404S	GCC → TCC	K470T	AAG → ACG
T500S	ACC → AGC						

следовательности SEQ ID NO: 9. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный ген PPX содержит мутацию нуклеиновой кислоты GAC→AAC, которая кодирует мутантный белок PPX, который содержит замену аспарагиновая кислота→аспарагин в положении, соответствующем положению 454 последовательности SEQ ID NO: 9. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный ген PPX содержит мутацию нуклеиновой кислоты TAT→TTT, которая кодирует мутантный белок PPX, который содержит замену тирозин→фенилаланин в положении, соответствующем положению 465 последовательности SEQ ID NO: 9. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный ген PPX содержит мутацию нуклеиновой кислоты AAG→ACG, которая кодирует мутантный белок PPX, который содержит замену лизин→треонин в положении, соответствующем положению 470 последовательности SEQ ID NO: 9. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный ген PPX содержит мутацию нуклеиновой кислоты ACC→AGC, которая кодирует мутантный белок PPX, который содержит замену треонин→серин в положении, соответствующем положению 500 последовательности SEQ ID NO: 9.

В соответствии с любыми описанными в настоящем документе аспектами, вариантами реализации, способами и/или композициями, мутантный ген PPX может содержать замену GGG→AAA, которая кодирует мутантный белок PPX, который содержит замену глицин→лизин в положении, соответствующем положению 52 последовательности SEQ ID NO: 1. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный ген PPX содержит мутацию нуклеиновой кислоты AAT→GAT, которая кодирует мутантный белок PPX, который содержит замену аспарагин→аспарагиновая кислота в положении, соответствующем положению 85 последовательности SEQ ID NO: 1. Согласно некоторым вариантам реализации в соответствии с любыми описанными в настоящем документе аспектами, вариантами реализации, способами и/или композициями мутантный ген PPX может включать комбинацию мутаций, например, двух или более, трех или более, четырех или более, пяти или более или шести или более мутаций в гене PPX. Согласно некоторым вариантам реализации указанная комбинация мутаций выбрана из комбинаций мутаций, приведенных в табл. 4А и 4В.

Таблица 4А

Комбинации мутаций аминокислот (каждая строка каждой группы из трех столбцов представляет комбинацию мутаций). Номера положений основаны на нумерации пластидного гена *Arabidopsis* PPX No. At4g01690 (SEQ ID NO: 1)

R144C	A220T		L226M	L424S	F145L	L424S
R144H	S332C		L226M	Y426F	A220T	Y426H
R144C	Q272F		A220T	Y426F	F145Y	L393V
R144C	K272F		A220T	Y426H	S244T	Y426F
G52K	R144H	S244T	R144C	Y426F	F145Y	L424S
N52K	R144H	S244T	N85D	Y426H	A220T	L403R
N85D	A220T		R144C	Y426H	L226M	Y426F
R144H	S244T		S244T	Y426H	N85D	Y426H
R144C	L226M		S244G	Y426H	L226M	L424S
N85D	L226M		A180T	Y426H	F145Y	L403R
N85D	F145Y		L226M	Y426H	S244G	L393V
R144C	M228L		F145L	Y426H	A180T	Y426H
N85D	A180T		A220T	Y426H	R144C	Y426H
N85D	R144C		N85D	Y426H	N85D	S525T
N85D	Q272F		F145L	L393V	L226M	S525T
N85D	K272F		L226M	L424S	F145Y	S525T
N85D	M228L		L226M	Y426F	F145L	S525T
A180T	Y426F		A220T	L393V	S244G	S525T
F145L	Y426H		A220T	Y426F	A180T	S525T
S244G	Y426F		R144C	Y426F	R144C	S525T
F145L	L403R		N85D	I525T		
F145Y	L424S		L226M	I525T		
R144C	L424S		F145Y	I525T		
L226M	Y426H		F145L	I525T		
A220T	L424S		R144C	I525T		
F145Y	Y426F		R144C	Y426H		
R144C	L393V		A180T	Y426H		
S244G	I525T		A220T	Y426H		
A180T	I525T		L226M	Y426H		
S244G	L393V		S244T	L393V		
L226M	L403R		F145Y	Y426H		

В соответствии с любыми описанными в настоящем документе аспектами, вариантами реализации, способами и/или композициями мутантный белок PPX содержит замену аргинин→цистеин в положении, соответствующем положению 144 последовательности SEQ ID NO: 1, и замену аланин→треонин в положении, соответствующем положению 220 последовательности SEQ ID NO: 1. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный белок PPX содержит замену аргинин→гистидин в положении, соответствующем положению 144 последовательности SEQ ID NO: 1, и замену серин→цистеин в положении, соответствующем положению 332 последовательности SEQ ID NO: 1. В то же время, согласно другим

SEQ ID NO: 1. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный белок PPX содержит замену серин→глицин в положении, соответствующем положению 244 последовательности SEQ ID NO: 7, и замену изолейцин→треонин в положении, соответствующем положению 525 последовательности SEQ ID NO: 7. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный белок PPX содержит замену аланин→треонин в положении, соответствующем положению 180 последовательности SEQ ID NO: 7, и замену изолейцин→треонин в положении, соответствующем положению 525 последовательности SEQ ID NO: 7. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный белок PPX содержит замену фенилаланин→лейцин в положении, соответствующем положению 145 последовательности SEQ ID NO: 7, и замену изолейцин→треонин в положении, соответствующем положению 525 последовательности SEQ ID NO: 7. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный белок PPX содержит замену фенилаланин→тирозин в положении, соответствующем положению 145 последовательности SEQ ID NO: 7, и замену изолейцин→треонин в положении, соответствующем положению 525 последовательности SEQ ID NO: 7. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный белок PPX содержит замену аспарагин→аспарагиновая кислота в положении, соответствующем положению 85 последовательности SEQ ID NO: 7, и замену изолейцин→треонин в положении, соответствующем положению 525 последовательности SEQ ID NO: 7. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный белок PPX содержит замену лейцин→метионин в положении, соответствующем положению 226 последовательности SEQ ID NO: 7, и замену изолейцин→треонин в положении, соответствующем положению 525 последовательности SEQ ID NO: 7.

Таблица 4В

Комбинации мутаций аминокислот (каждая строка каждой группы из двух столбцов представляет комбинацию мутаций). Номера положений основаны на нумерации митохондриального гена PPX *Solanum tuberosum* No. AJ225108 (SEQ ID NO: 9)

G74C	R98C				R98C	P214H			
L93H	V164A				R98C	T124I	L188F	K229Q	
R98L	P214H				R98C	T124I	P214H	K229Q	
R98L	T124I	L188F	K229Q		R98C	T124I	K229Q		
R98L	T124I	P214H	K229Q		R98C	P214H	A423V		
R98L	T124I	K229Q			R98C	T124I	L188F	K229Q	A423V
S119N	N139Y				R98C	T124I	P214H	K229Q	A423V
F121L	E150D				R98C	T124I	K229Q	A423V	
S151T	K229E	K230R			R98C	P214H	C307S		
Q157L	H187Q				R98C	T124I	L188F	K229Q	C307S
C271R	D274G				R98C	T124I	P214H	K229Q	C307S
C307S	A423V				R98C	T124I	K229Q	C307S	
S396L	K410I				R98H	P214H			
C434S	T500S				R98H	T124I	L188F	K229Q	
D447G	A292G				R98H	T124I	P214H	K229Q	
S448A	N324D				R98H	T124I	K229Q		
Y465F	K470T				R98H	P214H	A423V		
R98L	P214H	A243V			R98H	T124I	L188F	K229Q	A423V
R98L	T124I	L188F	K229Q	A243V	R98H	T124I	P214H	K229Q	A423V
R98L	T124I	P214H	K229Q	A243V	R98H	T124I	K229Q	A423V	
R98L	T124I	K229Q	A423V		R98H	P214H	C307S		
R98L	P214H	C307S			R98H	T124I	L188F	K229Q	C307S
R98L	T124I	L188F	K229Q	C307S	R98H	T124I	P214H	K229Q	C307S
R98L	T124I	P214H	K229Q	C307S	R98H	T124I	K229Q	C307S	
R98L	T124I	K229Q	C307S		R98H	T124I	K229Q	C307S	

В соответствии с любыми описанными в настоящем документе аспектами, вариантами реализации, способами и/или композициями, мутантный белок PPX содержит замену глицин→цистеин в положении, соответствующем положению 74 последовательности SEQ ID NO: 9, и замену аргинин→цистеин в положении, соответствующем положению 98 последовательности SEQ ID NO: 9. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный белок PPX содержит замену лейцин→гистидин в положении, соответствующем положению 93 последовательности SEQ ID NO: 9, и замену валин→аланин в положении, соответствующем положению 164 последовательности SEQ ID NO: 9. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный белок PPX содержит замену аргинин→лейцин в положении, соответствующем положению 98 последовательности SEQ ID NO: 9, и замену пролин→гистидин в положении, соответствующем положению 214 последовательности SEQ ID NO: 9. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный белок PPX содержит замену аргинин→лейцин в положении, соответствующем положению 98 последовательности SEQ ID NO: 9, замену треонин→изолейцин в положении, соответствующем положению 124 последовательности SEQ ID NO: 9, замену лейцин→фенилаланин в положении, соответствующем положению 188 последовательности SEQ ID NO: 9, и замену лизин→глутамин в положении, соответствующем положению 229 последовательности SEQ ID NO: 9. Согласно некоторым

ности SEQ ID NO: 9. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный белок PPX включает замену аргинин→гистидин в положении, соответствующем положению 98 последовательности SEQ ID NO: 9; замену треонин→изолейцин в положении, соответствующем положению 124 последовательности SEQ ID NO: 9; замену лизин→глутамин в положении, соответствующем положению 229 SEQ ID NO: 9; и замену аланин→валин в положении, соответствующем положению 423 последовательности SEQ ID NO: 9. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный белок PPX включает замену аргинин→гистидин в положении, соответствующем положению 98 последовательности SEQ ID NO: 9; замену пролин→гистидин в положении, соответствующем положению 214 последовательности SEQ ID NO: 9; и замену цистеин→серин в положении, соответствующем положению 307 последовательности SEQ ID NO: 9. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный белок PPX включает замену аргинин→гистидин в положении, соответствующем положению 98 последовательности SEQ ID NO: 9; замену треонин→изолейцин в положении, соответствующем положению 124 последовательности SEQ ID NO: 9; замену лейцин→фенилаланин в положении, соответствующем положению 188 последовательности SEQ ID NO: 9; замену лизин→глутамин в положении, соответствующем положению 229 SEQ ID NO: 9; и замену цистеин→серин в положении, соответствующем положению 307 последовательности SEQ ID NO: 9. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный белок PPX включает замену аргинин→гистидин в положении, соответствующем положению 98 последовательности SEQ ID NO: 9; замену треонин→изолейцин в положении, соответствующем положению 124 последовательности SEQ ID NO: 9; замену пролин→гистидин в положении, соответствующем положению 214 последовательности SEQ ID NO: 9; замену лизин→глутамин в положении, соответствующем положению 229 SEQ ID NO: 9; и замену цистеин→серин в положении, соответствующем положению 307 последовательности SEQ ID NO: 9. Согласно некоторым вариантам реализации мутантный белок PPX включает замену аргинин→гистидин в положении, соответствующем положению 98 последовательности SEQ ID NO: 9; замену треонин→изолейцин в положении, соответствующем положению 124 последовательности SEQ ID NO: 9; замену лизин→глутамин в положении, соответствующем положению 229 SEQ ID NO: 9; и замену цистеин→серин в положении, соответствующем положению 307 последовательности SEQ ID NO: 9.

Паралоги.

Рассматриваемые мутации в гене PPX, как правило, описаны в настоящем документе с применением пластидных генов и белков PPX *Solanum tuberosum* (см., например, фиг. 8 и 7 соответственно) с привязкой положений аминокислот к положениям в *Arabidopsis thaliana* (SEQ ID NO: 1). Указанные композиции и способы также охватывают мутантные гены и белки PPX других видов (паралоги). Однако из-за изменчивости генов PPX разных видов номер заменяемого аминокислотного остатка для одного вида может отличаться для других видов. Тем не менее, аналогичное положение легко может быть идентифицировано специалистом в данной области техники благодаря гомологии последовательностей. Так, в табл. 6 приведен обзор гомологичных положений аминокислот в различных растительных паралогах кодирующей последовательности PPX, а на фиг. 33 представлено выравнивание последовательностей аминокислот PPX для паралогов из различных растений. Соответственно, аналогичные положения в указанных и других паралогах могут быть идентифицированы и мутированы.

Гербициды.

Предложенные в настоящем изобретении композиции и способы включают гены PPX и белки PPX, которые придают устойчивость к PPX-ингибирующим гербицидам. Согласно некоторым вариантам реализации PPX-ингибирующие гербициды включают химические семейства дифенилэфиров, фенилпирозол N-фенилфталимидов, тиadiaзолов, оксадиазолов, триазинонов, оксазолидиндионов, пиримидиндионов. Обзор типовых активных ингредиентов Ингибирующих PPX гербицидов и соответствующих им химических семейств приведены в табл. 5.

Таблица 5

Типовые РРХ-ингибирующие гербициды

Химическое семейство	Активный ингредиент гербицида
Дифенилэферы	ацифлуорфен-содиум
	Бифенокс
	Хлометоксифен
	флуорогликофен-этил
	Фомесафен
	Галосафен
	Лактофен
	Оксифлуорфен
Фенилпиразолы	Флуазолат
	пирафлуфен-этил
N-фенилфталимиды	цинидон-этил
	Флумиоксазин
	флумиклорак-пентил
Тиадиазолы	флутиацет-метил
	Тидиазимин
Оксадиазолы	Оксадиазон
	Оксадиаргил
Триазолиноны	Азафенидин
	карфентразон-этил
	Сульфентразон
Оксазолидиндионы	Пентоксазон
Пиримидиндионы	Бензфендизон
	Бутафенацил
	Сафлуфенацил
Другие	Пиразогил
	Профлуазол

Согласно некоторым вариантам реализации ингибирующей РРХ гербицид представляет собой ацифлуорфен-содиум. Согласно некоторым вариантам реализации ингибирующей РРХ гербицид представляет собой бифенокс. Согласно некоторым вариантам реализации ингибирующей РРХ гербицид представляет собой хлометоксифен. Согласно некоторым вариантам реализации ингибирующей РРХ гербицид представляет собой флуорогликофен-этил. Согласно некоторым вариантам реализации ингибирующей РРХ гербицид представляет собой фомесафен. Согласно некоторым вариантам реализации ингибирующей РРХ гербицид представляет собой галосафен. Согласно некоторым вариантам реализации ингибирующей РРХ гербицид представляет собой лактофен. Согласно некоторым вариантам реализации ингибирующей РРХ гербицид представляет собой оксифлуорфен. Согласно некоторым вариантам реализации ингибирующей РРХ гербицид представляет собой флуазолат. Согласно некоторым вариантам реализации ингибирующей РРХ гербицид представляет собой пирафлуфен-этил. Согласно некоторым вариантам реализации ингибирующей РРХ гербицид представляет собой цинидон-этил. Согласно некоторым вариантам реализации ингибирующей РРХ гербицид представляет собой флумиоксазин. Согласно некоторым вариантам реализации ингибирующей РРХ гербицид представляет собой флумиклорак-пентил. Согласно некоторым вариантам реализации ингибирующей РРХ гербицид представляет собой флутиацет-метил. Согласно некоторым вариантам реализации ингибирующей РРХ гербицид представляет собой тидиазимин. Согласно некоторым вариантам реализации ингибирующей РРХ гербицид представляет собой оксадиазон. Согласно некоторым вариантам реализации ингибирующей РРХ гербицид представляет собой оксадиаргил. Согласно некоторым вариантам реализации ингибирующей РРХ гербицид представляет собой азафенидин. Согласно некоторым вариантам реализации ингибирующей РРХ гербицид представляет собой карфентразон-этил. Согласно некоторым вариантам реализации ингибирующей РРХ гербицид представляет собой сульфентразон. Согласно некоторым вариантам реализации ингибирующей РРХ гербицид представляет собой пентоксазон. Согласно некоторым вариантам реализации ингибирующей РРХ гербицид представляет собой бензфендизон. Согласно некоторым вариантам реализации ингибирующей РРХ гербицид представляет собой бутафенацил. Согласно некоторым вариантам реализации ингибирующей РРХ гербицид представляет собой сафлуфенацил. Согласно неко-

торым вариантам реализации ингибирующий РРХ гербицид представляет собой пиразогил. Согласно некоторым вариантам реализации ингибирующий РРХ гербицид представляет собой профлуазол.

Также предложено(а) трансгенное или нетрансгенное растение или растительная клетка, содержащий(ая) одну или более мутацию в гене РРХ, например, такие как описанные в настоящем изобретении. Согласно некоторым вариантам реализации указанное(ая) растение или растительная клетка, содержащий(ая) одну или более мутацию в гене РРХ, обладает повышенной устойчивостью или толерантностью к представителю ингибирующих РРХ гербицидов. Согласно некоторым вариантам реализации указанное(ая) растение или растительная клетка, содержащий(ая) одну или более мутацию в гене РРХ, может демонстрировать, по существу, нормальный рост или развитие указанного растения, его органов, тканей или клеток относительно соответствующего(ей) растения или клетки дикого типа. Согласно частным аспектам и вариантам реализации предложены трансгенные или нетрансгенные растения, содержащие мутацию в гене РРХ, например, такую как описанные в настоящем изобретении, которые согласно некоторым вариантам реализации обладают повышенной устойчивостью или толерантностью к одному или более члену химических семейств ингибирующих РРХ гербицидов и могут демонстрировать, по существу, нормальный рост или развитие указанного растения, его органов, тканей или клеток относительно соответствующего(ей) растения или клетки дикого типа, т.е. в присутствии одного или более гербицида, такого как, например, флумиоксазин, сульфентразон или сафлуфенацил, мутантный белок РРХ обладает, по существу, такой же каталитической активностью, что и белок РРХ дикого типа. Также предложены способы получения растения, содержащего мутантный ген РРХ, например, содержащий одну или более мутацию согласно описанию в настоящем документе; предпочтительно, указанное растение, по существу, сохраняет каталитическую активность белка дикого типа, независимо от присутствия или отсутствия соответствующего гербицида. Согласно некоторым вариантам реализации указанные способы включают введение в растительную клетку олигонуклеотида репарации генов с одной или более направленной мутацией в гене РРХ (например, такой как описанные в настоящем изобретении) и идентификацию клетки, семени или растения, содержащей(его) мутантный ген РРХ. Виды растений

В соответствии с любыми описанными в настоящем документе аспектами, вариантами реализации, способами и/или композициями, растения согласно описанию в настоящем документе могут представлять собой любые виды двудольных, однодольных или голосеменных растений, включая любые виды древесных растений, произрастающих в форме деревьев или кустарников; любые травянистые виды; или любые виды, дающие съедобные плоды, семена или овощи; или любые виды, дающие декоративные или ароматические цветы. Например, указанное(ая) растение или растительная клетка могут быть выбрано(а) из видов растений группы, состоящей из картофеля, подсолнечника, сахарной свеклы, кукурузы, хлопка, сои, пшеницы, ржи, овса, риса, канолы, плодовых растений, овощей, табака, ячменя, сорго, томата, манго, персика, яблони, груши, клубники, банана, дыни, моркови, салата, лука, видов сои, сахарного тростника, гороха, кормовых бобов, тополя, винограда, цитрусовых, люцерны, ржи, овса, дернообразующих и кормовых трав, льна, масличного рапса, огурца, вьюнка, бальзамина, перца, баклажана, бархатцев, лотоса, капусты, астровых, гвоздики, петунии, тюльпана, ириса, лилии и дающих орехи растений, если они уже конкретно не указаны. Указанное(ая) растение или растительная клетка также могут представлять собой вид, выбранный из табл. 6. Указанное(ая) растение или растительная клетка также могут представлять собой вид, выбранный из группы, состоящей из *Arabidopsis thaliana*, *Solanum tuberosum*, *Solanum phureja*, *Oryza sativa*, *Amaranthus tuberculatus*, *Sorghum bicolor*, *Ricinus communis* и *Zea mays*.

В табл. 6 приведен обзор гомологичных положений аминокислот в аминокислотных последовательностях РРХ растений различных видов. См. также обзоры дополнительных гомологичных положений аминокислот на фиг. 47 и 48.

Таблица 6

Вид	№ доступа в базе Genbank	Локализация	G 52	N 85	R 144	F 145	A 180	P 185	A 220	L 226	M 228	S 244	Q 272	S 305	S 332	L 357	K 359	L 393	L 403	L 424	Y 426	F 478	I 525
<i>Arabidopsis thaliana</i> - At4g01690	AX084732	P	52	85	144	145	180	185	220	226	228	244	272	305	332	357	359	393	403	424	426	478	525
<i>Arabidopsis thaliana</i> - At5g14220	NM 121426	M	H.o.	41	101	102	137	142	182	188	190	206	G 235	L 269	H 298	F 323	L 325	358	371	392	394	F 444	D 489
<i>Amaranthus tuberculatus</i>	DQ386117	B	H.o.	H.o.	128	129	164	169	G 210	216	218	234	R 261	L 295	324	F 349	L 351	384	397	T 418	F 420	Y 470	E 515
<i>Solanum tuberosum</i>	AJ225107	P	N 76	105	164	165	200	205	240	246	248	264	K 292	325	352	377	S 379	413	423	444	446	498	S 545
<i>Solanum tuberosum</i>	H.o., см. Фиг. 27.	M	H.o.	H.o.	98	99	134	N 139	G 178	184	186	202	R 231	L 265	296	F 321	L 323	356	369	T 390	F 392	Y 442	D 487
<i>Zea mays</i>	AF218052	P	H.o.	H.o.	142	143	178	P18 3	218	224	226	242	K 270	T 303	330	355	R 357	391	401	422	424	476	S 523
<i>Zea mays</i>	AF273767	M	H.o.	70	130	131	166	K 171	215	221	223	239	I 268	N 302	T 336	V 361	L 363	396	410	431	F 433	Y 483	D 528
<i>Oryza sativa</i>																							
O51g028660	NM 0010493 12	P	G 51	H.o.	143	144	179	P 184	219	225	227	243	K 271	T 304	T 331	L 356	I 358	392	402	423	425	477	S 524
<i>Oryza sativa</i>																							
O54g049000	H.o., см. Фиг. 17.	M	D 50	Q 79	139	140	175	K 180	G 224	230	232	248	N 277	L 311	345	F 370	L 372	405	419	T 440	F 442	Y 492	D 537
<i>Sorghum bicolor</i> - Sb03g011670	XM 0024554 39	P	H.o.	H.o.	143	144	179	P 184	219	225	227	243	K 271	T 304	331	L 356	R 358	392	402	423	425	477	A 524
<i>Sorghum bicolor</i> - Sb06g020950	XM 0024466 65	M	H.o.	70	130	131	166	K 171	215	221	223	239	N 268	L 302	336	F 361	L 363	396	410	T 431	F 433	Y 483	D 528
<i>Ricinus communis</i> - Rc1343150	XM 0025151 27	P	N 51	84	143	144	179	184	219	225	227	243	K 271	304	331	356	358	392	402	423	425	477	A 524
<i>Ricinus communis</i> - Rc1678480	XM 0025095 02	M	H.o.	H.o.	99	100	135	K 140	181	187	189	205	V 234	F 268	299	F 324	L 326	359	372	T 393	F 395	Y 445	D 490

†G210 делеция в DQ386118 приводит к толерантности к ингибитору PPX.

P - "пластидный"; M - "митохондриальный"; B - "и там, и там".

Олигонуклеотид для репарации генов может быть введен в растительную клетку с применением любого способа, широко применяемого в данной области техники, включая, но не ограничиваясь перечисленными, микроносители (биолистическая доставка), микроволокна, полиэтиленгликоль (ПЭГ)-опосредованный захват, электропорацию и микроинъекции.

Также предложены способы и композиции, относящиеся к области культур клеток, мутированных в соответствии с описанными в настоящем документе способами для получения растения, дающего семена, здесь и далее - "фертильного растения", и получение семян и дополнительных растений из такого фертильного растения.

Также предложены способы селективного контроля семян в поле, отличающиеся тем, что указанное поле содержит растения с описанными изменениями в гене PPX и семенами, и указанный способ включает применение в поле гербицида, устойчивости к которому была придана указанным растениям.

Также предложены мутации в гене PPX, придающие растению устойчивость или толерантность к представителю соответствующих гербицидов, или отличающиеся тем, что мутантный ген PPX обладает, по существу, такой же ферментативной активностью, что и PPX дикого типа.

Отбор устойчивых к гербицидам растений и применение гербицида.

Растения и растительные клетки могут быть протестированы на устойчивость или толерантность к гербициду с применением общеизвестных в данной области техники способов, например, выращиванием указанного(ой) растения или растительной клетки в присутствии гербицида и измерением скорости роста по сравнению со скоростью роста в отсутствие указанного гербицида.

Используемое в настоящем описании выражение "по существу, нормальный рост" растения, органа растения, ткани растения или растительной клетки определяется как скорость роста или скорость деления клеток указанного растения, органа растения, ткани растения или растительной клетки, составляющая по меньшей мере 35%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60% или по меньшей мере 75% от скорости роста или скорости деления клеток соответствующего растения, органа растения, ткани растения или растительной клетки, экспрессирующих белок PPX дикого типа.

Используемое в настоящем описании выражение "по существу, нормальное развитие" растения, органа растения, ткани растения или растительной клетки определяется как наступление одного или более относящегося к развитию события в указанном растении, органе растения, ткани растения или растительной клетке, по существу тождественного происходящему в соответствующем растении, органе растения, ткани растения или растительной клетке, экспрессирующей(ей) белок PPX дикого типа.

В соответствии с любыми описанными в настоящем документе аспектами, вариантами реализации, способами и/или композициями предложенные в настоящем изобретении органы растения могут включать, но не ограничиваясь перечисленными, листья, стебли, корни, вегетативные почки, цветочные бутоны, меристемы, зародыши, семядоли, эндосперм, чашелистики, лепестки, пестики, плодолистки, тычинки, пыльники, микроспоры, пыльцу, пыльцевые трубки, семязачатки, завязи и плоды или полученные из них фрагменты, срезы или пластинки. Ткани растений включают, но не ограничиваясь перечисленными, каллусные ткани, покровные ткани, сосудистые ткани, запасные ткани, меристемные ткани, ткани листа, ткани побега, ткани корня, ткани галлов, ткани растительных опухолей и репродуктивные ткани.

Растительные клетки включают, но не ограничиваясь перечисленными, выделенные клетки с клеточными стенками, их совокупности различного размера и протопласты.

Растения, по существу, "толерантны" к соответствующему гербициду, если при контакте с ним кривая зависимости "доза-эффект" для них сдвинута вправо по сравнению с такой кривой для нетолерантного растения при сходном контакте. При построении таких кривых зависимости "доза-эффект" "дозу" отмечают на оси X и "процент гибели", "гербицидный эффект" и т.д. отмечают на оси y. Для определенного гербицидного действия на толерантные растения требуется больше гербицида, чем для вероятно нетолерантных растений. У растений, по существу "устойчивых" к указанному гербициду, не наблюдаются либо наблюдаются немногочисленные некротические, литические, хлоротические или другие повреждения при контакте с гербицидом в концентрациях и количествах, обычно применяемых в агрохимии для уничтожения сорняков на полях. Растения, устойчивые к гербициду, также толерантны к указанному гербициду.

Согласно некоторым вариантам реализации "повышенная устойчивость к гербициду" или "повышенная толерантность к гербициду" относится к уровню устойчивости или толерантности, которой обладает растение, семя или часть растения, содержащее(ая) мутантный ген PPX или белок согласно описанию в настоящем документе, по отношению к растительным гербицидам в концентрации выше определенного эталонного уровня. Указанный определенный эталонный уровень устойчивости к гербициду представляет собой уровень устойчивости, проявляемый растением того же вида без соответствующей(их) мутации(ий). Согласно некоторым вариантам реализации устойчивость по существу повышена относительно определенного эталонного уровня, например, более чем или ровно на 20% выше, 50% выше, 75% выше или на 100% выше определенного эталонного уровня.

Примеры

Ниже приведены примеры, которые иллюстрируют процедуры реализации изобретения. Эти примеры не должны рассматриваться как ограничивающие. Все указанные процентные доли представляют собой проценты по массе, все пропорции для смесей растворителей являются объемными, если не указано иное.

Пример 1. Клонирование и исследование пластидного и митохондриального гена PPX.

Пластидный и митохондриальные гены PPX амплифицировали как из кДНК, так и геномной ДНК сорта Рассет Бербанк. Клоны пластидного PPX делятся на два класса, обозначенные как StcPPX1 и StcPPX1.1, по-видимому, представляющие аллели единственного гена PPX картофеля. По кодирующей последовательности аминокислот эти клоны отличаются 10 полиморфизмами, три из которых приводят к аминокислотным отличиям; только два из которых обнаруживаются в зрелом белке. Одно аминокислотное отличие находится в транзитном пептиде хлоропласта. В одном из клонов StcPPX1.1 интрон 3 был несплайсирован.

Был получен полноразмерный не содержащий ошибок геномный клон пластидного PPX. Анализ приблизительно 5 т.п.н. геномной последовательности 5 независимых клонов и секвенирование кДНК StcPPX показали, что рассматриваемая разновидность Рассет Бербанк гетерозиготна, с очень немногочисленными полиморфизмами между двумя аллелями.

Во-первых, пять полноразмерных клонов StmPPX геномной ДНК клонировали и секвенировали. Указанные пять клонов представляли обе аллели, содержащие однонуклеотидные полиморфизмы, идентичные обнаруживаемым в кДНК. Фрагменты геномной ДНК более короткого ампликона клонировали и секвенировали для проверки на дополнительные аллели. Клонирование этого внутреннего ампликона митохондриального PPX показало присутствие трех аллелей; 6 из 22 клонов содержали делецию в одном из интронов, а в других 16 клонх были равномерно распределены два аллеля, обнаруживаемые в клонх кДНК. Затем секвенировали другие 12 полноразмерных клонов StmPPX геномной ДНК.

Полное секвенирование митохондриальных генов PPX картофеля Рассет Бербанк показало наличие двух генов, которые авторы обозначили StmPPX1 и StmPPX2. Имеется две аллели StmPPX2, различающиеся 8 обнаруженными SNP (однонуклеотидными полиморфизмами). StmPPX 1 и StmPPX2.1 отличаются 1 вставкой, 4 делециями и 30 однонуклеотидными полиморфизмами, при этом StmPPX1 и StmPPX2.2 отличаются 1 вставкой, 4 делециями и 29 однонуклеотидными полиморфизмами. Дополнительные подробности представлены в табл. 7.

Генные последовательности пластидных и митохондриальных генов PPX картофеля Рассет Бербанк (*Solanum tuberosum*) сравнивали с применением инструмента Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) с подгруженной авторами локальной базой данных, основанной на структуре недавно выпущенного первого полного генома картофеля (*Solanum phureja*). Обнаружены только одиночный пластидный и одиночный митохондриальный гены PPX.

Аллельные различия между митохондриальными формами PPX картофеля
Рассет Бербанк

<u>StmPPX</u> <u>положени</u> <u>е НТ</u>	<u>НТ ген</u> <u>1</u>	<u>АК ген</u> <u>1</u>	<u>НТ ген 2,</u> <u>Аллель 1</u>	<u>АК ген 2,</u> <u>Аллель 1</u>	<u>НТ ген 2,</u> <u>Аллель 2</u>	<u>АК ген 2,</u> <u>Аллель 2</u>	<u>StmPPX</u> <u>положени</u> <u>е АК</u>	<u>АтсPPX</u> <u>положени</u> <u>е АК</u>
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

Пример 2. Комплементация PPX.

StcPPX1, за исключением транзитного пептида хлоропласта, клонировали из кДНК в коммерческий вектор для функционального скрининга от Cibus. Этот вектор может применяться как для функционального скрининга, так и для контроля качества GRON. Гены PPX картофеля применяли для комплементации мутантного штамма E.coli HemG с отсутствующим функциональным геном HemG, бактериальным гомологом PPX. В отсутствие комплементирующего гена среда должна быть дополнена гематином для роста E.coli. Клоны пластидного гена PPX (pACYStcPPX Col6) и митохондриального гена PPX (pACYStmPPX Col6, 12 и 21) трансформировали; показано, что все гены /аллели комплементируют мутантный штамм E.coli HemG, позволяя последнему расти в отсутствие гематина.

Для оценки мутаций, которые придают толерантность к ингибиторам PPX, таким как Chateau (флумиоксазин -Valent/Sumitomo), Naja (дифенилэфир - MAI) или Kixor (Киксор) (сафлуфеназил - BASF) в табл. 5 приведены PPX-ингибирующие гербициды. Были получены чистые активные ингредиенты ингибирующих PPX гербицидов Chateau (флумиоксазин -Valent/Sumitomo), Spartan (сульфентразон - FMC) и Kixor/Sharpen (сафлуфеназил - BASF). Клон пластидного PPX картофеля дикого типа (pACYStcPPX Col6) трансформировали для комплементирования мутантного по hemG штамма E.coli и провели отбор с применением серийных разведений активного ингредиента ингибирующего PPX гербицида Spartan (сульфентразон - FMC) для определения концентрации, при которой комплементированный лишенный HemG штамм не растет. Конструкт дикого типа не рос при 2,5 мМ сульфентразона, таким образом, отбор толерантных мутантов проводили при этой концентрации. В дальнейшем было произведено уточнение, и для отбора на толерантность использовали также концентрацию сульфентразона 0,75 мМ. Конструкт дикого типа демонстрировал ограниченный рост при 10 мМ флумиоксазина при отборе на жидких средах и не рос при 0,3 мМ сафлуфеназила при отборе на чашках; указанные концентрации применяли для испытания мутантов на устойчивость. Все митохондриальные гены и аллели PPX картофеля тестировали на природную толерантность к сульфентразону и флумиоксазину, но ни один не был толерантным.

Пример 3. ПЦР-мутагенез PPX и отбор мутировавших клонов.

Эксперименты с мутагенезом изначально проводили на двух перекрывающихся фрагментах (5' и 3') пластидного гена PPX картофеля для идентификации мутаций в пластидной кодирующей последовательности PPX картофеля, придающих толерантность к гербицидам.

Стандартизация отбора на жидких средах.

Условия отбора в жидких культурах разрабатывали как для сульфентразона, так и для флумиоксазина. Культуры объемом 1 мл тестировали с концентрациями сульфентразона и флумиоксазина в диапазоне от 0 до 10 мМ. Образцы с 0 мМ содержали 25 мкл ДМСО (2,5%) для имитации концентрации ДМСО в образцах, содержащих 10 мМ гербицида. Каждую пробирку инокулировали 10 мкл ночной культуры клеток HemG с добавлением плазмиды с PPX дикого типа для обеспечения однородности. Спектрофотометрические показания (ОП600) снимали для каждого образца (разведение 1:4); образец каждого высевали на чашки со средой LB-хлор-IPTG, чтобы определить, коррелирует ли ОП600 с числом жизнеспособных колоний. 10% разведение ночной культуры высевали в качестве обработанных сульфентразоном клеток; также высевали 1% разведение клеток, обработанных флумиоксазином. (см. результаты в табл. 8A-F и 9A-D).

И сульфентразон, и флумиоксазин выпадали в осадок в жидкой среде, что приводило к ее непрозрачности еще до инокуляции бактериями. Как показывает ОП для сульфентразона, этот гербицид в конечном счете растворяется, тогда как флумиоксазин - нет. Недостаточная растворимость флумиоксазина искажает показатели ОП во всех случаях флумиоксазин демонстрировал неизменно снижающееся количество колоний относительно гена дикого типа, что указывает на способность клетки всасывать флумиоксазин из среды. 5'-концевой мутагенез 5'-конец гена PPX мутировали с применением набора для случайного мутагенеза GeneMorph II Random Mutagenesis Kit от Stratagene и клонировали в XL-1 Blue для проверки степени мутирования. Результаты показали, что 14 из 16 секвенированных колоний были мутантами. Чашки с 90% XL-1 Blue (примерно 4000 колоний) соскабливали, готовили плазмиду, трансформировали в HemG и высевали на 2,5 мМ сульфентразон. На чашках с сульфентразоном выросло пример-

но по 200 колоний; на чашках с 10% LB-хлор-IPTG вырос газон колоний. В табл. 9А-Д представлены нуклеотидные и аминокислотные замены, обнаруженные в толерантных клонах. Отбор мутагенизированных клонов

Случайным образом мутированные плазмиды (5' и 3'-концы) трансформировали в клетки XL I-Blue E.coli. Полученные колонии объединяли, плазмидную ДНК выделяли и трансформировали в клетки HemG (мутантная по PPX E. coli). Для отбора с флумиоксазином клетки восстанавливали в течение 1 ч в жидкой минимальной среде, после чего добавляли гербицид и оставляли клетки для восстановления на ночь. На следующий день указанные клетки высевали в подходящем разведении на чашки с LB, содержащие антибиотик, для отбора комплементирующей плазмиды. Колонии из каждой чашки были секвенированы. После отбора на жидкой среде при 10 мМ флумиоксазина примерно 30 колоний появилось на чашках с PPX дикого типа (WT), по сравнению с примерно 200-1200 колониями с мутагенизированными плазмидами. При отборе с сульфентразоном культуры культивировали на минимальной среде в течение ночи, разводили и высевали на чашки с концентрацией сульфентразона 0 и 0,75 мМ. Для указанных двух концентраций сравнивали количество колоний и определяли толерантность мутаций на основании процентного количества колоний на чашках с 0,75 мМ сульфентразона относительно чашек с 0 мМ. Число колоний, обнаруживаемых на чашках, использовали для ранжирования мутаций. 3'-концевой мутагенез

Проводили мутагенез на 3'-конце гена PPX. Клоны трансформировали в HemG и культивировали в течение ночи в 2,5; 5 и 10 мМ флумиоксазине для отбора. Отбор при 5 мМ флумиоксазине давал значительно больше колоний, чем на 10 мМ селективных чашках. Отбор мутировавших клонов с применением 10 мМ флумиоксазина давал четыре клон. Отбор мутировавших клонов с применением 5 мМ флумиоксазина давал 200 колоний. Проводили скрининг в 10 мМ флумиоксазине верхней трети 200 колоний, полученных 3'-концевым мутагенезом. Все толерантные колонии (примерно 130) секвенировали и наиболее флумиоксазин-устойчивые мутанты, по оценке числа колоний на флумиоксазине, 3'-конец оценивали на толерантность к сульфентразону.

Пример 4. Анализ замен аминокислот, придающих толерантность.

Толерантность проверяли для всех возможных замен аминокислот по каждому положению, проявляющих толерантность к сульфентразону или флумиоксазину. Далее, одиночные замены аминокислот комбинировали во всех перестановках и сочетаниях для оценки комплементации и толерантности к гербицидам. Результаты комбинаций одиночных и множественных мутаций к флумиоксазину приведены в табл. 8А-8С, где в последнем столбце показано число колоний, замеченных при каждой мутации на 10 мМ флумиоксазине. Результаты комбинаций одиночных и множественных мутаций на сульфентразоне приведены в табл. 9А и 9В, где в последнем столбце показано число колоний, замеченных при каждой мутации на 0,75 мМ сульфентразоне. Результаты комбинаций одиночных и множественных мутаций на сафлуфенациле показаны в табл. 10, где в четвертом столбце показано число колоний, замеченных при каждой мутации на 0,3 мМ сафлуфенациле.

Таблица 8А

Толерантность комбинаций одиночных и множественных мутаций в пластидной кодирующей последовательности РРХ картофеля к флумиоксазину

Мутация		Плазмида	Средн. кол-во устойчивых к флумиоксазину клонов
---	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
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

Таблица 8В

Толерантность комбинаций одиночных и множественных мутаций в пластидной кодирующей последовательности РРХ картофеля к флумиоксазину

Мутация			Плазмида	Средн. кол-во устойчивых к флумиоксазину клонов
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
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

Таблица 8С

Толерантность комбинаций одиночных и множественных мутаций в пластидной кодирующей последовательности РРХ картофеля к флумиоксазину

Мутация		Плазмида	Средн. кол-во устойчивых к флумиоксазину клонов
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

Таблица 8D

Толерантность комбинаций одиночных и множественных мутаций в митохондриальной кодирующей последовательности РРХ картофеля к 5 мМ флумиоксазину

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

Таблица 8E

Толерантность комбинаций одиночных и множественных мутаций в митохондриальной кодирующей последовательности РРХ картофеля к 5 мМ флумиоксазину

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			

Таблица 8F

Толерантность комбинаций одиночных и множественных мутаций в митохондриальной кодирующей последовательности РРХ картофеля к 10 мМ флумиоксазину

Мутант	Число колоний с 10 мМ флумиоксазином
wt	42
R98L	83
P214H	51
R98L/P214H	88
R98L/P214H/T124I	110
R98L/P214H/T124I/K229Q	109

Таблица 9А

Толерантность комбинаций одиночных и множественных мутаций в пластидной кодирующей последовательности РРХ картофеля к сульфентразону

Мутация		Плазмида	В средн. 0,75 мМ Сульф.	В средн. 0 мМ	0,75мМ/0мМ
---	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%

Таблица 9В

Толерантность комбинаций одиночных и множественных мутаций в плазмидной кодирующей последовательности PPX картофеля к сульфентразону

Мутация(и)			Плазмида	Средн. кол-во сульфентразон-устойчивых клонов
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
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

Таблица 9С

Толерантность комбинаций одиночных и множественных мутаций в митохондриальной кодирующей последовательности PPX картофеля к сульфентразону

Конц. сульф.	Мутант(ы)	Колонии	%
0 мМ	R98L/P214H	1341	
0,5 мМ	R98L/P214H	349	26,0%
0,9 мМ	R98L/P214H	127	9,5%
1,0 мМ	R98L/P214H	77	5,7%
1,1 мМ	R98L/P214H	67	5,0%
1,2 мМ	R98L/P214H	48	3,6%
0 мМ	R98L	1541	
0,5 мМ	R98L	339	22,0%
0,9 мМ	R98L	145	9,4%
1,0 мМ	R98L	110	7,1%
1,1 мМ	R98L	76	4,9%
1,2 мМ	R98L	54	3,5%
0 мМ	R98L/T124I/K229Q	1220	
0,5 мМ	R98L/T124I/K229Q	312	25,6%
0,9 мМ	R98L/T124I/K229Q	88	7,2%
1,0 мМ	R98L/T124I/K229Q	66	5,4%
1,1 мМ	R98L/T124I/K229Q	40	3,3%

Таблица 9D

Толерантность комбинаций одиночных и множественных мутаций в митохондриальной кодирующей последовательности РРХ картофеля к сульфентразону

Конц. сульф.	Мутант(ы)	Колонии	%
0 мМ	R98L/P214H	1088	
0,4 мМ	R98L/P214H	251	23,1%
0,5 мМ	R98L/P214H	150	13,8%
0,6 мМ	R98L/P214H	105	9,7%
0,7 мМ	R98L/P214H	108	9,9%
0,8 мМ	R98L/P214H	51	4,7%
0 мМ	R98L	1171	
0,4 мМ	R98L	174	14,9%
0,5 мМ	R98L	104	8,9%
0,6 мМ	R98L	98	8,4%
0,7 мМ	R98L	92	7,9%
0,8 мМ	R98L	51	4,4%
0 мМ	R98L/T124I/P214H/K229Q	1134	
0,4 мМ	R98L/T124I/P214H/K229Q	724	63,8%
0,5 мМ	R98L/T124I/P214H/K229Q	654	57,7%
0,6 мМ	R98L/T124I/P214H/K229Q	402	35,4%
0,7 мМ	R98L/T124I/P214H/K229Q	302	26,6%
0,8 мМ	R98L/T124I/P214H/K229Q	280	24,7%
0 мМ	P214H	1184	
0,4 мМ	P214H	0	0,0%
0,5 мМ	P214H	0	0,0%
0,6 мМ	P214H	0	0,0%
0,7 мМ	P214H	0	0,0%
0,8 мМ	P214H	0	0,0%

Таблица 10

Толерантность комбинаций одиночных и множественных мутаций в пластидной кодирующей последовательности РРХ картофеля к сафлуфенацилу, измеренная по числу отмеченных колоний

Мутация	Плазмида	Средн. кол-во сафлуфенацил-устойчивых клонов	Средн. 0 мМ	0,3мМ/0мМ	
---	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%
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%

Пример 5. Культивирование растительных клеток - кривые уничтожения для гербицидов.

Кривые уничтожения для флумиоксазина.

Для определения концентрации гербицида, необходимой для уничтожения полученных из протопластов микрокаллусов за определенный период воздействия, проводили эксперименты по отбору с гербицидами. С учетом результата для первичной кривой уничтожения, где концентрация 125 мкМ была достаточной для уничтожения всех клеток в течение недели, конструировали новую кривую уничтожения с применением более низких концентраций флумиоксазина с целью определения концентрации, при которой погибают 99% клеток (см. табл. 11). Указанный гербицид суспендировали в ДМСО до конечной концентрации ДМСО при обработке гербицидом, составляющей 1%. Развитие клеток оценивали под микроскопом еженедельно. Исключая контрольную обработку, деление при всех воздействиях флумиок-

сазином предотвращалось через одну неделю; через месяц микрокаллусов при любой из протестированных концентраций не развивалось. Концентрация флумиоксазина 0,032 мМ достаточна для предотвращения развития микрокаллусов из протопластов картофеля.

В табл. 11 приведен обзор результатов экспериментов с кривой уничтожения для флумиоксазина с суспензией клеток и полученными из верхушек побегов протопластами. Протопласты подвергались действию флумиоксазина на протяжении одного месяца.

Таблица 11

Необработанный протопласт + ПЭГ	Число каллусов в 3 шариках		Стоп-GFP + Корректирующий GRON	Число каллусов в 3 шариках	
	Число	%		Число	%
Конц. флумиоксазина, мкМ			Конц. флумиоксазина, мкМ		
Контроль #1*	185		Контроль	230	
Контроль #2**	150		Контроль	190	
Ср. Контр. 1 + Контр. 2	157,5	100	Ср. Контр. 1 + Контр. 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
0,0624	0	0	0,0624	0	0

* Культуральная среда, без гербицида.

** Культуральная среда с 1% ДМСО, без гербицида.

Кривые уничтожения для сульфентразона.

Кривые уничтожения для сульфентразона на полученных из верхушек побегов протопластах и суспензии клеток показывают, что концентрации 7,8 мкМ сульфентразона достаточны для уничтожения всех полученных из протопластов клеток (см. табл. 12).

Таким образом, новые кривые уничтожения начинались с более низких концентраций: 0; 0,5; 0,6; 0,7 и 0,8 мкМ сульфентразона, как показано в табл. 13. Эти результаты показывают, что обработанные GRON протопласты можно отбирать при концентрациях указанного гербицида от 0,6 до 0,7 мкМ.

В табл. 12 приведен обзор результатов экспериментов с кривой уничтожения для сульфентразона с суспензией клеток и полученными из верхушек побегов протопластами. Протопласты подвергались действию сульфентразона на протяжении одного месяца.

Таблица 12

Обработка сульфентразоном [мкМ]	Образование микрокаллуса
Контроль: 1*	Да; обильное
Контроль: 2**	Да; обильное
62,5	Нет
31,25	Нет
15,6	Нет
7,8	Нет

* Культуральная среда, без гербицида.

** Культуральная среда с 1% ДМСО, без гербицида.

В табл. 13 приведен обзор результатов экспериментов с кривой уничтожения для сульфентразона с суспензией клеток и полученными из верхушек побегов протопластами. Протопласты подвергались воздействию указанного гербицида на протяжении одного месяца.

Таблица 13

Необработанный протопласт + ПЭГ	Число каллусов в 3 шариках		Стоп-GFP + Корректирующий GRON	Число каллусов в шариках	
	Число	%		Число	%
Конц-я сульфентразона, мкМ			Конц-я сульфентразона, мкМ		
0,0	115	100	0,0	125	100%
0,5	45	30	0,5	38	30,2
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

* Культуральная среда, без гербицида.

** Культуральная среда с 1% ДМСО, без гербицида.

Пример 6. Кривые уничтожения листовых дисков.

С целью установления концентрации сульфентразона, подавляющей образование каллуса в эксплантатах листовых дисков, из выращенных *in vitro* растений картофеля возрастом 5 недель вырезали стерильным дыроколом листовые диски. Указанные листовые диски культивировали в чашках Петри с твердой культуральной средой Haberlach, содержащей различные концентрации сульфентразона в конечной концентрации ДМСО 1%. Шесть листовых дисков культивировали при каждой из концентраций гербицида. Чашки запечатывали микропористой лентой и инкубировали при комнатной температуре (примерно 23°C). В стартовом эксперименте концентрация сульфентразона 7,8 мкМ - самая низкая из

протестируемых в этом эксперименте, была достаточной для прекращения образования каллуса и обесцвечивания всех листовых дисков в течение 20 дней. Результаты для кривой уничтожения при более низких концентрациях сульфентразона показали, что концентрация сульфентразона 3,0 мкМ была достаточной для подавления образования каллуса практически во всех листовых дисках через 20 дней, при этом через 13 дней каллус появлялся на жилках некоторых листовых дисков, растущих на 2,0 мкМ сульфентразоне. Аналогичные эксперименты с кривой уничтожения листовых дисков проводили с применением сафлуфенацила, при этом концентрация указанного гербицида 0,5 мкМ была достаточной для подавления образования каллуса практически во всех листовых дисках через 20 дней.

Пример 7. Материалы и способы культивирования клеток и введения GRON.

Таблица 14

Последовательности GRON

GRON	Последовательность
StcPPX1144/C/47/5'Cy3/3'idC	VGTTGGGAGATCCTGATGCGCCTTGCTTTGTCTTG TGGAAAGGATAAACH (SEQ ID NO: 33)
StcPPX1144/NC/47/5'Cy3/3'idC	VGTTTATCCTTCCACAAGACAAAGCAAGGCGCATC AGGATCTCCCAACH (SEQ ID NO: 34)
StcPPX1220/C/47/5'Cy3/3'idC	VCATCATTTTACAGGTGTTTACACCGGTGACCCCT CAAAATTGH (SEQ ID NO: 35)
StcPPX1220/NC/47/5'Cy3/3'idC	VCAATTTTGAGGGGTCACCGGTGTAACACCTGTA AAATGATGH (SEQ ID NO: 36)

Конвертирующее основание выделено жирным шрифтом. V=CY3; H=3'DMT dC CPG.

Описание процесса культивирования клеток.

Побеги, например, полученные из семян, клубней, пазушных почек, листьев, стеблей, корней, каллуса или из происходящих из микроспор зародышей, проращивают в стерильных условиях *in vitro*. Эксплантаты пересевают, например, каждые 3-4 недели и культивируют в сосудах для культивирования Magenta GA7 (Phytotechnology Laboratories, Шони Мишн, Канзас, США) с вентилируемыми крышками в составляющем приблизительно 100 мл объеме культуральной среды, например среды MS по Murashige и Skoog (Модифицированная среда для быстрого роста и биоанализа культур табака). *Physiol. Plant* 15 (1962) 473-49) или ее модификации. Указанные сосуды могут быть запечатаны микропористой лентой (Micropore tape) (3M Company). Для выделения протопластов могут быть использованы молодые листья, верхушки побегов, корни, микроклубни или длинные сегменты стеблей с листовыми и пазушными почками, а также каллус, полученный из указанных тканей. Протопласты могут также быть выделены из клеток суспензионной культуры, полученных из молодых листьев, верхушек побегов, корней, микроклубней или длинных сегментов стеблей с листовыми и пазушными почками, а также каллуса, полученного из указанных тканей.

Выделение протопластов из верхушек побегов.

Приблизительно 200 верхушек 2-8-недельных *in vitro* побегов, которые культивировали в обычном режиме день/ночь либо предпочтительно выдерживали в течение двух дней до выделения протопластов в темноте, побеги могут быть разрезаны с помощью скальпеля на маленькие кусочки в чашке Петри со стерильной водой. После разрезания всех верхушек воду заменяют культуральной средой для протопластов, предпочтительно BN (среда с солями и витаминами B5 Salts and Vitamins (Phytotechnology Laboratories), 20 г/л глюкозы, 70 г/л маннита, 5 мг/л α -нафталинуксусной кислоты, дополнительно $\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$ 600 мг/л, 250 мг/л казеинового гидролизата, 10 мг/л цистеин-HCl, 5 г/л поливинилпирролидона (MM 10 000). Приблизительно через 1-2 ч указанную культуральную среду для протопластов заменяют ферментным раствором, например, состоящим из среды BN, в котором растворено 0,5% (мас./об.) целлюлазы Cellulase YC и 0,75% (мас./об.) мацерозима Macerozyme R10 (оба от Karlan Research Products, Коттонвуд, Аризона), 1 г/л альбумина бычьей сыворотки и 1 г/л 2-морфолиноэтансульфоновой кислоты. Отношение числа верхушек побегов к объему ферментного раствора может составлять от 10 до 16, предпочтительно, 13. Чашку с кусочками верхушек побегов в ферментном растворе инкубируют при 25-30°C, предпочтительно 28°C, в темноте, на шейкере, установленном приблизительно на 50 об/мин. После инкубирования в течение ночи суспензию протопластов очищают с применением градиента плотности йодиксанол (по адаптированной инструкции Optiprep Application Sheet C18; Purification of Intact Plant Protoplasts ("Очищение интактных растительных протопластов"); Axis-Shield США, Коммерс Уэй (Commerce Way), 10, Нортон, Массачусетс 02776). После центрифугирования в градиенте плотности полосу с очищенными протопластами извлекают вместе с приблизительно 5 мл среды W5 (Frigerio et al., 1998). Плотность и выход протопластов определяют с помощью гемоцитометра. Плотность протопластов доводят до 1×10^6 /мл в среде BN, содержащей 2 мг/л 2,6-дихлорбензонитрила (ингибитора целлюлозосинтазы), и протопласты культивируют в темноте при 30°C в течение приблизительно 16 ч.

Выделение протопластов из суспензий клеток.

Выделение протопластов из суспензий клеток проводят согласно тому же протоколу, что и описанный для выделения протопластов из верхушек побегов, со следующими исключениями.

1. Применяют суспензии быстро растущих клеток, предпочтительно через три дня после последнего посева. Объем осевших клеток 1,5 мл переносят приблизительно в 15 мл среды BN, которую через 2 ч замещают ферментным раствором.

2. После очищения протопластов немедленно проводят обработку GRON/ПЭГ.

Введение олигонуклеотидов для геной репарации (GRON).

Суспензию протопластов смешивают с равным объемом среды W5, переносят в центрифужную пробирку объемом 50 мл и центрифугируют в течение 10 мин при минимальном для клинического центрифугирования значении (приблизительно $50 \times g$). Супернатант удаляют и замещают средой ТМ (Klaus, S. Markerfreie transplastome Tabakpflanzen (Транспластомные растения табака без маркеров). PhD Dissertation, 2002, Ludwig-Maximilians-Universität München, 109 pp), доводят плотность протопластов до 5×10^6 /мл. Аликвоты по 100 мкл, содержащие 5×10^5 протопластов, каждая, распределяли по круглодонным центрифужным пробиркам объемом 12 мл. Затем в протопласты с применением обработки ПЭГ вводили GRON (такие как приведенные в табл. 14), нацеленные на одну или более мутацию в одном или обоих митохондриальном и пластидном генах РРХ. Для введения указанных GRON в протопласты добавляют 12,5 мкг GRON, растворенных в 25 мкл очищенной воды, и 125 мкл раствора полиэтиленгликоля (5 г ПЭГ с ММ 1500, 638 мг маннита, 207 мг $\text{CaNO}_3 \times 4\text{H}_2\text{O}$ и 8,75 мл очищенной воды; pH доводят приблизительно до 9,0). Через 10-30 мин инкубации на льду суспензию протопластов и ПЭГ промывают средой W5 и ресуспендируют в среде BN. Указанную суспензию выдерживают в течение ночи в темноте при комнатной температуре.

GRON могут быть введены в протопласты с применением электропорации, катионных липидов, наночастиц, поликатионов, таких как гексаметрина бромид (полибрен) или спермидин, или с применением GRON, связанных в комплексы с разнообразными проникающими в клетки пептидами (СПП/ПКП), включая, но не ограничиваясь перечисленными, ТАТ, рVEC, транспортан, нона-аргинин, ВАХ-ингибирующий пептид (VPMLK), или такие как перечисленные у Patel et al. Cell Penetrating Peptides: Intracellular Pathways and Pharmaceutical Perspectives ("Проникающие в клетки пептиды: внутриклеточные пути и перспективы фармацевтического применения"). *Pharmaceutical Research*, 24 (2007), 1977-1992, или у Veldhoen et al. Recent developments in peptide-based nucleic acid delivery ("Последние достижения в области доставки нуклеиновых кислот на основе пептидов"). *International Journal of Molecular Science* (2008) 1276-1320. Согласно другому варианту реализации GRON вводят в протопласты с помощью отрицательно заряженных полимеров, включая дендримеры, такие как полиамидамин (ПАМАМ), но не ограничиваясь ими.

GRON также могут быть доставлены в целые ткани либо клетки с применением способов, которые могут включать микроинъекции, биолистику покрытыми GRON носителями, такими как золото, или непосредственно в форме капель суспензии GRON, покрытых GRON вискером, либо с применением GRON в комплексах с разнообразными проникающими в клетки пептидами (СПП), отрицательно заряженными полимерами, упомянутыми в предыдущем параграфе. Другие варианты реализации предполагают применение ультразвука, пропитывание в GRON-содержащих растворах или пермеабиллизацию клеточных стенок, например, с помощью таких агентов, как толуол или сапонин.

Внедрение протопластов в альгинат кальция.

Через день после введения GRON протопласты внедряют в альгинат кальция. Было показано, что внедрение протопластов в гелевые субстраты (например, агарозу, альгинат) повышает выживаемость протопластов и увеличивает частоту деления полученных из протопластов клеток. Применяемый способ основан на описанном у Dovzhenko et al. (Thin-alginate-layer technique for protoplast culture of tobacco leaf protoplasts: shoot formation in less than two weeks ("Методика культивирования культуры протопластов табачного листа на тонком слое альгината: формирование побегов менее за две недели"). *Protoplasma* 204 (1998), 114-118).

Культивирование протопластов и отбор устойчивых к гербицидам каллусов Отбор устойчивых к гербицидам каллусов проводят с применением последовательного субкультивирования альгинатов в жидкой среде по Pelletier et al. (1983). Отбор можно начинать через неделю после обработки ПЭГ/GRON при подходящей концентрации ингибирующего РРХ гербицида, например, 32 мкМ флумиоксазина или 0,25, 0,5, 1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 7,8; 15,6; 31,2 или 62,5 мкМ сульфентразона. До окончания фазы отбора в жидкой среде клетки и колонии извлекают из альгината обработкой в течение 30-45 мин культуральной средой, содержащей 50 мМ цитрата натрия. К моменту переноса извлеченных колоний из жидкой среды на твердую среду Cul (Haberlach et al. Isolation, culture and regeneration of protoplasts from potato and several related Solanum species. *Plant Science*, 39 (1985) 67-74) большинство колоний либо могут погибнуть, либо состоят из зеленоватого центра, покрытого внешними слоями мертвых клеток. На отвержденной селективной среде (Cul + гербицид) большинство микрокаллусов, которые все еще содержат живые клетки, могут прекратить рост и побуреть. Ограниченный рост отдельных каллусов иногда продолжается, но все неустойчивые каллусы в конечном итоге буреют и погибают. Спустя две-три недели после переноса на отвержденную селективную среду (иногда ранее) активно растущие каллусы могут появляться на фоне побуревших клеток и микрокаллусов. Проводят регенерацию растений из полученных из протопластов

гербицидотолерантных каллусов с подтвержденной мутацией в гене PPX. Толерантные к ингибирующему PPX гербициду каллусы, развивающиеся на отверженной селективной среде, анализ ДНК которых показывает наличие мутаций, переносят в не содержащую гербицидов среду Cu1 для ускорения развития. Скорости роста и морфология индивидуальных каллусных линий варьируют. В целом развитие в направлении регенерации побегов проходит следующие этапы:

Недифференцированный зеленый каллус → каллус с темно-зелеными участками → развитие зачатков побегов → развитие растения.

Развитие индивидуальных каллусных линий изменчиво, но многие в итоге дают побеги при непрерывном субкультивировании и размножении на среде Cu1 или за счет изменения состава среды на дифференцирующую среду, включая дифференцирующую среду Haberlach, но не ограничиваясь ей, на протяжении подходящего периода времени (1-6 месяцев) с последующим переносом указанных каллусных линий на среду для регенерации, включая среду для регенерации Bokelmann (Bokelmann G.S. and Roest S.Z. Pflanzenphysiol. vol. 109, p. 259-265 (1983)), но не ограничиваясь ею.

После того как на среде для регенерации сформировались побеги с тремя-четырьмя листьями, их переносят на среду для размножения, включая среду MS, но не ограничиваясь ей. На указанной среде *in vitro* ростки дают корни, применяют стандартные протоколы адаптации к условиям теплицы. Молекулярный скрининг

Для мониторинга частоты мутаций PPX после обработки RTDS могут применяться стандартные молекулярные техники и более чувствительные основанные на ПЦР технологии. Указанные молекулярные техники включают, но не ограничены перечисленными, аллель-специфичную ПЦР, секвенирование ДНК и другие технологии идентификации SNP с применением не действующих ПЦР техник. Указанные техники позволяют проводить мониторинг частоты направленных мутаций PPX на раннем этапе процедуры. Согласно некоторым вариантам реализации указанные мутации могут оцениваться в популяциях одиночных клеток. Указанные техники затем могут применяться на протяжении всего процесса культивирования для подтверждения и отслеживания наличия мутаций в отобранных каллусах и регенерированных растениях.

Пример 8. Опрыскивание гербицидами.

Растения картофеля *Solanum tuberosum* или сорта Рассет Бербанк по достижении ими 2-6 дюймов в высоту (как правило, на этапе 5-6 листов) опрыскивают различными PPX-ингибирующими гербицидами. Гербициды распыляют в присутствии 0,25% поверхностно-активного агента AU391. Указанные гербициды распыляют, например, в следующих количествах:

флумиоксазин 2 унций активного ингредиента на акр (а.и./акр);

сульфентразон 4,5 унций а.и./акр Сафлуфенацил 1-13 унций а.и./акр.

Гербициды применяют, опрыскивая листья; контрольные растения не опрыскивают. Эксперименты с PPX-ингибирующим гербицидом оценивают спустя 14 дней после опрыскивания с применением шкалы поврежденности от 1 до 10, где 1 соответствует гибели, а 10 соответствует неповрежденным неопрыскиваемым контролям. Линии индивидуальных растений сравнивают для каждой интенсивности опрыскивания с результатами для контроля при данной конкретной интенсивности. PPX-ингибирующие гербициды потенциально имеют широкий диапазон применения и могут использоваться для "пре-" или "пост-" обработки урожая, в том числе картофеля. Исследования с гербицидами проводят как в теплицах, так и в поле для мониторинга ущерба, наносимого растениям (сельскохозяйственным культурам), и/или контроля сорняков. Продукты с использованием RTDS могут позволить фермерам при посеве сельскохозяйственных культур, таких как картофель, применять PPX-ингибирующие гербициды для устранения или контролирования сорняков на полях, не нанося при этом ущерба культурам. Если не указано иное, все используемые в настоящем описании технические и научные термины имеют те же значения, в общем случае подразумеваемые средним специалистом в той области техники, к которой принадлежит настоящее изобретение.

Изобретения, иллюстративно описанные в настоящем изобретении, могут быть подходящим образом осуществлены в отсутствие какого-либо элемента или элементов, ограничения или ограничений, конкретно не описанных в настоящем документе. Соответственно, например, термины "содержащий", "включающий", "имеющий в составе" и т.д. должны пониматься в широком смысле и без ограничения. Кроме того, термины и выражения, использованные в настоящем описании, применены в качестве описательных, но не ограничительных терминов, без намерения применения таких терминов и выражений для исключения любых эквивалентов представленных и описанных в настоящем документе признаков или их элементов. Следует понимать, что в объем заявленного изобретения могут входить различные модификации. Таким образом, необходимо понимать, что, хотя настоящее изобретение описано конкретным образом с использованием предпочтительных вариантов и возможных признаков, специалисты в данной области техники могут прибегать к модификациям, улучшению и вариациям описанных изобретений, и предполагается, что такие модификации, улучшения и вариации входят в объем настоящего изобретения. Приведенные в настоящем документе материалы, способы и примеры представляют пред-

почтительные варианты реализации, являются иллюстративными и не предназначены для ограничения объема настоящего изобретения.

В настоящем документе изобретение было описано в широком и общем смысле. Каждый(ое) из более ограниченных видов и подклассовых групп, входящих в общее раскрытие, также является частью настоящего изобретения. Это касается и общего описания настоящего изобретения с оговоркой или отрицательным ограничением, удаляющим(ей) любой объект указанного класса, независимо от того, упоминается или нет конкретный исключенный материал в данном описании.

Кроме того, в тех случаях, когда свойства или аспекты настоящего изобретения описаны в терминах групп Маркуша, специалистам в данной области техники будет ясно, что настоящее изобретение, таким образом, также описывается в терминах любого индивидуального представителя или подгруппы представителей группы Маркуша. Все публикации, патентные заявки, патенты и другие упоминаемые в настоящем описании источники явным образом во всей полноте включены в него посредством ссылок, в том же объеме, как если бы каждый из них был включен посредством индивидуальной ссылки. В случае конфликта настоящее описание, включая определения, будет иметь преимущество. Другие варианты реализации приведены в нижеследующей формуле изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Растение, устойчивое к одному или более гербицидам, ингибирующим PPX, содержащее мутантный ген протопорфириноген IX оксидазы (PPX), причем указанный ген кодирует белок, содержащий замену в положении аминокислоты, соответствующем положению 144 последовательности SEQ ID NO: 1, и замену в положении аминокислоты, соответствующем положению 220 последовательности SEQ ID NO: 1, причем замена в положении аминокислоты, соответствующем положению 144 последовательности SEQ ID NO: 1, представляет собой замену аргинина на цистеин, или лейцин, или гистидин; и при этом замена в положении аминокислоты, соответствующем положению 220 последовательности SEQ ID NO: 1, представляет собой замену аланина на треонин.

2. Растение по п.1, отличающееся тем, что указанный мутантный ген PPX кодирует белок, содержащий замены R144C и A220T.

3. Растение по п.1 или 2, отличающееся тем, что указанное растение выбрано из группы, состоящей из картофеля, подсолнечника, сахарной свеклы, кукурузы, хлопка, пшеницы, ржи, овса, риса, канолы, плодовых растений, овощей, табака, ячменя, сорго, томата, манго, персика, яблони, груши, клубники, банана, дыни, моркови, салата, лука, видов сои, включая сою культурную, сахарного тростника, гороха, кормовых бобов, тополя, винограда, цитрусовых, люцерны, дернообразующих и кормовых трав, льна, масличного рапса, огурца, вьюнка, бальзамина, перца, баклажана, бархатцев, лотоса, капусты, астровых, гвоздики, петунии, тюльпана, ириса, лилии и дающих орехи растений, в частности, указанное растение является видом, выбранным из группы, состоящей из *Solanum tuberosum*, *Oryza sativa* и *Zea mays*, или сортом картофеля Рассет Бербанк.

4. Растение по любому из пп.1-3, отличающееся тем, что указанное растение устойчиво к одному или более гербицидам, ингибирующим PPX, выбранным из следующих: аксифлуорфен-Na, бифенокс, хлорметоксифен, флуоргликофен-этил, фомесафен, халосафен, лактофен, оксифлуорофен, флуозолат, пирафлуфен-этил, цинидон-этил, флумиоксазин, флумиклорак-пентил, флутиасет-метил, тидиазимин, оксадиазон, оксадиаргил, азафенидин, карфентразон-этил, сульфентразон, пентоксазон, бензфендизон, бутафенацил, сафлуфецил, пиразогил, профлуазол, в частности, указанное растение устойчиво к одному или более гербицидам, выбранным из группы, состоящей из флумиоксазина, сульфентразона и сафлуфенацила.

5. Растение по любому из пп.1-4, которое является нетрансгенным растением.

6. Растительная клетка, устойчивая к одному или более гербицидам, ингибирующим PPX, содержащая мутантный ген протопорфириноген IX оксидазы (PPX), причем указанный ген кодирует белок, содержащий замену в положении аминокислоты, соответствующем положению 144 последовательности SEQ ID NO: 1, и замену в положении аминокислоты, соответствующем положению 220 последовательности SEQ ID NO: 1, причем замена в положении аминокислоты, соответствующем положению 144 последовательности SEQ ID NO: 1, представляет собой замену аргинина на цистеин, или лейцин, или гистидин; и при этом замена в положении аминокислоты, соответствующем положению 220 последовательности SEQ ID NO: 1, представляет собой замену аланина на треонин.

7. Растительная клетка по п.6, отличающаяся тем, что указанный мутантный ген PPX кодирует белок, содержащий замены R144C и A220T.

8. Растительная клетка по п.6 или 7, которая является нетрансгенной клеткой.

9. Способ получения нетрансгенной растительной клетки с мутантным геном PPX, включающий введение в растительную клетку олигонуклеотида репарации генов (GRON) с направленной мутацией в гене протопорфириноген IX оксидазы (PPX) с получением растительной клетки с геном PPX, которая экспрессирует белок PPX, содержащий замену в положении аминокислоты, соответствующем положению 144 последовательности SEQ ID NO: 1, и замену в положении аминокислоты, соответствующем по-

ложению 220 последовательности SEQ ID NO: 1, причем замена в положении аминокислоты, соответствующем положению 144 последовательности SEQ ID NO: 1, представляет собой замену аргинина на цистеин, или лейцин, или гистидин; и при этом замена в положении аминокислоты, соответствующем положению 220 последовательности SEQ ID NO: 1, представляет собой замену аланина на треонин.

10. Способ получения устойчивого к гербицидам растения, включающий получение растительной клетки способом по п.9 и регенерацию нетрансгенного устойчивого к гербицидам растения, содержащего мутантный ген PPX, из указанной растительной клетки.

11. Способ по п.9 или 10, отличающийся тем, что указанный мутантный ген PPX кодирует белок, содержащий замены R144C и A220T.

12. Способ по пп.9-11, отличающийся тем, что указанная растительная клетка является клеткой растения, выбранного из группы, состоящей из картофеля, подсолнечника, сахарной свеклы, кукурузы, хлопка, пшеницы, ржи, овса, риса, канолы, плодовых растений, овощей, табака, ячменя, сорго, томата, манго, персика, яблони, груши, клубники, банана, дыни, моркови, салата, лука, видов сои, включая сою культурную, сахарного тростника, гороха, кормовых бобов, тополя, винограда, цитрусовых, люцерны, дернообразующих и кормовых трав, льна, масличного рапса, огурца, бальзамина, перца, баклажана, бархатцев, лотоса, капусты, астровых, гвоздики, петунии, тюльпана, ириса, лилии и дающих орехи растений, в частности, указанная растительная клетка относится к виду, выбранному из группы, состоящей из *Solanum tuberosum*, *Oryza sativa*, *Sorghum bicolor*, *Ricinus communis*, *Brassica napus*, *Glycine max* и *Zea mays*, или указанная растительная клетка является сортом картофеля Рассет Бербанк.

13. Способ по любому из пп.9-12, отличающийся тем, что указанное растение устойчиво к одному или более гербицидам, ингибирующим PPX, выбранным из следующих: аксифлуорфен-Na, бифенокс, хлорметоксифен, флуоргликофен-этил, фомесафен, халосафен, лактофен, оксифлуорофен, флуозолат, пирафлуфен-этил, цинидон-этил, флумиоксазин, флумиклорак-пентил, флутиасет-метил, тидиазимин, оксадиазон, оксадиаргил, азафенидин, карфентразон-этил, сульфентразон, пентоксазон, бензфендизон, бутафенацил, сафлуфенцил, пиразогил, профлуазол, в частности, указанное растение устойчиво к одному или более гербицидам, выбранным из группы, состоящей из флумиоксазина, сульфентразона и сафлуфенцила.

Последовательность аминокислот хлоропластной протопорфириногенаксидазы *Arabidopsis thaliana* (PPOX - At4g01690) (№ доступа AX084732) (SEQ ID NO: 1)

```

1  MELSLLRPTTQSLPFSFKPNLRLNVYKPLRLRCSVAGGPTVGSSKIEGG
51  GGTTITTDVIVGGGISGLCIAQALATKHPDAAPNLIVTEAKDRVGGNI I
101 TREENGFLWEEGPNFQPSDPMLTMVVDGLKDDLVLDGPTAPRFVLWNG
151 KLRPVPSKLTDLPPFDLMSIGGKIRAGFGALGIRSPPGREESVEEFVRR
201 NLGDEVFERLIEPFCSGVYAGDPSKLSMKAAFGKVKLEQNGGSIIGGTF
251 KAIQERKNAPKAERDPRLPKPQGQTVGSFRKGLRMLPEAISARLGSKVKL
301 SWKLSGITKLESGGYNLTYPDGLVSVQSKSVVMTVP SHVASGLLRPLS
351 ESAANALSKLYPPVAAVSISYPKEAIRTECLIDGELKGFGLHPRTOGV
401 ETLGTIYSSSLFPNRAPPGRILLNLYIGGSTNTGILSKSEGELVEAVDRD
451 LRKMLIKPNSTDPLKLGVRVWPQAI PQFLVGHFDILD TAKSSLTSSGYEG
501 LFLGGNYVAGVALGRCVEGAYETAIEVNNFMSRYAYK

```

Фиг. 1

Нуклеотидная последовательность хлоропластной протопорфириногенаксидазы
Arabidopsis thaliana (PPOX - At4g01690) (№ доступа AX084732) (SEQ ID NO: 2)

```

1   TGACAAAATT CCGAATTCTC TCGGATTTCG ATGGAGTTAT CTCTTCTCCG TCCGACGACT
61  CAATCGCTTC TTCCGTCGTT TTCGAAGCCC AATCTCCGAT TAAATGTTTA TAAGCCTCTT
121 AGACTCCGTT GTTCAGTGGC CGGTGGACCA ACCGTCGGAT CTCAAAAAAT CGAAGGCGGA
181 GGAGGCACCA CCATCACGAC GGATTGTGTG ATTGTCGGCG GAGGTATTAG TGGTCTTTGC
241 ATCGCTCAGG CGCTTGCTAC TAAGCATCCT GATGCTGCTC CGAATTTAAT TGTGACCGAG
301 GCTAAGGATC GTGTTGGAGG CAACATTATC ACTCGTGAAG AGAATGGTTT TCTCTGGGAA
361 GAAGATCCCA ATAGTTTTCA ACCGTCGAT CCTATGCTCA CTATGGTGGT AGATAGTGGT
421 TTGAAGGATG ATTTGGTGTG GGGAGATCCT ACTGCGCCAA GGTTTGTGTT GTGGAATGGG
481 AAATTGAGGC CGGTTCCTAC GAAGCTAACA GACTTACCGT TCTTTGATTT GATGAGTATT
541 GGTGGGAAGA TTAGAGCTGG TTTTGGTGCA CTGGCATTG GACCGTCACC TCCAGGTCGT
601 GAAGAATCTG TGGAGGAGTT TGTACGGCGT AACCTCGGTG ATGAGGTTTT TGAGCGCTG
661 ATTTGAACCGT TTTGTTTCAGG TGTTTATGCT GGTGATCCTT CAAAACCTGAG CATGAAAGCA
721 GCGTTTGGGA AGGTTTGGAA ACTAGAGCAA AATGGTGGAA GCATAATAGG TGGTACTTTT
781 AAGGCAATTC AGGAGAGGAA AAACGCTCCC AAGGCAGAAC GAGACCCGCG CCTGCCAAAA
841 CCACAGGGCC AAACAGTTGG TTCTTTCAGG AAGGGACTTC GAATGTTGCC AGAAGCAATA
901 TCTGCAAGAT TAGGTAGCAA AGTTAAGTTG TCTTGGAAGC TCTCAGGTAT CACTAAGCTG
961 GAGAGCGGAG GATACAACCT AACATATGAG ACTCCAGATG GTTTAGTTTC CGTGCAGAGC
1021 AAAAGTGTG TAATGACGGT GCCATCTCAT GTTGCAAGTG GTCTCTTGGC CCCTCTTTCT
1081 GAATCTGCTG CAAATGCACT CTCAAAACCTA TATTACCCAC CAGTTGCAGC AGTATCTATC
1141 TCGTACCCGA AAGAAGCAAT CCGAACAGAA TGTTTGATAG ATGGTGAAC AAAGGTTTTT
1201 GGGCAATTGC ATCCACGCAC GCAAGGAGTT GAAACATTAG GAACTATCTA CAGCTCCTCA
1261 CTCTTTCCAA ATCGCGCACG GCCCGGAAGA ATTTTGCTGT TGAACACAT TGGCGGGTCT
1321 ACAAACACCG GAATTCGTGC CAAGTCTGAA GGTGAGTTAG TGGAAGCAGT TGGAAGCAGT
1381 TTGAGGAAAA TGCTAATTAA GCCTAATTCG ACCGATCCAC TTAATATTAGG AGTTAGGGTA
1441 TGGCTCAAG CCATTCCTCA GTTCTAGTT GGTCACTTTG ATATCCTTGA CACGGCTAAA
1501 TCATCTCTAA CGTCTTCGGG CTACGAAGGG CTATTTTTGG GTGGCAATTA CGTCCGCTGT
1561 GTAGCCTTAG GCCGGTGTGT AGAAGCGCA TATGAAACCG CGATTGAGGT CAACAACCTC
1621 ATGTCACGGT ACGCTTACAA GTAAATGTAA AACATTAAT CTCCCAGCTT GCGTGAGTTT
1681 TATTAATAT TTTGAGATAT CCAAAAAAAA AAAAAAAA

```

Фиг. 2

Последовательность аминокислот митохондриальной протопорфириногенаксидазы
Arabidopsis thaliana (At5g14220 - № доступа NM_121426) (SEQ ID NO: 3)

```

1   MASGAVADHQIEAVSGKRVAVVVGAGVSGLAAYKLSRGLNVTVFADGR
51  VGGKLRVSMQNLINWDEGANTMTEAEPEVGSLLDDLGLREKQQFPISQKK
101 RYIVRNGVPVMLPTNPIELVTSSVLSTQSKFQILLEPFLWKKKSSRVSDA
101 SAEESVSEFFQRHFGQEVVDYLIDPFVGGTSAADPDLSMKHSFPDLWNV
101 EKSPGSIIVGAIRTKFAAKGGKSRDTKSSPGTKKGRGFSFSGKGMQILP
151 DTLCKSLSHDEINLDSKVLSSLSYNSGSRQENWSLSCVSHNETQRQNPYD
201 AVIMTAPLCNVKEMKVMKGGQPFQLNLFPEINYMPLSVLITTFTEKVKR
251 PLEGFVGLIPSKEQKHGFKTLGTLFSSMMFPDRSPSDVHLYTTFFIGSRN
301 QELAKASTDELKQVVTSDLQRLLGVEGEPVSVNHYYWRKAFLYDSSYDS
351 VMEATDKMENDLPGFFYAGNHRGGLSVGKSIASGCKAADLVISYLESCSN
401 DKKPNDSL

```

Фиг. 3

Нуклеотидная последовательность митохондриальной протопорфириноген оксидазы
Arabidopsis thaliana (At5g14220 - № доступа NM_121426) (SEQ ID NO: 4)

```

1 TTTCCGTCAC TGCTTTCGAC TGGTCAGAGA TTTTGACTCT GAATTGTTGC AGATAGCAAT
61 GCGCTCTGGA GCAGTAGCAG ATCATCAAAT TGAAGCGGTT TCAGGAAAAA GAGTCGCAGT
121 CGTAGGTGCA GGTGTAAGTG GACTTGC GGCCTTACAAG TTGAAATCGA GGGGTTTGAA
181 TGTGACTGTG TTTGAAGCTG ATGGAAGAGT AGGTGGGAAG TTGACAAGTG TTATGCAAAA
241 TGGTTTGATT TGGGATGAAG GAGCAAACAC CATGACTGAG GCTGAGCCAG AAGTTGGGAG
301 TTTACTTGAT GATCTTGGGC TTCGTGAGAA ACAACAATTT CCAATTTTAC AGAAAAAGCG
361 GTATATTGTG CGGAATGGTG TACCTGTGAT GCTACCTACC AATCCCATAG AGCTGGTCAC
421 AAGTAGTGTG CTCTCTACCC AATCTAAGTT TCAAATCTTG TTGGAACCAT TTTTATGGAA
481 GAAAAAGTCC TCAAAAGTCT CAGATGCATC TGCTGAAGAA AGTGTAAAGCG AGTTCTTTCA
541 ACGCCATTTT GGACAAGAGG TTGTTGACTA TCTCATCGAC CCTTTTGTG GTGGAACAAG
601 TGCTGCGGAC CCTGATTCCC TTTCAATGAA GCATTCTTTC CCAGATCTCT GGAATGTAGA
661 GAAAAGTTTT GGCTCTATTA TAGTCGGTGC AATCAGAACA AAGTTTGCTG СТААААААААА
721 TAAAAGTAGA GACACAAAGA GTTCTCCTGG CACAAAAAAG GGTTCGCGTG GGTCAATTCTC
781 TTTTAAGGGG GGAATGCAGA TTCTCCTGTA TACGTTGTGC AAAAGTCTCT CACATGATGA
841 GATCAATTGA GACTCCAAGG TACTCTTTT GTCTTACAAT TCTGGATCAA GACAGGAGAA
901 CTGGTCATTA TCTTGTGTTT CGCATAATGA AACCGCAGAGA CAAAACCCCC ATTATGATGC
961 TGTAATTATG ACGGCTCCTC TGTGCAATGT GAAGGAGATG AAGGTATATG AAGGAGGACA
1021 ACCCTTTCAG СТААААААААА TCCCGGAGAT ТААТТАСАТG CCCCCTCTCGG TTTTAAATCAC
1081 CACATTGACA AAGGAGAAAG TAAAGAGACC TCTTGAAGGC TTTGGGGTAC TCATTCATC
1141 TAAGGAGCAA AAGCATGGTT TCAAACTCT AGGTACACTT TTTTCATCAA TGATGTTTCC
1201 AGATCGTTCC CCTAGTGACG TTCATCTATA TACAACCTTT ATTGGTGGGA GTAGGAACCA
1261 GGAAGTAGCC AAAGCTTCCA CTGACGAATT AAAACAAGTT GTGACTTCTG ACCTTCAGCG
1321 ACTGTTGGGG GTTGAAGGTG AACCCGTGTC TGTCACCAT TACTATTGGA GGAAGCAT
1381 CCCGTTGTAT GACAGCAGCT ATGACTCAGT CATGGAAGCA ATTGACAAGA TGGAGAATGA
1441 TCTACCTGGG TTCTTCTATG CAGGTAATCA TCGAGGGGGG CTCTCTGTTG GGAATCAAT
1501 AGCATCAGGT TGCAAAGCAG CTGACSTTGT GATCTCATAC CTGGAGTCTT GCTCAAATGA
1561 CAAGAAACCA AATGACAGCT TATAACATTG TCAAGGTTTC TCCCTTTTTA TCACTTACTT
1621 TGTAAACTTG TAAAATGCAA CAAGCCGCGG TCGGATTAGC CAACAACCTCA GCAAAACCCA
1681 GATTCTCATA AGGCTCACTA ATTCCAGAAT AAACATTTTA TGTATTGTTT GGTCTGTTTT
1741 CTTGTTGCAT CACTGGTATG GTCTGTCTAG GTAGAAGAAT ATGATAGGGT GAGGGATTTT
1801 AGGATTGAAG AATCTTTAAA AC

```

Фиг. 4

Последовательность аминокислот митохондриальной протопорфириноген оксидазы
Amaranthus tuberculatus (№ доступа DQ386117) (SEQ ID NO: 5)

```

1 MVIQSITHLSPNLALPSPLSVSTKNYPVAVMGNISEREPTSAKRVAVVG
51 AGVSGLAAYKLSHGLSVTLFEADSRAGGKLVKKGDFIWDEGANTMT
101 ESEAEVSSLIDDLGLREKQQLPISQNKRYIARAGLPVLLPSNPAALLTSN
151 ILSAKSKLQIMLEPFLWRKHNATELSDEHVQESVGEFFERHFGKEFVDYV
201 IDPFVAGTCGGDPQSLSMHHTFPEVWNIKRFSGSVFAGLIQSTLLSKKEK
251 GGENASIKKPRVRGFSFSFQGGMQLVDTMCKQLGEDELKLCQEVLSLSYN
301 QKGIPSLGNWSVSSMSNNTSEDQSYDAVVVTAPIRNVKEMKIMKFGNPF
351 LDFIPEVTVYPLSVMITAFKKDKVKRPLEGFGVLI PSKEQHNGLKTGLTL
401 FSSMMFPDRAPSDMCLFTTFVGGSRNRKLANASTDELKQIVSSDLQQLLG
451 TEDEPSFVNHFLFWSNAFPLYGHNYDSVLRATDKMEKDLPGFFYAGNHKGG
501 LSVGKAMASGCKAELVLSYLD SHIYVKMDEKTA

```

Фиг. 5

Нуклеотидная последовательность митохондриальной протопорфириногенаксидазы
Amaranthus tuberculatus (№ доступа DQ386117) (SEQ ID NO: 6)

```

1   ATGGTAATTC AATCCATTAC CCACSTTTCA CCAAACCTTG CATTGCCATC GCCATTGTCA
61  GTTTCAACCA AGAАСТАССС АГТАГСТГТА АТGGGCAACA TTTCTGAGCG GGAAGAАССС
121 АСТТСТГСТА ААAGGTTGC TGTGTTGGT GCTGGAGTTA GTGGACTTCG TGТGСАТАТ
181 ААAGSTAAAAT CCCATGGTTT GAGTGTGACA TTGTTTGAAG CTGATTCTAG AGCTGGAGGC
241 АААСТТAAAA CTGTТAAAAA АГАТGGTTTT АТТТGGGATG АGGGGGСААА ТАСТАТGACA
301 GAAAGTGAGG CAGAGGTCTC GAGTTTGATC GATGATCTTG GGCTTCGTGA GAAGCAACAG
361 TTGCCAATTT CАCААААТAA ААGАТАСАТА GCTAGAGCCG GTCTTCCTGT GCTACTACCT
421 TCAAATCCCG CTGCCACTACT CACGAGCAAT ATCCTTTCAG CAAAATCAAA GCTGCAAATT
481 ATGTTGGAAC CАТТТСТСТG GAGAAAACAC ААТGCTACTG ААСТТТСТGА TGAGCATGTT
541 CAGGAAAGCG TTGGTGAATT TTTTGAGCGA CАТТТТGGGA АAGAGTTTGT TGATTATGTT
601 АТТGACССТТ ТТGTTGСGGG ТАСАТGТGGT GGAGATCCTC ААТCGCTTC CATGCACCAT
661 АСАТТТССAG АAGТАТGGAA ТАТТGAAAAA АGГТТТGGCT СТGTGTTTGC CGGACTAATT
721 СААТСААСАТ TGTTATCTAA GAAGGAAAAG GGTGGAGAAA АТGCTTCTAT ТАAGAGCCT
781 CGTGTACGTG GTTCАТТТТC АТТТСАAGGT GGAATGCAGA CАСТТТGТGА CACAATGTGC
841 АААСAGССТG GTGAAGATGA АСТСААСТC CAGTGTGAGG TGCTTCCTT GTCATATAAC
901 CAGAAGGGGA TCCCCTCACT AGGGAATTGG TCAGTCTCTT CTATGTCAA TAATACCAGT
961 GAAGATCAAT CTTATGATGC TGTGGTTGTC АСТGCTCCAA TTCGCAATGT СААGАААТG
1021 ААGАТТАТGА ААТТТGGAAA ТССАТТТТCА СТТGACTTТА ТТССAGAGGT GACGTACGTA
1081 ССССТТТССG ТТАТGАТТАС TGCAТТСААА АAGGATAAAG TGAAGAGACC ТСТТGAGGGC
1141 ТТССGAGTTC ТТАТССССТC ТААAGAGCAA САТААТGGAC TGAAGACTC TGGACTTTA
1201 ТТТТСТСТCА TGATGTTTCC TGATCGTGCT ССАТСТGACA TGТGТСТСТT ТАСТАСАТТТ
1261 GTCCGAGGAA GCAGAAATAG AAAACTTGCA AACGCTTCAA CGGATGAATT GAAGCAAATA
1321 GTTCTTCTG ACCTCAGCA GCTGTTGGGC АСТGAGGACG ААСТТТСАТТ TGTCAATCAT
1381 СТСТТТGGА GCAACGCATT СССАТТGТАТ GGACACAАТТ АСGАТТСТGT ТТТGAGAGCC
1441 АТАGACAAGA TGGAАAGGA ТСТТСТGGA ТТТТТТТATG CAGGТАССА ТАAGGТGGA
1501 СТТТСАGТGG GAAAAGCGAT GGCCTCCGGA TGCAAGGCTG CGGAАСТТGT ААТАСТСТАТ
1561 СТGGACTCTC АТАТАТАСGT GAAGATGGAT GAGAAGACCG CGTAA

```

Фиг. 6

Последовательность аминокислот пластидной протопорфириноген IX оксидазы
Solanum tuberosum (№ доступа AJ225107) (SEQ ID NO: 7)

```

1   MTTTAVANHPSIFTHRSPLPSPSSSSSSPSFLFLNRTNFIPIFYSTSKRNS
51  VNCNGWRTRCSVAKDYTVPPSEVDGNQFPELDCVVVGAGISGLCIAKVIS
101 ANYPNLMVTEARDRAGGNITTVERDGYLWEEGPNFQPSDPMMLTMAVDCG
151 LKDDLVLGDPDAPRFVLWKDKLRPVPGKLDLPPFDLMSIPGKLRAGFGA
201 IGLRPSPPGYEESVEQFVRRNLGAEVFERLIEPFCSGVYAGDPSKLIKMA
251 AFGKVKLEQTGGSIIGGTFKAIKERSNPKPPDRPRLPTPKGQTVGSFR
301 KGLRMLPDAICERLGSKVKLSWKLSSITKSEKGGYLLTYETPEGVVSIRS
351 RSIVMTVPSYVASNILRPLSVAADALSSFYYPVAAVTISYPQEAIRDE
401 RLVDGELKGFGLHPRSQGVETLGTIYSSSLFPNRPAPNGRVLLNLYIGGA
451 TNTEIVSKTESQLVEAVDRDLRKMLIKPKAQDPFVTGVRVWVQAIPOFLV
501 GHLDLTGTAKTALSDNGLDGLFLGGNYVSGVALGRСVEGAYEIASEVTGF
551 LSQYAYK

```

Фиг. 7

Нуклеотидная последовательность пластидной протопорфириноген
 IX оксидазы *Solanum tuberosum* (№ доступа AJ225107) (SEQ ID NO: 8)

```

ATGACAACAACGGCGTCGCGCAACCATCTAGCATTCTACTCACCGGTGCGCCGTCGCGTCGCTCCTCCTCATCGCCGTCATT
TTTATTTTTAAACCGTAGCAATTTCACTCTTCTTTCCACCTCCAAGCGCAATAGTGTCAATTGCAATGGCTGGAGAACACGATGTTCCG
TTGCCAAGGATTATACAGTTCCTCCCTCGGAAGTCGACGGTAATCAGTTCCTCCGAGCTGGATTGTGTGGTAGTTGGAGCAGGAATTAGTGA
CTCTGCATTGCTAAGGTGATTTCCGGCTAATATCCCAATTTGATGGTGACGGAGGCGAGGGATCGTGCCGGTGGAAACATAACGACGGTGGGA
AAGAGATGGATACTTATGGGAAGAAGGTCCTAACAGTTTCCAGCCTTCGGATCCTATGTTGACAATGGCTGTAGATTGTGGATTGAAGGATG
ATTTGGTGTGGGAGATCCTGATGCGCCTCGCTTTGTCTTGTGGAAGGATAAACTAAGGCCTGTTCCCGGCAAGCTCACTGATCTTCCCTTC
TTTGATTTGATGAGTATCCTGGCAAGCTCAGAGCTGGTTTTGGTGCCATTGGCCTTCGCCCTTCACTCCAGGTTATGAGGAATCAGTTGA
GCAGTTCGTGCGTCGTAATCTTGGTGCAGAAGTCTTTGAACGTTGATTGAACCAATTTTGTCTGGTGTTTACCGCCGGTGACCCCTCAAAAT
TGATTATGAAAGCAGCATTGGGAAAGTGTGGAAGCTAGAACAAACTGGTGGTAGCATTATTTGGGGAAACSTTTAAAGCAATTAAGGAGAGA
TCCAGTAAACCTAAACCGCCTCGTGATCCGCGTTTTACCAACACCAAAGGACAAACTGTTGGATCATTAGGAAGGGTCTGAGAATGCTGCC
GGATGCAATTTGTGAAAGACTGGGAAGCAAACTAAACTATCATGGAAGCTTTCTAGCATTACAAGTCAGAAAAGGAGGATATCTCTTGA
CATACGAGACACCAGAAGGAGTAGTTTCTCTGCGAAGTGAAGCATTGTCTAGCTGTTCCATCCTATGTAGCAAGCAACATATTACGCCCT
CTTTCCGGTTCGCTGCAGCAGATGCACTTTCAAGTTTCTACTATCCCCAGTAGCAGCAGTGACAATTTCAATCCTCAAGAGGCTATTCCGTGA
TGAGCGTCTGGTGTAGTGGTGAACATAAGGGATTTGGGCAGTTGCATCCACGTTTACAGGGAGTGGAAAACACTAGGAACAATATATAGTTCAT
CACTCTTTCCTAACCGTGCTCCAAATGGCCGGGTGCTACTCTTGAACSTACATTGGAGGAGCAACAAATCTGAAAATTTGTCTAAGACGGAG
AGCCAACTTGTGGAAGCAGTTGACCGTGACCTCAGAAAATGCTTATAAAACCCAAAGCACAAGATCCCTTTGTACGGGTGTGCGAGTATG
GCCACAAGCTATCCACAGTTTTTGGTGGGACATCTGGATACACTAGGTACTGCAAAAACCTGCTCTAAGTGATAATGGGCTTGACGGGCTAT
TCCTTGGGGTAATATGTGTCTGGTGTAGCATTGGGAAGGTGTGTTGAAGGTGCTTATGAAATAGCATCTGAGGTAACCTGGATTTCTGTCT
CAGTATGCATACAAATGA

```

Фиг. 8

Последовательность аминокислот митохондриальной протопорфириноген
IX оксидазы *Solanum tuberosum* StmPPX1 (SEQ ID NO: 9)

```

1   MAPSAGEDKQ NCPKRVAVIG AGVSGLAAY KLKIHGLDVT VFEEAGRAGG
51  KLRSLSQDGL IWDEGANTMT ESEGDVTFLL DSLGLREKQQ FPLSQNKRYI
101 ARNGTPTLIP SNPIDLKSN FLSTGSKLQM LFEPLLWKNK KLTKVSDEHE
151 SVSGFFQRHF GKEVVVDYLID PFVAGTCGGD PDSLSMHLF PELWNLEKRF
201 GSVIVGAIRS KLSPIKEKKQ GPPKTSVNKK HQRGSFSLG GMQTLTDAIC
251 NDLKEDELRL NSRVLELSCS CSGDSATDSW SIFSASPHKR QAEEDSFDAV
301 IMTAPLCDVK GMKIAKRGNP FLNFIPEVD YVPLSVVITT FKKEVKHPL
351 EGFGLVLPSE EQKHGLKTLG TLFSSMMFPD RAPNNVLYT TFGVGSRNRE
401 LAKASRTELK EIVTSDLKQL LGAEGEPTYV NHVCWSKAFP LYGHNYDSVL
451 DAIDKMEKNL PGLFYAGNHK GGLSVGKALS SGCNAADLVI SYLEAVSTDT
501 KNHR

```

Фиг. 9

Нуклеотидная последовательность митохондриальной протопорфириноген
IX оксидазы *Solanum tuberosum* StmPPX1 (SEQ ID NO: 10)

```

1   ATGGCTCCAT CTGCCGGAGA AGATAACAA AATTGTCCCA AGAGAGTTGC AGTCATTGGT
61  GCTGGCGTCA GTGGACTTGC TGCAGCATA CAGTTGAAA TTCATGGCTT GGATGTCACA
121 GTATTCGAAG CAGAAGGGAG AGCTGGAGGG AAGTTACGAA GCCTGAGTCA AGATGGCCTA
181 ATATGGGATG AAGGCGCAA TACTATGACT GAAAGTGAAG GTGATGTAC ATTTTGGCTT
241 GATTCCGCTTG GACTCCGAGA AAAACAACAA TTTCCACTTT CACAGAACAA GCGCTACATT
301 GCCAGAAATG TACTCCTAC TCTGATACCT TCAAATCAA TTGACCTGAT CAAAAGCAAC
361 TTTCTTTCCA CTGGATCAAA GCTTCAGATG CTTTTCGAGC CTCTTTTGTG GAAGAATAAA
421 AAGCTTACAA AGGTGTCTGA CGAACCGAA AGTGTCAAG GATTCTTCCA GCGTCATTTT
481 GGAAGGAGG TTGTTGACTA TCTAATTGAT CCTTTTGTG CTGGAACGTG TGGTGGTGAT
541 CCTGACTCGC TTTCAATGCA CCTTCGTTT CCAGAGTTGT GGAATTTAGA GAAAAGGTTT
601 GGCTCAGTCA TAGTTGGGGC AATTTCGATC AAGTTATCAC CTATAAAGGA AAAGAAACAA
661 GGACCACCCA AAACCTCAGT AAATAAGAAG CACCAGCGGG GGTCTTTTC ATTTTGGGC
721 GGAATGCAA CACTTACTGA CGCAATATGC AATGATCTCA AAGAAGATGA ACTTAGGCTA
781 AACTTAGAG TTCTGGAAT ATCTTGTAGC TGTAGTGGG ACTCTGCGAC AGATAGCTGG
841 TCAATTTTT CTGCCTCAC ACACAAGCG CAAGCAGAAG AAGATTCAAT TGATGCTGTA
901 ATTATGACGG CCCCTCTG TGACGTTAAG GGTATGAAGA TTGCTAAGAG AGGAAATCCA
961 TTTCTGCTCA ACTTTATTC TGAGGTTGAT TATGTACCAC TATCTGTTGT TATAACCACA
1021 TTTAAGAAGG AGAGTGTAAC GCATCCTCTT GAGGGTTTTG GAGTGCTTGT ACCTCCGAG
1081 GAGCAAAAC ATGGTCTGAA GACATTAGGC ACCCTCTCTT CTCTATGAT GTTTCCAGAT
1141 CGTGACCCA ACAATGTCTA TCTCTATACT ACATTTGTTG GTGGAAGCCG AAATAGAGAA
1201 CTCGCGAAG CCTCGAGGAC TGAGCTGAAA GAGATAGTAA CTTCTGACCT TAAGCAGTTG
1261 TTGGGTGCTG AGGGAGAGCC AACATATGTG AATCATGTAT GCTGGAGTAA AGCATTTCCG
1321 TTGTACGGGC ATAACATATGA TTCAGTCTC GATGCAATTG ACAAATGGA GAAAATCTT
1381 CCTGGATTAT TCTATGCAGG TAACCACAAG GGAGGATTGT CAGTTGGCAA AGCACTATCT
1441 TCTGGATGTA ATGCAGCAGA TCTTGTATA TCATATCTTG AAGCCGTTT AACCGACACC
1501 AAAAACATA GGTGAAATCT ATTCTCTCAT GCAGCTTGCC GTTCTTTGTT CCACAAAATC
1561 GTTTAACTTC ATGACGAGGA GCAACTTTAA CGTGCAGCCA GTGACGCA

```

Фиг. 10

Последовательность аминокислот протопорфириноген
IX оксидазы *Zea mays* (№ доступа AF218052) (SEQ ID NO: 11)

```

1   MVAATATAMATAASPLLNGTRIPARLRHRGLSVRCAAVAGGAAEAPASTG
51  ARLSADCVVVGGG I SGLCTAQALATRHGVGDVLTVEARARPGGNITTVR
101 PEEGYLWEEGPNSFQSPDVLTMVDSGLKDDL VFGDPNAPRFVLWEGKL
151 RPVPSKPADLPFFDLMSIPGKLRAGLGALGIRPPPPGREESVVEEFVRRNL
201 GAEVFERLIEPFCSGVYAGDPSKLSMKA AF GKVWRLEETGGSIIGGTIKT
251 IQERSKNPKPRDARLPKPKGQTVASF RKGLAMLPNAITSSLGSKVKLSW
301 KLTSITKSDDKGYVLEYETPEGVVSQAKSVIMTIPSYVASNILRPLSSD
351 AADALSRFYYPVAAVTVSYPKEAIRKECLIDGELQGFGLHPRSQGVET
401 LGTIYSSSLFPNRPDGRVLLN YIGGATNTGIVSKTESELVEAVDRDLR
451 KMLINSTAVDPLVLVGVRVWPQAIPQFLVGHLDLLEAKAALDRGGYDGLF
501 LGGNYVAGVALGRCVEGAYESASQISDFLTKYAYK

```

Фиг. 11

Нуклеотидная последовательность протопорфириноген
IX оксидазы *Zea mays* (№ доступа AF218052) (SEQ ID NO: 12)

```

1 ATGGTCGCCC CCACAGCCAC CGCCATGGCC ACCGCTGCAT CGCCGCTACT CAACGGGACC
61 CGAATACCTG CGCGGCTCCG CCATCGAGGA CTCAGCGTGC GCTGCGCTGC TGTGGCGGGC
121 GCGCGGGCCG AGGCACCGGC ATCCACCGGC GCGCGGCTGT CCGCGGACTG CGTCTGTGTT
181 GCGCGAGGCA TCAGTGGCCT CTGCACCGCG CAGGCGCTGG CCACGCGGCA CGGCGTGGGG
241 GACGTGCTTG TCACGGAGGC CCGCGCCCGC CCCGGCGGCA ACATTACCAC CGTCGAGCCG
301 CCCGAGGAAG GGTACCTCTG GGAGGAGGGT CCCAACAGCT TCCAGCCCTC CGACCCCGTT
361 CTCACCATGG CCGTGGACAG CGGACTGAAG GATGACTTGG TTTTGGGGA CCCAACCGCG
421 CCGCGTTTCG TGCTGTGGGA GGGGAAGCTG AGGCCCGTGC CATCCAAGCC CGCCGACCTC
481 CCGTTCCTCG ATCTCATGAG CATCCCAGGG AAGCTCAGGG CCGGTCTAGG CGCGCTTGGC
541 ATCCGCCCCG CTCTCCAGG CCGCGAAGAG TCAGTGGAGG AGTTCGTGCG CCGCAACCTC
601 GGTGCTGAGG TCTTTGAGCG CCTCATTGAG CCTTTCTGCT CAGGTGTCTA TGCTGGTGAT
661 CCTTCTAAGC TCAGCATGAA GGCTGCATTT GGGGAAGGTTT GCGGTTGGA AGAACTGGA
721 GGTAGTATTA TTGGTGGAAAC CATCAAGACA ATTCAGGAGA GGAGCAAGAA TCCAAAACCA
781 CCCAGCGATG CCCGCCTTCC GAAGCCAAAA GCGCAGACAC TTCCATCTTT CAGCAAGCCT
841 CTTGCCATGC TTCCAAATGC CATTACATCC AGCTTGGGTA GTAAAGTCAA ACTATCATGG
901 AAACCTACGA GCATTACAAA ATCAGATGAC AAGGGATATG TTTTGGAGTA TGAAACGCCA
961 GAAGGGGTTG TTTCGGTGCA GGCTAAAAGT GTTATCATGA CTATTCATC ATATGTTGCT
1021 AGCAACATTT TCGTCCACT TTCAAGCGAT GCTGCAGATG CTCTATCAAG ATTCTATTAT
1081 CCACCGGTTG CTGCTGTAAC TGTTTCGTAT CCAAAGGAAG CAATTAGAAA AGAATGCTTA
1141 ATTGATGGGG AACTCCAGGG CTTTGGCCAG TTGCATCCAC GTAGTCAAGG AGTTGAGACA
1201 TTAGGAACAA TATACAGTTC CTCACTCTTT CCAAATCGTG CTCCTGACGG TAGGTTGTTA
1261 CTTCTAAACT ACATAGGAGG TGCTACAAAC ACAGGAATTG TTTCCAAGAC TGAAAGTGAG
1321 CTTGTCGAAG CAGTTGACCG TGACCTCGA AAAATGCTTA TAAATCTAC AGCAGTGGAC
1381 CCTTAGTCC TTGGTGTTCG AGTTTGGCCA CAAGCCATAC CTCAGTTCCT GGTAGGACAT
1441 CTTGATCTTC TGGAAGCCGC AAAAGCTGCC CTGGACCGAG GTGGCTACGA TGGGCTGTTT
1501 CTAGGAGGGA ACTATGTTGC AGGAGTTGCC CTGGGCAGAT GCGTTGAGGG CGCGTATGAA
1561 AGTGCCTCGC AAATATCTGA CTTCTTGACC AAGTATGCCT ACAAGTGA

```

Фиг. 12

Последовательность аминокислот митохондриальной протопорфириноген
IX оксидазы *Zea mays* (№ доступа AF273767) (SEQ ID NO: 13)

```

1 MLALTASASSASHPYRHASAHTRRPRLRAVLAMAGSDDPRAAPARSVAV
51 VGAGVSGLAAYRLRQSGVNVTVFEAADRAGGKIRTNSEGGFVWDEGANT
101 MTEGEWEASRLIDDLGLQDKQYYPNSQHKRYIVKDGAPALIPSDPISLMK
151 SSVLSTKSKIALFFEPFLYKKANTRNSGKVSEEHLSSESVGSFCERHFGRE
201 VVDYFVDPFVAGTSAGDPESLSIRHAFPALWNLERKYGSVIVGAILSKLA
251 AKGDPVKTRHDSSGKRRNRVVSFHFHGMQSLINALHNEVGDDNVKLGTE
301 VLSLACTFDGVPALGRWSISVDSKDSGDKDLASNQTFDAVIMTAPLSNVR
351 RMKFTKGAPVVLDFLPKMDYLP LSLMVTAFKKDDVKKPLEGFVLIPIYK
401 EQQKHGLKTLGLTFLSSMMFPDRAPDDQYLYTTFVGGSHNRDLAGAPTSIL
451 KQLVTSDLKKLLGVEGQPTFVKHVYWGNAFPLYGHDYSSVLEAIEKMEKN
501 LPGFFYAGNSKDGLAVGSVIASGSKAADLAI SYLESHTKHNNSH

```

Фиг. 13

Нуклеотидная последовательность митохондриальной протопорфириноген
IX оксидазы *Zea mays* (№ доступа AF273767) (SEQ ID NO: 14)

```

1   CTCTCCTACC TCCACCTCCA CGACAACAAG CAAATCCCCA TCCAGTCCA AACCCТААСТ
61  CAAATGCTCG STTTGACTGC CTCAGCSTCA TCCGCTTCGT CCCATCCTTA TCGCCACGCC
121 TCCGCGCACA CTCGTCCGCC CGGCCTACGT GCGGTCTCG CGATGGCGGG CTCCGACGAC
181 CCCCCTGCAG CGCCCGCCAG ATCGGTCCGC GTCGTCCGGC CCGGGGTCAG CCGGGCTCGG
241 GCGGCGTACA GGCTCAGACA GAGCGGCGTG AACGTAACGG TGTTCGAAGC GGCCGACAGG
301 GCGGGAGGAA AGATACGGAC CAATCCGAG GCGGGTTTG TCTGGGATGA AGGAGCTAAC
361 ACCATGACAG AAGGTGAAATG GGAGCCAGT AGACTGATTG ATGATCTTGG TCTACAAGAC
421 AAACAGCAGT ATCCTAATC CCAACACAAG CGTTACATTG TCAAAGATGG AGCACCAGCA
481 CTGATTCCTT CGGATCCCAT TTCGCTAATG AAAAGCAGTG TTCTTTCGAC AAAATCAAAG
541 ATTGCGTTAT TTTTGAACC ATTTCTCTAC AAGAAAGCTA ACACAAGAAA CTCTGGAAAA
601 GTGTCTGAGG AGCACTTGAG TGAGAGTGT GGGAGCTTCT GTGAACGCCA CTTTGGAAGA
661 GAAGTTGTTG ACTATTTTGT TGATCCATTT GTAGCTGGAA CAAGTGCAGG AGATCCAGAG
721 TCACTATCTA TTCGTATGTC ATTCCCAGCA TTGTGGAATT TGGAAAGAAA GTATGGTTCA
781 GTTATTGTTG GTGCCATCTT GTCTAAGCTA GCAGCTAAAG GTGATCCAGT AAAGACAAGA
841 CCGATTCAG CAGGAAAAG AAGGAATAGA CGAGTTCGT TTTCAATTCA TGGTGAAGT
901 CAGTCACTAA TAAATGCACT TCACAATGAA GTTGAGATG ATAATGTGAA GCTTGGTACA
961 GAAGTGTGT CATTGGCATG TACATTTGAT GGAGTTCCTG CACTAGGCAG GTGGTCAATT
1021 TCTGTGATT CGAAGGATAG CGGTGACAAG GACCTTGCTA GTAACCAAC CTTTGTGCT
1081 GTTATAATGA CAGCTCCATT GTCAAATGTC CGGAGGATGA AGTTCACCAA AGTTGGAGCT
1141 CCGGTTGTTT TTGACTTTCT TCCTAAGATG GATTATCTAC CACTATCTCT CATGGTGAAT
1201 GCTTTAAGA AGGATGATGT CAAGAAACCT CTGGAAGGAT TTGGGGTCTT AATACCTTAC
1261 AAGGAACAGC AAAAACATGG TCTGAAAACC CTTGGGACTC TCTTTTCTC AATGATGTTT
1321 CCGATTCAG CTCCTGATGA CCAATATTA TATACAACAT TTGTTGGGGG TAGCCCAAT
1381 AGAGATCTTG CTGGAGCTCC AACGTCTATT CTGAAACAAC TTGTGACCTC TGACCTTAAA
1441 AAACCTCTGG GCGTAGAGGG GCAACCAACT TTTGTCAAGC ATGTATACTG GGGAAATGCT
1501 TTTCTTTTGT ATGGCCATGA TTATAGTTCT GTATTGGAAG STATAGAAA GATGGAGAAA
1561 AACCTTCCAG GGTCTTCTA CGCAGGAAAT AGCAAGGATG GGCTTGTGT TGGAAAGTGT
1621 ATAGCTTCAG GAAGCAAGGC TGCTGACCTT GCAATCTCAT ATCTTGAATC TCACACCAAG
1681 CATAATAAT CACATTGAAA GTGTCTGACC TATCCTTAG CAGTTGTCGA CAAATTTCTC
1741 CAGTTCATGT ACAGTAGAAA CCGATGCGTT GCAGTTTCAG AACATCTTCA CTTCTTCAGA
1801 TATTAACCT TCGTTGAACA TCCACCAGAA AGGTAGTCAC ATGTGTAAGT GGGAAAATGA
1861 GGTAAAAAAC TATTATGGCG GCCGAAATGT TCCTTTTTGT TTTCTCACA AGTGGCCTAC
1921 GACACTTGAT GTTGAAATA CATTTAAT TGTGTAATG TTTGAGAACA CATGCGTGAC
1981 GTGTAATATT TGCCTATTGT GATTTTAGCA GTAGTCTTGG CCAGATTATG CTTTACGCCCT
2041 TT

```

Фиг. 14

Последовательность аминокислот предсказанной пластидной протопорфириноген
IX оксидазы *Oryza sativa* (Os01g0286600 - № доступа NM_001049312) (SEQ ID NO: 15)

```

1  MAAAAAAMATATSATAAPPLRIRDARRTRRRGHVRCASGAAEAPAAP
51  GARVSADCVVVGGGISGLCTAQLATKKGVDLVTPEARARPGGNITTAE
101 RAGEGYLWEEGPNSEFQPSDPVLTMAVDSGLKDDLVEGDPNAPRFVLWEGK
151 LRPVPSKPGDLFFDLMSIPGKLRAGLGLGVRAPPPGREESVEDFVRN
201 LGAEVFERLIEPFCSGVYAGDPSKLSMKAAFQKVVRLLEDTGGSIIIGGTIK
251 TIQERGNPKPPRDRPLRTPKQTVASFRKGLTMLPDAITSRLGSKVKLS
301 WKLTSITKSDNKGYALVYETPEGVVSQAKTVVMTIPSYVASDILRPLSS
351 DAADALSIFYPPVAAVTVSYPKAIRKECLIDGELQGFGLHPRSQGV
401 TLGTIYSSSLFPNRAPAGRVLLLNYYIGGSTNTGIVSKTESELVEAVDRDL
451 RKMLINPKAVDPLVLGVRVWPQAIQFLIGHLDHLAAKSALGKGGYDGL
501 FLGGNYVAGVALGRCEGAYESASQISDYLTKYAYK

```

Фиг. 15

Нуклеотидная последовательность предсказанной пластидной протопорфириноген IX оксидазы *Oryza sativa* (Os01g0286600 - № доступа NM_001049312) (SEQ ID NO: 16)

```

1   ATCCACTCCT CTCCAGTCTC CCGCCCGCTC CGCATCCGGC AGCCCGTCTGT CAGCGACGGA
61  CATGGCCGCC GCCGCCGCAG CCATGGCCAC CGCCACCTCC GCCACGGCAG CGCCCGCGCT
121 CCGCATTCGC GACGCCGCGA GGAGGACCCG CCGACGGCGC CACGTTCCGT GCGCCGTCGC
181 CAGCGGCGCG GCCGAGGCGC CCGCGGCGCC CGGGGCGCGG GTGTCCGGCG ACTGCGTCGT
241 GGTGGGCGGC GGATCAGCG GGCTCTGCAC CGGCAGGGC CTGGCCACAA AGCACGGCGT
301 CGGCGACGTG CTCGTACCGG AGGCCCGCGC CGCCCGCGGC GGCAACATCA CCACCGCCGA
361 GCGGCGCGGC GAGGGCTACC TCTGGGAGGA GGGGCCAAC AGCTTCCAGC GTTCCGACCC
421 CGTCCTCACC ATGGCCGTGG ACAGCGGGCT CAAGGACGAT CTCGTGTTCC GGGACCCCAA
481 CCGCCCGCGG TTCGTGCTGT GGGAGGGGAA GCTAAGGCCG GTGCCGTCCA AGCCCGCGCA
541 CCTGCCGTTT TCGACCTCA TGAGCATCCC CGGCAAGCTC AGGGCCCGGC TTGGCGCGCT
601 CCGCGTTTGA GCCCACCTC CAGGGCGTGA GGAGTCGGTG GAGGACTTCG TCGCGGCCAA
661 CCTCGGCGCG GAGGTCTTTG AGCGCCTCAT TGAGCCTTTC TGCTCAGGTG TGTATGCTGG
721 TGATCCTTCA AAGCTCAGTA TGAAGGCTGC ATTTGGGAAG GTGTGGAGGC TGGAGGATAC
781 TGGAGGTAGC ATTATTGGTG GAACCATCAA AACAATCCAG GAGAGGGGGA AAAACCCCAA
841 ACCGCCGAGG GATCCCCGCC TTCCAACGCC AAAGGGGCGC ACAGTTGCAT STTTCAGGAA
901 GGGTCTGACT ATGCTCCCGG ATGCTATTAC ATCTAGGTTG GGTAGCAAAAG TCAAACCTTC
961 ATGGAAGTTG ACAAGCATT AAGATCAGA CAACAAGGA TATGCATTAG TGTATGAAAC
1021 ACCAGAAGGG GTGGTCTCGG TGCAAGCTAA AACTGTTGTC ATGACCATCC CATCATATGT
1081 TGCTAGTGAT ATCTTGGCGC CACTTTCAAG TGATGCAGCA GATGCTCTGT CAATATTCTA
1141 TTATCCACCA GTTGTCTGTG TAATGTTTTC ATATCCAAAA GAAGCAATTA GAAAAGAATG
1201 STTAATTGAC GGAGAGCTCC AGGTTTTCGG CCAGCTGCAT CCGCGTAGTC AGGGAGTTGA
1261 GACTTTAGGA ACAATATATA GCTCATCACT STTTCCAAAT CGTGCTCCAG CTGGAAGGGT
1321 GTTACTTCTG AACTACATAG GAGGTTCTAC AAATACAGGG ATTGTTTCCA AGACTGAAAG
1381 TGAGCTGGTA GAAGCAGTTG ACCGTGACCT CAGGAAGATG CTGATAAATC CTAAGCAGT
1441 GGACCTTTG GTCCTTGGCG TCCGGGTATG GCCACAAGCC ATACCACAGT TCCTCATTGG
1501 CCATCTTGAT CATCTTGAGG CTGCAAAATC TGCCCTGGGC AAAGGTGGTT ATGATGGATT
1561 GTTCTCCTCG GGAACATATG TTGCAGGAGT TGCCCTGGGC CGATGCGTTG AAGGTGCATA
1621 TGAGAGTGCC TCACAAATAT CTGACTACTT GACCAAGTAC GCCTACAAGT GATCAAAGTT
1681 GGCCTGCTCC TTTTGGCACA TAGATGTGAG GCTTCTAGCA GCAAAAATTT CATGGGCATC
1741 TTTTATCCTT GATTCTAATT AGTTAGAATT TAGAATTGTA GAGGAATGTT CCATTTCGAG
1801 TTCATAATAG TTGTTAGAT TTCAGCCATT CAATTTGTGC AGCCATTTAC TATATGTAGT
1861 ATGATCTTGT AAGTACTACT AAGAACAAT CAATTATATT TTCTCTGC

```

Фиг. 16

Последовательность аминокислот предсказанной митохондриальной протопорфириноген IX оксидазы *Oryza sativa* (предсказанной Os04g0490000) (SEQ ID NO: 17)

```

1   MLSPATTFSSSSSSSPRAHARAPTRFAVAASARAARFRPARAMAASDD
51  PRGGRSVAVVGAGVSLAAAYRLRKRGVQVTVFEAADRAGGKIRTNSEGG
101 FIWDEGANTMTESELEASRLIDDLGLQKQYYPNSQHKRYIVKDGAPTLI
151 PSDPIALMKSTVLSTKSKLKLFLPEFLYEKSSRRTSGKVSDEHLSSEVAS
201 FFERHFGKEVVDYLIDPFVAGTSGGDPELSIRHAFPALWNLENKYGSVI
251 AGAILSKLSTKGDVKTGGASPGKGRNKRVSFSFHGGMQSLIDALHNEVG
301 DGNVKGTEVLSLACCCDGVSSSGWISVDSKDKRGLRKNQSFDAVI
351 MTAPLSNVQRMKFTKGGVPFVLDLPLKVDYLPPLSLMVTAFFKKEDVKKPLE
401 GFGALIPYKEQQKHGLKTLGTLFSSMMFPDRAPNDQYLYTSF IGSSHNRD
451 LAGAPTAILKQLVTSDLRKLGVGGQPTFVKHVHWRNAFPLYGQNYDLVL
501 EAIARKMENNLPGFFYAGNNKDLAVGNVIASGSKAADLVI SYLESCDQD
551 N

```

Фиг. 17

Нуклеотидная последовательность предсказанной
митохондриальной протопорфириноген IX оксидазы *Oryza sativa*
(предсказанной Os04g0490000) (SEQ ID NO: 18)

```

1      CGATCCGAAG GACGAACCCC GCACAAGACA ACAAGTAAAT CCCCATCCAT AGCTATCCAA
61     GAGCCCCAAA TCAGATGCTC TCTCCTGCCA CCACCTTCTC CTCTCCTCC TCCTCCTCGT
121    CGCCCGTCGC CGCCACGCT CGCGCTCCCA CCCGCTTCGC GGTGCGAGCA TCCGCGCGCG
181    CCGCACGGTT CCGCCCCGCG CGCGCCATGG CCGCTCCGA CGACCCCGC GCGGGGAGGT
241    CCGTCGCCGT CGTCGGCGCC GCGCTCAGTG GGTGCGCGC GCGGTACAGG CTGAGGAAGC
301    GCGGCGTGCA GGTGACGGTG TTCGAGGCGG CCGACAGGGC GGGTGGGAAG ATACGGACCA
361    ACTCCGAGGG CCGGTTCATC TGGGACGAAG GGGCAACAC CATGACAGAG AGTGAATTGG
421    AGGCAAGCAG GCTTATTGAC GATCTTGGCC TACAAGGCAA ACAGCAGTAT CCTAACTCAC
481    AACACAAGCG TTACATTGTC AAAGATGGAG CACCAACACT GATTCCTCA GATCCCATTG
541    CGCTCATGAA AAGCACTGTT CTTTCTACAA AATCAAAGCT CAAGCTATTT CTGGAACCAT
601    TTCTCTATGA GAAATCTAGC AGAAGGACCT CCGGAAAAAG TCTGATGAA CATTAAAGTG
661    AGAGTGTTCG AAGTTTCTTT GAACGCCACT TTGGAAAAGA GGTGTTGAT TATCTTATTG
721    ATCCATTTGT GGCTGGAACA AGCGGAGGAG ATCCTGAGTC ATTATCAATT CGTCATGCAT
781    TTCCAGCATT ATGGAATTTG GAGAATAAGT ATGGCTCTGT CATTGCTGGT GCCATCTTGT
841    CCAAACTATC CACTAAGGGT GATTCAGTGA AGACAGGAGG TGCTTCGCA GGGAAAGGAA
901    GGAATAAACG TGTGTCATTT TCATTTTCATG GTGGAATGCA GTCACATAA GATGCACTTC
961    ACAATGAAGT TGGAGATGGT AACGTGAAGC TTGTTACAGA AGTGTGTC A TTGGCATGTT
1021   GCTGTGATGG AGTCTCTTCT TCTGGTGGTT GGTCAATTTT TGTGATTA AAAGATGCTA
1081   AAGGGAAGA TCTCAGAAAG AACCAATCTT TCGATGCTGT TATAATGAT CCTCCATTGT
1141   СТААТГТССА GAGGATGAAG TTTACAAAAG GTGGAGTTCC CTTTGTGCTA GACTTTCTTC
1201   СТААГГТССА TTATCTACCA STATCTCTCA TGTAACAGC TTTTAAAGAG GAAGATGCTA
1261   АААААССАТТ GGAAGGATTT GGTGCCTTGA TACCCTATAA GGAACAGCAA AAGCATGGTC
1321   ТСААААСССТ TGGGACCCCT TTCTCCTCGA TGATGTTTCC AGATCGAGCT CCTAATGATC
1381   ААТАТСТАТА ТАСАТСТТТ АТТГГГГГГА GCCATAАТАG АGACCTCGCT GGGGCTCCAA
1441   CGGCTATTCT GAAACAАСТT GTGACCTCTG ACCTAAGAAA GCTCTTGGGT GTTGAGGGAC
1501   AACCTACTTT TGTGAAGCAT GTACATTGGA GAAATGCTTT TCCTTTATAT GGCAGAAATT
1561   ATGATCTGGT ACTGGAAGCT АТАGСААААА TGGAGAАСАА TCTTCCAGGG TTCTTTTACG
1621   САGGAААТАА САAGGATGGG TTGGCTGTTG GAAATGTTAT АGCTTCAGGA АGCAAGGCTG
1681   СТGACCTTGT GATCTCTTAT CTTGAATCTT GCACAGATCA GGACAATTAG CATTAAAGGT
1741   ATCTGACCTT AAGCAATTTT АGACAААТТТ GCTCACTTTA TGTAAATTGA AAAGGTTСAC
1801   ATGATTTCCA GTTTCAATTT TTTCTTTGCT TATAGTATAT CCACTCATGT AAAGATGGGA
1861   АСАТАGТССТ ААААGACATT АТGGТCGCTT GAGATGCTCA TGTTTTTTTG AACAGTGATT
1921   СТTGACTTGT АСТАТТТТТТ GACAACCAAA TAAATTTCTC AATGTTTCCG AG

```

Фиг. 18

Последовательность аминокислот пластидной протопорфириноген
IX оксидазы *Sorghum bicolor* (Sb03g011670 - № доступа XM_002455439)
(SEQ ID NO: 19)

```

1      MLSPATTFSSSSSSSPSRAHARAPTRFAVAASARAARFRPARAMAASDD
51     PRGGRSVAVVGAGVSGLAAYRLRKRGVQVTVEAADRAGGKIRTNSEGG
101    FIWDEGANTMTESELEASRLIDDLGLQGKQYPNQHKRYIVKDGAPTLI
151    PSDPIALMKSTVLSTKSKLKLFLPEFLYEKSSRRTSGKVSDEHLSVAS
201    FFERHFGKEVDYLIDPFVAGTSGGDPELSIRHAFPALWNLENKYGSVI
251    AGAILSKLSTKGDVKTGGASPGKGRNKRVSFHFHGGMQSLIDALHNEVG
301    DGNVKGTEVLSLACCCDGVSSSGWSISVDSKDAKGDLRKNQSFDAVI
351    MTAPLSNVQRMKFTKGGVPFVLDLFLPKVDYLP LSLMVTAFFKEDVKKPLE
401    GFGALIPYKEQQKHGLKLTGLTFSSMMFPDRAPNDQYLYTSF IGGSHNRD
451    LAGAPTAILKQLVTSDLRKL LGVEGQPTFVKHVHWRNAFPLYGQNYDLVL
501    EAIAKMENNLPGFFYAGNNKDG LAVGNVIASGSKAADLVISYLESCDQD
551    N

```

Фиг. 19

Нуклеотидная последовательность пластидной протопорфириноген
IX оксидазы *Sorghum bicolor* (Sb03g011670 - № доступа XM_002455439)
(SEQ ID NO: 20)

```

1  ATGGTCGCCG CCGCCGCCAT GGCACCGCT GCATCGGCGG CCGCGCCGCT ACTCAACGGG
61  ACCCGAAGGC CTGCGAGGCT CCGCCGTCGC GGAATCCGCG TGCGCTGCGC CGCTGTGGCG
121  GGGCGCGCGG CCGAGGCACC GGCCTCCACC GCGCGCGCGC TGTCCGCGGA CTGCGTCTGT
181  GTGGGCGGCG GGATCAGTGG CCTCTGCACC GCGCAGGCGC TGGCCACGCG GCACGGCGTC
241  GGGGAGGTGC TTGTCACGGA GGCCCGCGCC CGACCCGCGG GCAACATCAC CACCGTCGAG
301  CGCCCCGAGG AAGGGTACCT CTGGGAGGAG GGTCCCAACA GCTTCCAGCC ATCCGACCCC
361  GTTCTCTCCA TGGCCGTGGA CAGCGGGCTG AAGGATGACC TGGTTTTTGG GGATCCCAAC
421  GCGCCGCGGT TCGTGTGTG GGAGGGGAAG CTGAGGCCCG TGCCATCCAA GCCCGCCGAC
481  CTCGGTTTCT TCGATCTCAT GAGCATCCCT GGCAAGTCA GGGCCGGTCT CGGCGCGCTT
541  GGCATCCGCC CGCCTCCTCC AGGCCCGCAG GAGTCAGTGG AGGAGTTTGT GCGCCGCAAC
601  CTCGGTGTG AGGTCTTTGA GCGCTAATT GAGCCTTCT GCTCAGGTG CTATGCTGTT
661  GATCCTTCCA AGCTCAGTAT GAAGGCTGCA TTTGGGAAGG TGTGGCGGTT AGAAGAAGCT
721  GGAGGTAGTA TTATTGGTGG AACCATCAAG ACGATTGAGG AGAGAGGCAA GAATCCAAAA
781  CCACCGAGGG ATCCCCGCCT TCCGAAGCCA AAAGGGCAGA CAGTTGCATC TTTCAGGAAG
841  GGTCTTGCCA TGCTTCCAAA TGCCATCACA TCCAGTTGG GTAGTAAAGT CAAACTATCA
901  TGGAAACTCA CGAGCATTAC AAAATCAGAT GGCAAGGGGT ATGTTTTGGA GTATGAAACA
961  CCAGAAGGGG TTGTTTTGGT GCAGGCTAAA AGTGTATCA TGACCATTCC ATCATATGTT
1021  GCTAGCGACA TTTTGCCTCC ACTTTCAGGT GATGCTGCAG ATGCTCTATC AAGATTCTAT
1081  TATCCACCAG TTGCTGCTGT AACGGTTTCG TATCCAAAGG AAGCAATTAG AAAAGAATGC
1141  TTAATTGATG GGGAACTCCA GGGTTTTGGC CAGTTGCATC CACGTAGTCA AGGAGTTGAG
1201  ACATTAGGAA CAATATACAG CTCATCACTC TTCCAAATC GTGCTCCTGC TGGTAGGGTG
1261  TTACTTCTAA ACTACATAGG AGGTGCTACA AACACAGGAA TTGTTTCCAA GACTGAAAGT
1321  GAGCTGGTAG AAGCAGTTGA CCGTGACCTC CGAAAAATGC TTATAAATC CACAGCAGT
1381  GACCTTTTAG TCCTTGGTGT CCGAGTTTGG CCACAAGCCA TACCTCAGTT TCTGGTAGGA
1441  CATCTTGATC TTCTGGAGGT CGCAAAATCT GCCCTGGACC AAGGTGGCTA TGATGGGCTG
1501  TTCSTAGGAG GGAACATATG TGCAGGAGTT GCCCTGGGCA GATGCATTGA GGGCGCATAT
1561  GAGAGTCCCG CACAAATATA TGACTTCTTG ACCAAGTATG CCTACAAGTG ATGGAAGAAG
1621  TGGAGCGCGT CTTGTTAATT GTTATGTTGC ATAGATGAGG TGAGACCAGG AGTAGTAAAA
1681  GGCATTACGA GTATTTTTCA TTCTTATTTT GTAAATTGCA CTTCTGTTTT TTTTCTCTGT
1741  CAGTAATTAG TTAGATTTTA GTTCTGTAGG AGATTGTTGT GTTCACTGCC CTGCAAAAGA
1801  ATTTTTATTT TGCATTCGTT TATGAGAGCT GTGCAGACTT ATGTAACGTT TTA CTGTAAG
1861  TATCAACAAA ATCAGATACT ATTCTGCAAG AGCTAACAGA ATGTGCAACT GAGATTGCCT
1921  TG

```

Фиг. 20

Последовательность аминокислот митохондриальной
протопорфириноген IX оксидазы *Sorghum bicolor*
(Sb06g020950 - № доступа XM_002446665) (SEQ ID NO: 21)

```

1  MLARTATVSSSTSSHSPYRPTSARSLRRLRPVLAMAGSDDSRAPARSVAV
51  VGAGVSGLVAAAYRLRKSGVNVTVFEAADRAGGKIRTNSEGGFLWDEGANT
101  MTEGELEASRLIDDLGLQDKQYQPNQHKRYIVKDGAPALIPSDPISLMK
151  SSVLSTKSKIALFFEPFLYKCANTRNPGKVSDEHLSVSGSFFERHFHGRE
201  VVDYLIDPFVAGTSAGDPESLSICHAFPALWNLERKYGSVVVGAILSKLT
251  AKGDPVKTRRDSASAKRRNRVSFSFHGGMQSLINALHNEVGDDNVKLGTE
301  VLSLACTLDGAPAPGGWSISDDSKDASGKDLAKNQTFDAVIMTAPLSNVQ
351  RMKFTKGGAPFVLDLFLPKVDYLP LSLMVTAFFKKEDVKKPLEGFGVLIPIYK
401  EQQKHGLKTLGTLFSSMMFPDRAPDDQYLYTTFVGGSHNRDLAGAPTSIL
451  KQLVTSDLKLLGVQGPFTFVKHIYWGNAFPLYGHDYNSVLEAIEKMEKN
501  LPGFFYAGNNKDGLAVGSVIASGSKAADLAISYLESHTKHNHLH

```

Фиг. 21

Нуклеотидная последовательность митохондриальной
протопорфириноген IX оксидазы *Sorghum bicolor*
(Sb06g020950 - № доступа XM_002446665) (SEQ ID NO: 22)

```

1  ATGCTCGCTC  GGACTGCCAC  GGTCTCCTCC  ACTTCGTCCC  ACTCCCATCC  TTATCGCCCC
61  ACCTCCGCTC  GCAGTCTCCG  CCTACGTCGG  GTCCTCGCGA  TGGCGGGCTC  CGACGACTCC
121  CGCGCAGCTC  CCGCCAGGTC  GGTCCGCCGT  GTCGGCGCCG  GGGTCAGCGG  GCTCGTGGCG
181  GCGTACAGGC  TCAGGAAGAG  CGGCGTGAAT  GTGACGGTGT  TCGAGGCGGC  CGACAGGGCG
241  GGAGGAAAGA  TACGGACCAA  TTCCGAGGGC  GGGTTTCTCT  GGGATGAAGG  AGCGAACACC
301  ATGACAGAAG  GTGAATTGGA  GGCCAGTAGA  CTGATAGATG  ATCTCGGTCT  ACAAGACAAA
361  CAGCAGTATC  CTAACCTCCA  ACACAAGCGT  TACATTGTCA  AAGATGGAGC  ACCAGCACTG
421  ATTCCCTCCG  ATCCCATTTC  GCTGATGAAA  AGCAGTGTTT  TTTCTACAAA  ATCAAAGATT
481  GCGTTATTTT  TTGAACCATT  TCTCTACAAG  AAAGCTAACA  CAAGAAACCC  TGGAAAAGTA
541  TCTGATGAGC  ATTTGAGTGA  GAGTGTGGG  AGCTTCTTTG  AACGCCACTT  CGGAAGAGAA
601  CAGCTTACT  ATCTTATTGA  TCCATTTGTA  GCTGGAACAA  GTGCAGGAGA  TCCAGAGTCA
661  СТАТСТАТТ  GTСATGCАТТ  СССAGСACTG  TGGААТТТGG  ААAGААААТА  TGGТТСAGТТ
721  GTTGTGGTG  CCATCTTGTC  TAAGCTAACA  GCTAAAGGTG  ATCCAGTAAA  GACAAGACGT
781  GATTCATCAG  CGAAAAGAAG  GAATAGACGC  GTGTCGTTTT  CATTTCATGG  TGGAAATGCAG
841  TCACТААТА  АТGСACTTСA  СААТGАAGТТ  GGAGATGATA  АТGTGАAGСТ  TGGTACAGAA
901  GTGTTGTСAT  TGGCGTGTAC  АТTAGATGGA  GСCCСТGСAC  СAGGСGGGTG  GTСААТТТCT
961  GATGATTCGA  AGGATGCTAG  TGGCAAGGAC  CTTGCTAAAA  ACCAAACCTT  TGATGCTGTT
1021  АТААТGACAG  СТССАТТGТC  АААТGТССAG  AGGATGAAGT  TCACAAAAGG  TGGAGCTCCT
1081  TTTGTТGACT  АСТТТСТТС  ТAAGGTGGAT  ТATCTACCAC  ТATCTCTCAT  GGTGACTGCT
1141  ТТТАGАAGG  АAGATGTСAA  GAAACCTCTG  GAAGGATTTG  GCGTCTTAAT  ACCCTACAAG
1201  GAACAGCAAA  AACATGGTCT  AAAAACCTT  GGGACTCTCT  TCTCCTCAAT  GATGTTCCCA
1261  GATCGAGCTC  CTGACGACCA  ATATTTATAT  ACAACATTTG  TTGGGGGTAG  CCACAATAGA
1321  GACTTТGCTG  GAGCTCCAAC  GTCTATTCTG  AAACAАCTTG  TGACCTCTGA  ССТТААGAAA
1381  СТСТTAGGCG  TACAGGGGCA  ACCAАCTTT  GTCAAGCATA  TATACTGGGG  АААТGСТТТТ
1441  ССТТТGТATG  GTСATGATTA  СААТТCTGTA  TTGGAGCTA  TAGAAAAGAT  GGAGAAAAAT
1501  СТТСAGGGT  ТСТТСACGC  AGGAAATAAC  AAGGATGGGC  TTGCTGTTGG  GAGTGTТATA
1561  СТТСAGGAA  GСAAGGCTGС  TGACCTTGCA  АТСТСGTATC  TTGAATCTCA  САССAAGCAT
1621  ААТААТТТАС  АТТGA

```

Фиг. 22

Последовательность аминокислот пластидной протопорфириноген
IX оксидазы *Ricinus communis* (Rc1343150 - № доступа XM_002515127)
(SEQ ID NO: 23)

```

1  MANLADFSLFLRSTPSLVPSPYKTTINRTLKQLRCSITEQSTTTISPGG
51  NSQSPADCVIVGGGISGLCIAQALSTKHRDIATNVIVTEARDRVGGNITT
101  IERDGYLWEEGPNSFQPSDPMLTMVDSGLKDDLVLGDPNAPRFVLWNGK
151  LRPVPSKPTDLFFFDLMSFGGKIRAGFGALGLRPPPGHEESVEEFVRRN
201  LGDEVFERLIEPFCSGVYAGDPSKLSMKAAFGRVWKLEQIGGSVIGGTFK
251  TIQERNKIPKPPRPDRLPTPKGQTVGSFRKGLIMLPDAIAKRLGSNVKLS
301  WKLSSITKLENGGYSLTFETPDGSVSLQTKSVMTVP SHIASSFLHPLSA
351  AAADALSKFYYPVAAVSVSPKDAIRAЕCLIDGELKGFQGLHPRSQGVЕ
401  TLGTIYSSSLFPNAPAGRILLNLIYGGATNPGILSKTETELVEAVDRDL
451  RKMLIKPNAKDPFVLGVRVWPQAIPQFLVGHLDILDSAKGALGDAGLEGL
501  FLGGNYVSGVALGRСVEGAYEVAАEVTNFLSQNAYK

```

Фиг. 23

Нуклеотидная последовательность пластидной протопорфириноген
IX оксидазы *Ricinus communis* (Rc1343150 - № доступа XM_002515127)
(SEQ ID NO: 24)

```

1  CACCACCTGA GTTACAGAAG AGTCATCCGG TGTGATTGCC TCTCGAATTC GAATTCTGCC
61  ATGGCCAATC TCGCAGACTT CTCTCTTTT CTCCGGTCAA CACCCTCCCT TGTCCCCTCC
121 TATCCGAAAA CCACAATCAA CAGAACGTTA AACTCCAAC TCCGGTGCCT AATCACAGAG
181 CAATCGACTA CTACAATTTT CCTGGCGGGA AATCCCAAT CACCAGCGGA TTGCGTGATT
241 GTAGGAGGCG GAATTAGCGG CCTATGCATC GCCCAAGCTC TCTCTACCAA GCACCGTGAT
301 ATAGCTACCA ATGTGATTGT CACTGAGGCC AGAGACCGCG TTGGTGGCAA CATCACAAAC
361 ATCGAAAGAG ACGGTTATCT TTGGGAAGAG GCCCCAATA GTTCCAGCC CTCCGATCCT
421 ATGCTAACCA TGGTGGTGGA TAGTGGGTTA AAAGATGATT TAGTTTTGGG AGATCCTAAT
481 GCGCCTCGTT TTGTGCTCTG GAATGGGAAA TTGAGACCAG TTCCGTCAA GCCTACTGAC
541 TTGCCCTTTT TTGACTTGAT GAGCTTTGGT GGAAAAATA GAGCTGGATT TGGTGTCTTT
601 GGACTTCGAC STCCACCACC AGGACATGAG GAGTCAGTTG AAGAGTTTGT CCGGCGTAAT
661 CTTGGTGATG AAGTTTTTGA GCGCTAATC GAGCCCTTTT GTTCAGGTGT TTATGCAAGT
721 GATCCTTCAA AACTAAGCAT GAAAGCAGCA TTTGAAAAAG TTTGGAAGCT GGAGCAAATT
781 GGTGGCAGTG TCATTGGCGG CACTTTCAA ACAATTCAGG AGAGAAATAA GATACCCAAG
841 CCTCCTCGAG ACCCGCGCTT ACCAACACCG AAGGGTCAA CAGTAGGATC TTTTAGAAG
901 GGACTTATCA TGTTCCTGTA TGGGATTGCC AAAAGTTGG GTAGCAATGT TAAATTGTCT
961 TGGAAGCTTT CAAGTATTAC TAAATTGGAA AATGGAGGTT ATAGTCTAAC ATTTGAAACA
1021 CCTGATGGGT CAGTTTCGCT GCAAACGAAA AGTGTGTGTA TGACAGTTCC ATCCCACATT
1081 GCAAGCAGCT TCTTACATCC TCTTCTGCT GCTGCTGCTG ACGCCCTATC AAAATTTTAT
1141 TACCCGCCAG TTGCAGCAGT GTCAGTTTCA TACCCAAAAG ATGCAATTCG GGCAGAAATG
1201 TTAATAGATG GTGAGCTTAA GGGGTTCCGG CAGTTGCATC CACGGAGCCA AGGGGTAGAA
1261 ACATTAGGAA CTATATACAG CTCCTCACTT TTCCCAATC GTGCACCAGC AGGAAGGATT
1321 TTGCTCTTGA ACTACATTGG AGGGGCGACC AATCCTGGGA TTTTGTCAA GACGGAAACT
1381 GAACTTGTAG AGGCAGTTGA CCGTGATTG AGGAAGATGC TCATAAAACC CAATGCCAAG
1441 GATCCATTTG TTCTAGGTGT GCGAGTGTGG CCCCAAGCCA TTCCACAATT CTGGTTGGT
1501 CATTTAGATA TCCTAGATAG TGCAAAAGGT GCTCTGGGAG ATGCAGGCTT GGAAGGCTG
1561 TTTCTTGGGG GCAACTATGT ATCAGGCGTT GCTTTGGGCC GATGTGTGGA AGGAGCATAT
1621 GAAGTTGCAG CAGAGGTGAC CAATTCCTC TCGCAGAATG CTTATAAATG A

```

Фиг. 24

Последовательность аминокислот митохондриальной
протопорфириноген IX оксидазы *Ricinus communis*
(Rc1678480 - № доступа XM_002509502) (SEQ ID NO: 25)

```

1  MSSVIKEDRNPSHVKRVAVVGAGVSLAAAYKLLKSHGLKVTVFEEERAG
51  GKLRSVNHDGLIWDEGANTMTESEMEVKSLIGNLGIRESKQQFPISQNKRY
101 IVRNGKPILIPNPIALITSNILSAQSKFQIILEPFLWKKRESSETHNAY
151 TEESVGEFFQRHFGKEVVVDYLIDPFVAGTSAGDPESLSVCHSFPELWNLE
201 KRFGSIIAGVVQAKLSTKRKGSQETRGSSVKKKQQRGSFSSFQGMQTLTD
251 TLCKALAKDELRLSEKVFSLSYNPDSKSAVENWSLSYAFKGAHKLQSSY
301 DAIVMTAPLCNVKEMKITKRNIFSLNFLPEVSYMPLSVVITTFKKNVK
351 SPLEGFVLPVPSKEQQNGLKTLGTLFSSMMFPDRAPNDLYLTTFFVGGSR
401 NKEKAKASTDDLKQIVTSDLRQLLGAEGEPTFVNHFYWSKAFFLYGRNYD
451 AVLEAIDTMEKDLPGFFYAGNHKGLSVGKAIASGCKAADLVISYLESSS
501 DDKMLKEGPN

```

Фиг. 25

Нуклеотидная последовательность митохондриальной протопорфириноген IX оксидазы *Ricinus communis* (Rc1678480 - № доступа XM_002509502) (SEQ ID NO: 26)

```

1   ATGTCTTCAG TTATCAAAGA AGACAGAAAC CCAAGTCATG TTTAAAAGAGT AGCTGTGTGA
61  GGTGCTGGGG TTAGTGGGCT TGCTGCAGCT TACAAACTGA AATCACATGG CTTGAAAGTT
121 ACAGTATTTG AAGCTGAAGA AAGAGCTGGA GGAAGCTGA GAAGCGTTAA CCATGATGGT
181 TTAATTTGGG ATGAAGGTGC AAATACCATG ACTGAGAGTG AAATGGAGGT CAAAAGTTTA
241 ATTGGCAATC TTGGGATTCG TGAAGGCAA CAATTTCCGA TTTACAGAA CAAAAGGTAT
301 ATTGTAAGAA ATGGGAAGCC AATATTAATA CCCACAAATC CCATCCGACT GATCACCAGC
361 AACATTCTCT CTGCACAGTC AAAGTTTCAA ATCATTCTGG AGCCATTTT GTGGAAGAAA
421 CGTGAATCTT CAGAAACGCA CAATGCTTAT ACTGAGGAAA GTGTTGGTGA GTTTTTCCAA
481 CGTCATTTTG GTAAAGAGGT TGTGATTAT CTTATTGACC CTTTGTGTC GGGCACTAGT
541 GCTGGAGATC CTGAATCTCT TTCTGTATGC CATTCTTTTC CAGAGCTATG GAATCTGGAG
601 AAACGATTTG GATCTATTAT AGCTGGGGTA GTTCAGGCAA AATTATCTAC CAAAAGAGGG
661 AAGAGCCAAG AAACCAAAGG ATCATCGGTA AAGAAGAAGC AGCAGCGTGG TTCATTCTCT
721 TTTTGTGGTG GAATGCAGAC GCTAACTGAT ACATTGTGCA AAGCACTTGC GAAGGATGAG
781 CTTAGATTAG AATCAAAGGT CTTCTCTTTG TCTTACAATC CTGATTCTAA GTCAGCAGTA
841 GAGAATTGGT CACTTTCTTA TGCTTTTAAAG GGCGCCAAGC ATTTGCAAAA CTCATCTTAT
901 GATGCTATTG TCATGACGGC ACCATTGTGC AATGTTAAAG AAATGAAGAT CACAAAAAAC
961 AGAAATATCT TTTCACTGAA TTTTCTCCT GAGGTGAGTT ATATGCCCTC ATCAGTTGTT
1021 ATTACCACTT TTAAGAAGGA TAATGTCAAG AGCCCCCTTG AAGGCTTTGG AGTTCCTTGT
1081 CCTTCTAAGG AGCAACAGAA TGGTCTAAAA ACCCTTGGTA CACTCTTTTC CTCTATGATG
1141 TTTCCAGATC GTGCACCCAA TGATCTGTAT CTCTATACAA CCTTTGTTGG AGGGAGTCGA
1201 AACAAAGAAC TGGCAAAAAG TCAACGGAT GATCTGAAGC AGATTGTTAC CTCGACCTT
1261 AGGCAATTGC TAGGAGCAGA AGCGGAGCCC ACATTTGTTA ATCATTCTTA CTGGAGTAAA
1321 GCATTTCCAT TATATGGGAG GAACTATGAT GCAGTACTTG AAGCCATTGA TACGATGGAA
1381 AAAGATCTTC CTGGATTCTT CTATGCAGGT AACCAAAAAG GTGGACTATC GGTGGCAAA
1441 GCAATAGCCT CTGGATGCAA AGCAGCTGAT CTTGTAATAT CCTATTTGGA ATCTTCTTCA
1501 GATGACAAGA TGCTGAAGGA AGGGCCATCA AATTAG

```

Фиг. 26

Последовательность аминокислот митохондриальной протопорфириноген IX оксидазы *Solanum tuberosum* (SEQ ID NO: 27)

```

MAPSAGEDKQNCPKRVAVIGAGVSGLAAYKLIKHLXVTVFEAEGRAGGKLRSLSDGXIWDEGANTMTESEGDVTFLLDSLGLREKQQFPLSQNK
RYIARNGTPTLIPSNPIDLIKSNFLSTGSKLQMLFEPDLLWKNKLTQVSDHEHESVSGFFQRHFQKVEVDYLIDPFVAGTCGGDPDLSMLHSPFELW
NLEKRFGSVIVGAIRSKLSPIKEKQPPKTSVNNKRQRGSFSLGGMQTLTDAICKDLKEDELRLNSRVLELSCSGSDAIDSWSIFASPHKRQ
AEEESFDAVIMTAPLCDVKGMKIAKRGPNFLNFIPVDVYVPLSVVITTFKESVKHPLGEGVLPVPSXEQKHGLKLTGLTFSSMMFPDRAPNNVYL
YTTFVGGSRNRELAKASRTELKEIVTSDLKQLLGAEGEPTYVNVHCWSKAFPLYGHNYDSVLDALDKMEKNLPGLFYAGNHKGLSVGKALSSGCNA
ADLVISYLEAVSTDXKNHS

```

Фиг. 27

Нуклеотидная последовательность митохондриальной протопорфириноген IX оксидазы *Solanum tuberosum* (№ доступа AJ225108) (SEQ ID NO: 28)

```

ATGGCTCCATCTGCCGGAGAAGATAAAACAAAATGTCCMAAGAGAGTTGCAGTCATTGGTGCTGGCGTCACTGGACTTGGTGCAGCATAACAAG
TTGAAAATYCATGGSTTGRATGTCACAGTATTYGAAGCAGAAGGGAGAGCTGGAGGGAAAGTTACGAAAGCCTGAGTCAAGATGGSMATAATAGG
GATGAAGGGCCAAATACTATGACTGAAAGTGAAGGTGATGTCACATTTTTGCTTGATTGCTGTTGACTCCGAGAAAAARCAACAATTTCCACTT
TCACAGAAACAARCGCTACATTGCCAGAAAATGGYACTCCTACTCTGATACCTTCAAAATCCAATTGACCTGATCAAAAAGCAATTTCTTTCCACT
GGATCAAAAGCTCAGATGCTTTTGGAGCCACTTTTGTGGAAAGATAAWAAGCTTACAAAAGGTGTCTGACGAAACACGAAAGTGTGAGTGGATTC
TTCCAGCGTCATTTTGGRAAGGAGGTTGTTGACTATCTAATTTGAYCSTTTTGTGCTGGAACATGTGGTGGTATCCTGACTCGCTTTCAATG
CACSTTTTCCGTTTCCAGAGTTTGTGGAATTTAGAGAAAAGGTTTGGCTCAGTCATAGTTGGGGCAATTCGATCCTCAAGTTATCACTATAAAGGAA
AAGAACAAGGGCCACCCAAAACCTTCAGTAAATAAGAGCGCCAGCGGGGCTCCTTTTCATTTTGGGGCAATGCAAAACACTTACTGACGCA
ATATGCAAAAGATCTCAAAAGAGATGAACTTAGGCTAAACTCTAGAGTTCTGGAATTTATCTTGTAGCTGTAGTGGGGACTCTGGCATAGATAGC
TGGTCAATTTTTTCTGCCTCACCACACAAGCGGCAAGCAGAAGAAGATCATTGTAGCTGTAATATGACGGCCCTCTCTGTGACGTTAAG
AGTATGAAGATTGCTAAGAGAGAAAATCCATTTCTGCTCAACTTTATCTCAGGTYGATTATGACCACTATCTGTTTATAACCACATTT
AAGAAGGAGAGTGTAAGACATCCYCTTGGGTTTTGGAGTCTGTTGACCTTCCSAGGAGCAAAAACATGTTGCTGAAGACAYTAGGCACCCTC
TTCTCTTCTATGATGTTTCCAGATCGTGCACCCAAACAATGTCTATCTATACATTTGTTGGTGAAGCCGAAATAGAGAACYGCGAAA
GCCTCGAGGACTGAGCTGAAGAGATAGTAACTTCTGACCTTAAGCAGTTGTTGGGTGCTGAGGGAGAGCCAACATATGTAATCATGATGTC
TGGAGTAAAGCATTTCCGTTGTACGGGCATAACTATGATTCAGTMCCTGCATGCAATTGACAAAATGGAGAAAATCTCTCTGGATTATCTTAT
GCAGGTAACCACAAGGGAGGATTTGTCAGTTGGCAAAGCACTATCTTCTGGATGTAATGCAGCAGATCTTGTATATCATATCTTGAAGCCGTT
TCAACGGACWCCAAAACCATAGCTGA

```

Фиг. 28

Последовательность аминокислот митохондриальной протопорфириноген IX оксидазы *Solanum tuberosum* StmPPX2.1 (SEQ ID NO: 29)

```

1   MAPSAGEDKQ NCPKRVAVIG AGVSGLAAY KLIKHLVDVT VFEAEGRAGG
51  KLRSLSDGL IWDEGANTMT ESEGDVTFLL DSLGLREKQQ FPLSQNKRYI
101 ARNGTPTLIP SNPIDLIKSN FLSTGSKLQM LFEPLLWKNK KLTQVSDHEH
151 SVSGFFQRHF GKEVDYLDID PFVAGTCGGD PDSLSMHLSP PELWLNLEKRF
201 GSVIVGAIRS KLSPIKEKQ GPPKTSVNNK RQRGSFSLG GMQTLDAIC
251 NDLKEDELRL NSRVLELSCS CSGDSATDSW SIFASPHKR QAEEDSFDAV
301 IMTAPLCDVK GMKIAKRGPN FLNFIPEVD YVPLSVVIT FKKESVKHPL
351 EGFVLPVSE EQKHGLKTLG TLFSSMMFPD RAPNNVLYT FTVGGSRNE
401 LAKASRTELK EIVTSDLKQL LGAEGEPTYV NVHCWSKAFP LYGHNYDSVL
451 DAIDKMEKNL PGLFYAGNHK GGLSVGKALS SGCNAADLVI SYLEAVSTDT
501 KNHR

```

Фиг. 29

Нуклеотидная последовательность митохондриальной протопорфириноген
IX оксидазы *Solanum tuberosum* StmPPX2.1. (SEQ ID NO: 30)

```

1      ATGGCTCCAT CTGCCGGAGA AGATAAACAA AATTGTCCCA AGAGAGTTGC AGTCATTGGT
61     GCTGGCGTCA GTGGACTTGC TGCAGCATAC AAGTTGAAAA TTCATGGCTT GGATGTCACA
121    GTATTCGAAG CAGAAGGGAG AGCTGGAGGG AAGTTACGAA GCCTGAGTCA AGATGGCCTA
181    ATATGGGATG AAGGCCGAAA TACTATGACT GAAAGTGAAG GTGATGTCAC ATTTTTGCTT
241    GATTCGCTTG GACTCCGAGA AAAACAACAA TTTCCACTTT CACAGAACAA GCGCTACATT
301    GCCAGAAATG GТАCTCCTAC TCTGATACCT TCAAATCCAA TTGACCTGAT CAAAAGCAAT
361    TTTCTTTCCA CTGGATCAAA GCTTCAGATG CTTTTCGAGC CACTTTTGTG GAAGAATAAA
421    AAGCTTACAA AGGTGTCTGA CGAACACGAA AGTGTCACTG GATTCTTCCA GCGTCATTTT
481    GGAAAGGAGG TTGTTGACTA TCTAATTGAT CCTTTTGTG CTGGAACATG TGGTGGTGAT
541    CCTGACTCGC TTTCAATGCA CCTTTCGTTT CCAGAGTTGT GGAATTTAGA GAAAAGGTTT
601    GGCTCAGTCA TAGTTGGGGC AATTCGATCC AAGTTATCAC CTATAAAGGA AAAGAACAAC
661    GGACCACCCA AAACCTCAGT AAATAAGAAG CGCCAGCGGG GGTCTTTTTC ATTTTTGGGC
721    GGAATGCAAA CACTTACTGA CGCAATATGC AATGATCTCA AAGAAGATGA ACTTAGGCTA
781    AACTCTAGAG TTCTGGAATT ATCTTGTAGC TGTAGTGGGG ACTCTGCCAC AGATAGCTGG
841    TCAATTTTTT CTGCCTCACC ACACAAGCGG CAAGCAGAAG AAGATTCAAT TGATGCTGTA
901    ATTATGACGG CCCCTCTCTG TGACGTAAAG GGTATGAAGA TTGCTAAGAG AGGAAATCCA
961    TTTCTGTCTA ACTTTTATCC TGAGGTTGAT TATGTACCAC TATCTGTTGT TATAACCACA
1021   TTTAAGAAGG AGAGTGTAAG GCATCCTCTT GAGGGTTTTG GAGTGCTTGT ACCTTCCGAG
1081   GAGCAAAAAC ATGGTCTGAA GACATTAGGC ACCCTCTTCT CTTCTATGAT GTTTCAGAT
1141   CGTGCACCCA ACAATGTCTA TCTCTATACT ACATTTGTTG GTGGAAGCCG AAATAGAGAA
1201   CTCGCGAAAG CCTCGAGGAC TGAGCTGAAA GAGATAGTAA CTTCTGACCT TAAGCAGTTG
1261   TTGGGTGCTG AGGGAGAGCC AACATATGTG AATCATGTAT GCTGGAGTAA AGCATTTCGG
1321   TTGTACGGGC ATAACATGTA TTCAGTCTCTC GATGCAATTG ACAAATGGA GAAAATCTT
1381   CCTGGATTAT TCTATGCAGG TAACCACAAG GGAGGATTGT CAGTTGGCAA AGCACTATCT
1441   TCTGGATGTA ATGCAGCAGA TCTTGTATA TCATATCTTG AAGCCGTTTC AACGGACACC
1501   AAAAACATA GGTGAAATCT ATTCTCTCAT GCAGCTTGCC GTTCTTTGTT CCACAAAATC
1561   GTTAACTTC ATGACGAGGA GCAACTTAA CGTGCAGCCA GTGACGCA

```

Фиг. 30

Последовательность аминокислот митохондриальной протопорфириноген
IX оксидазы *Solanum tuberosum* StmPPX2.2 (SEQ ID NO: 31)

```

1      MAPSAGEDKQ NCPKRVAVIG AGVSGLAAAY KLKIHGLDVT VFEAEGRAGG
51     KLRSLSDQGL IWDEGANTMT ESEGDVTFLL DSLGLREKQQ FPLSQNKRFI
101    ARNGTPTLIP SNPIDLKSN FLSTGSKLQM LFEPLLWKNK KLTKVSDEHE
151    SVSGFFQRHF GKEVVDYLID PFVAGTCGGD PDSLSMHLSF PELWNLEKRF
201    GSVIVGAIRS KLSPIKEKKQ GPPKTSENKK RQRGSFSFLG GMQTLTDAIC
251    NDLKEDELRL NSRVLELSCS CSGDSATDSW SIFSASPHKR QAEEDSFDAV
301    IMTAPLCDVK GMKIAKRGNP FLLNFIFEVD YVPLSVVITT FKKEVSKHPL
351    EFGVVLVPE EQKHGLKTLG TLFSSMMFPD RAPNNVLYT TFVGGSRNRE
401    LAKASRTELK EIVTSDLKQL LGAEGEPTYV NHVCWSKAFP LYGHNYDSVL
451    DAIDKMEKNL PGLFYAGNHK GGLSVGKALS SGCNAADLVI SYLEAVSTDT
501    KNHR

```

Фиг. 31

Нуклеотидная последовательность митохондриальной протопорфириноген
IX оксидазы *Solanum tuberosum* StmPPX2.2 (SEQ ID NO: 32)

```

1   ATGGCTCCAT CTGCCGGAGA AGATAAACAA AATTGTCCCA AGAGAGTTGC AGTCATTGGT
61  GCTGGCGTCA GTGGACTTGC TGCAGCATA CAGTTGAAAA TTCATGGCCTT GGATGTCCACA
121 GTATTCGAAG CAGAAGGGAG AGCTGGAGGG AAGTTACGAA GCCTGAGTCA AGATGGCCTA
181 ATATGGGATG AAGGCGCAAA TACTATGACT GAAAGTGAAG GTGATGTAC ATTTTTGCTT
241 GATTCGCTTG GACTCCGAGA AAAACAACAA TTTCCACTTT CACAGAACAA GCGCTTCATT
301 GCCAGAAATG GTACTCCTAC TCTGATACCT TCAAATCCAA TTGACCTGAT CAAAAGCAAT
361 TTTCTTTCCA CTGGATCAAA GCTTCGATG CTTTTCGAGC CACTTTTGTG GAAGAATAAA
421 AAGCTTACAA AGGTGTCTGA CGAACACGAA AGTGTGAGTG GATTCTTCCA GCGTCATTTT
481 GGAAAGGAGG TTGTGACTA TCTAATTGAT CCTTTTGTG CTGGAACATG TGGTGGTGAT
541 CCTGACTCGC TTTCAAATGCA CCTTTCGTTT CCAGAGTTGT GGAATTTAGA GAAAAGGTTT
601 GGTCTAGTCA TAGTTGGGGC AATTCGATCC AAGTTATCAC CTATAAAGGA AAAGAACAACAA
661 GGACCACCCA AAACCTCAGA AAATAAGAAG CGCCAGCGGG GGTCCCTTTT ATTTTTGGGC
721 GGAATGCAAA CACTTACTGA CGCAATATGC AATGATCTCA AAGAAGATGA ACTTAGGCTA
781 AACTCTAGAG TTCTGGAATT ATCTTGATAG TGTAGTGGGG ACTCTGCGAC AGATAGCTGG
841 TCAATTTTTT CTGCCTCACC ACACAAGCGG CAAGCAGAAG AAGATTCATT TGATCTGTA
901 ATTATGACGG CCCCTCTCTG TGACGTAAAG GGTATGAAGA TTGCTAAGAG AGGAAATCCA
961 TTTCTGCTCA ACTTATTCC TGAGGTGAT TATGTACCAC TATCTGTTGT TATAACCACA
1021 TTTAAGAAGG AGAGTGAAA GCATCCTCTT GAGGGTTTTG GAGTGCTTGT ACCTTCCGAG
1081 GAGCAAAAAC ATGGTCTGAA GACATTAGGC ACCCTCTTCT CTCTATGAT GTTCCGAT
1141 CGTGACCCCA ACAATGTCTA TCTCTATACT ACATTTGTTG GTGGAAGCCG AAATAGAGAA
1201 CTCGGGAAAG CCTCGAGGAC TGAGCTGAAA GAGATAGTAA CTCTGACCT TAAGCAGTTG
1261 TTGGGTGCTG AGGGAGAGCC AACATATGTG AATCATGTAT GCTGGAGTAA AGCATTTCGG
1321 TTTACGGGC ATAACATGA TTCAGTCTC GATGCAATTG ACAAATGGA GAAAATCTT
1381 CCTGGATTAT TCTATGCAG TAACCACAAG GGAGGATTGT CAGTTGGCAA AGCACTATCT
1441 TCTGGATGTA ATGCAGCAGA TCTTGTATA TCATATCTTG AAGCCGTTT AACGGACACC
1501 AAAAACCATTA GGTGAAATCT ATTCTCTCAT GCAGCTTGCC GTTCTTTGTT CCACAAAATC
1561 GTTTAACTTC ATGACGAGGA GCAACTTTAA CGTGCAGCCA GTGACGCA

```

Фиг. 32

Последовательность аминокислот контига пластидной протопорфириноген
IX оксидазы *Brassica napus* BncPPX1 (SEQ ID NO: 33)

```

1   MDLSLLRPQP FLSPFSNPPF RSRPYKPLNL RCSVSGGSV V SSTIEGGGGG KVTADCVIV
61  GGGISGLCIA QALVTKHPDA AKNVMTVEAK DRVGGNIITR EEQGFLWEEG PNSFQPSDPM
121 LTMVVDGLK DDLVLGDPTA PRFVLWNGKL RPVPSKLTDL PFFDLMSIGG KIRAGFGAIG
181 IRPSPPGREE SVEEFVRRNL GDEVFERLIE PFCSGVYAGD PAKLSMKAAF GKVWVLEENG
241 GSIIGGAFKA IQAKNKAPKT TRDPRLPKPK GQTVGSFRKG LTMLPDAISA RLGDKVKVSW
301 KLSSISKLPS GGYSLTYETP EGIVTVQSKS VVMTVPSHVA SLLRPLSDS AAEALSKLYY
361 PPVAAVSISY PKEAIRSECL IDGELKFGFQ LHPRTQKVET LGTIYSSSLF PNRAPPGRVL
421 LLNYIGGATN TGILSKSEGE LVEAVDRDLR KMLIKPSTD PLVLGVKVPW QAIQFLIGH
481 IDLVDAAKAS LSSSGHEGLF LGGNYVAGVA LGRCVEGAYE TATQVNFMS RYAYK

```

Фиг. 33

Нуклеотидная последовательность контига пластидной протопорфириноген
IX оксидазы *Brassica napus* VncPPX1 (SEQ ID NO: 34)

```

1 TTGAACAAAG AGGCTGGACC GGTCCGGAAT TCCCAGGATA TCGTCGACCC ACGCGTCCGG
61 TCGACGCTGA TCGGAGATAA GAGTCGACAA AATTGAGGAT TCTCCTTCTC GCGGGCGATC
121 GCCATGGATT TATCTCTTCT CCGTCCGCAG CCATTCCTAT CGCCATTCTC AAATCCATTT
181 CCTCGGTGCG GTCCCTACAA GCCTCTCAAC CTCGGTTGCT CCGTATCCGG TGGATCCGTC
241 GTCTCTCTA CAATCGAAGG CGGAGGAGGA GGTAAAACCG TCACGGCGGA CTGCGTGATC
301 GTCGGCGGAG GAATCAGCGG CCTGTGCATT GCGCAAGCGC TCGTGACGAA GCACCCAGAC
361 GGTGCAAGA ATGTGATGGT GACGGAGGCG AAGGACCGTG TGGGAGGGAA TATCATCAGC
421 CGAGAGGAGC AAGGGTTTCT ATGGGAAGAA GGTCCAATA GCTTTCAGCC GTCTGATCCT
481 ATGCTCACTA TGGTGGTAGA TAGTGGTTTG AAAGATGATC TAGTCTTGGG AGATCCTACT
541 GCTCCGAGGT TTGTGTTGTG GAATGGGAAG CTGAGGCCGG TTCCGTCGAA GCTAACTGAC
601 TTGCCTTTCT TTGACTTGAT GAGTATTGGA GGGAAAGATTA GAGCTGGGTT TGGTGCCATT
661 GGTATTTCGAC STTCACTCC GGGTCGTGAG GAATCAGTGG AAGAGTTTGT AAGGCGTAAT
721 CTTGGTGATG AGGTTTTTGA GCGCTTGATT GAACCCTTTT GCTCAGGTGT TTATGCGGGA
781 GATCCTGCGA AACTGAGTAT GAAAGCAGCT TTTGGGAAGG TTTGGAAGCT AGAGGAGAAT
841 GGTGGGAGCA TCATTGGTGG TGCTTTTAAG GCAATTCAAG GAAAAAATAA ATGTCCTCAG
901 ACAACCCGAC ACCCCGCTCT GCCAAAGCCA AACGCCAAA CACTTGCTTC TTTACGAAA
961 GGACTCACA TGCTGCGAGA CGCAATCTCT GCAAGGTTGG GTGACAAGGT GAAAGTTTCT
1021 TGGAAGCTCT CAAGTATCAG TAAGCTGCC AGCGGAGGAT ATAGCTTAA TACGAAACT
1081 CCGGAGGGGA TAGTCACTGT ACAGAGCAAA AGTGTGTGA TGACTGTGCC ATGCTCATGT
1141 GCTAGTAGTC TCTTGCGCC TCTCTCTGAC TCTGCAGCTG AAGCGCTCTC AAAACTCTAC
1201 TATCCACCAG TTGCAGCAGT ATCTATCTCA TACCCGAAAG AAGCAATCCG AAGCGAATGT
1261 TTAATAGATG GTGAACATAA AGGGTTCGGC CAGTTGCATC CACGCACGCA GAAAGTGGAA
1321 ACTCTTGGAA CAATATACAG TTCATCGCTC TTTCCCTAAC GAGCACCACC TGGAAGAGTG
1381 TTGCTACTGA ACTACATCGG TGGAGCTACC AACACTGGGA TCTTATCAA GTCAGAAGGT
1441 GAGTTAGTGG AAGCAGTGG TAGAGACTTG AGGAAGATGC TGATAAAGCC AAGCTCGACC
1501 GATCCACTTG TACTTGGAGT AAAAGTTTGG CCTCAAGCCA TTCCTCAGTT TCTGATAGGT
1561 CACATTGATT TGGTAGACGC AGCGAAAGCA TCTCTCTCGT CATCTGGCCA TGAGGGCTTA
1621 TTCTTGGGTG GAAATTACGT TGCCGGTGTA GCATTGGGTC GGTGTGTGGA AGGTGCTTAT
1681 GAAACTGCAA CCCAAGTGAA CGATTTCATG TCGAGGTACG CTTACAAGTA ATGTAACGCA
1741 GCAACGGTTT GATACTAAGT TGTAGATTGC AGTTTTGACT CTGTTTGTGA AAAATTCAAG
1801 TCTATGATTG AGTAAATTA TATGTATTA

```

Фиг. 34

Последовательность аминокислот контига пластидной протопорфириноген
IX оксидазы *Brassica napus* VncPPX2 (SEQ ID NO: 35)

```

1 MDLSLLRPQP FLSPFSPNPF RSRPYKPLNL RCSVSGGSVV VGSSTIEGGG GSKTVAADCV
61 IVGGGISGLC IAQALVTKHP DAAKSVMVTE AKDRVGGNII TREEQGFWE EGPNSFQPSD
121 PMLTMVVDSD LKDDLVLGDP TAPRFVLWNG KLRVPSKLT DLFFFDLMSI GSKIRAGFGA
181 IGIRPSPGR EESVEEFVRR NLGDEVFERL IEPFCSGVYA GDPAKLSMKA ALGKVVKLKE
241 NGSIIIGGAF KAIQAKNKAP KTRDPRLPK PKGQTVGSFR KGLTMLPDAI SARLGDVKV
301 SWKLSISIKL PSGGYSLYE TPEGIVTVQS KSVVMTVPSH VASSLLRPLS DSAAEALSKL
361 YPPVAAVSI SYPKEAIRSE CLIDGELKGF GQLHPRTQKV ETLGTIYSSS LFPNRAPPGR
421 VLLLNIGGA TNTGILSKSE GELVEAVDRD LRKMLIKPSS TDPLVLGVKV WPQAIQFLI
481 GHIDLVDAAK ASLSSSGHEG LFLGGNYVAG VALGRCVEGA YETATOVNDF MSRYAYK

```

Фиг. 35

Нуклеотидная последовательность контига пластидной протопорфириноген
IX оксидазы *Brassica napus* BncPPX2 (SEQ ID NO: 36)

```

1 GATCGGAGAT AAGGTTGACG AAATTGAGAA TCCTCCTCCT CGCGGGCCAT CGCCATGGAT
61 TTATCTCTTC TCCGTCCGCA GCCATTCTTA TCGCCATTCT CAAATCCATT TCCTCGGTCCG
121 CGTCCCTACA AGCCTCTCAA CCTCCGTTGC TCCGTATCCG GTGGATCCGT CGTCGTCCGC
181 TCGTCCACAA TCGAAGGCGG AGGAGGAGGT AAAACCGTCG CGGCGGATTG CGTGATCGTC
241 GGCGGAGGAA TCAGCGGCCT GTGCATTGCG CAAGCGCTCG TGACGAAGCA CCGGACGCT
301 GCGAAGAGTG TGATGGTGAC GGAGGCGAAG GACCGCGTGG GAGGGAATAT CATCACGCGA
361 GAGGAGCAAG GGTTCCTATG GGAAGAAGGT CCCAACAGCT TTCAGCCGTC TGATCCTATG
421 CTCACATATG TGGTAGATAG TGGTTTGAAG GATGATCTAG TCTTGGGAGA TCCTACTGCG
481 CCGAGGTTCC TGTGTGGAA TGGGAAGCTG AGGCCGGTTC CGTCGAAGCT AACTGACTTG
541 CCTTTCTTTG ACTTGATGAG CATTTGGAGG AAGATTAGAG CTGGGTTTGG TGCCATTGGC
601 ATTCGACCGT CACCTCCAGG TCCTGAGGAA TCTGTGGAAG AGTTTGTAA GCGTAACCTT
661 GGTGATGAGG TTTTGTAGCG TTTGATTGAA CCCTTTTGTT CAGGTGTTTA TGCGGGAGAT
721 CCTGCGAAAC TGAGTATGAA AGCAGCTTTG GGGAAAGTTC GGAACATAA GGAGAATGGT
781 GGAAGCATCA TAGGTGGTGC TTTTAAGGCA ATTCAAGCGA AAAATAAAGC TCCCAAGACA
841 ACCCGAGACC CGCGTCTGCC AAAGCCAAAG GGCCAAACAG TTGGTTCTTT CAGGAAAGGA
901 CTCACAATGC TGCCAGACGC AATCTCTGCA AGGTTGGGTG ACAAGGTGAA AGTTTCTTGG
961 AAGCTCTCAA GTATCAGTAA GCTGCCACGC GGAGGATATA GCTTAACTTA CGAAACTCCG
1021 GAGGGGATAG TCACTGTACA GAGCAAAAGT GTTGTGATGA CTGTGCCATC TCATGTTGCT
1081 AGTAGTCTCT TGCGCCCTCT CTCTGACTCT GCAGCTGAAG CGCTCTCAA ACTCTACTAT
1141 CCACCAGTTG CAGCAGTATC TATCTCATA CCGAAAGAAG CAATCCGAAG CGAATGTTTA
1201 ATAGATGGTG AACTAAAAGG GTTCGGCCAG TTGCATCCAC GCACGCAGAA AGTGGAAGCT
1261 CTTGGAACAA TATACAGTTC ATCGCTCTTT CCTAACCGAG CACCACCTGG AAGAGTGTG
1321 CTACTGAAC TACTCGGTGG ACTACCAAC ACTGGGATCT TATCAAAGTC AGAAGGTGAG
1381 TTAGTGGAAG CAGTGGATAG AGACTTGAGG AAGATGCTGA TAAAGCCAAG CTCGACCCAT
1441 CCACTGTGAC TTGGAGTAAA AGTTTGGCCT CAAGCCATTC CTCAGTTTCT GATAGGTGAC
1501 ATTGATTTGG TAGACGCAGC GAAAGCATCT CTCTCGTCAT CTGGCCATGA GGGCTTATTC
1561 TTGGGTGGAA ATTACGTTGC CGGTGTAGCA TTGGGTCCGT GTGTGGAAG TGCTTATGAA
1621 ACTGCAACCC AAGTGAACGA TTTTATGTCG AGGTACGCTT ACAAGTAA

```

Фиг. 36

Часть нуклеотидной последовательности контига пластидной протопорфириноген
IX оксидазы *Brassica napus* BncPPX3 (SEQ ID NO: 37)

```

1 VTVQSKSVVM TVPSHVASSL LRPLSDSAAE ALSKLYPPV AAVSISYAKE AIRSECLIDG
61 ELKGFQQLHP RTQKVETLGT IYSSSLFNR APPGRVLLL YIGGATNTGI LSKSEGELVE
121 AVDRDLRML IKPSSTDPLV LGVKLWPQAI PQFLIGHIDL VDAAKASLSS SGHEGLFLGG
181 NYVAGVALGR CVEGAYETAT QVNDFMSRYA YK

```

Фиг. 37

Часть нуклеотидной последовательности контига пластидной протопорфириноген
IX оксидазы *Brassica napus* BncPPX3 (SEQ ID NO: 38)

```

1 TAGTCACTGT ACAGAGCAAA AGTGTAGTGA TGA CTGTGCC ATCTCATGTA GCTAGTAGTC
61 TCTTGCGCCC TCTCTCTGAT TCTGCAGCTG AAGCGCTCTC AAAACTCTAC TATCCGCCAG
121 TTGCAGCCGT ATCCATCTCA TACGCGAAAG AAGCAATCCG AAGCGAATGC TTAATAGATG
181 GTGAACTAAA AGGGTTCGGC CAGTTGCATC CACGCACGCA AAAAGTGGAA ACTCTTGGAA
241 CAATATACAG TTCATCGCTC TTTCCCAACC GAGCACCGCC TGGAAGAGTA TTGCTATTGA
301 ACTACATCGG TGGAGCTACC AACACTGGGA TCTTATCAAA GTCGGAAGGT GAGTTAGTGG
361 AAGCAGTAGA TAGAGACTTG AGGAAGATGC TGATAAAGCC AAGCTCGACC GATCCACTTG
421 TACTTGGAGT AAAATTATGG CCTCAAGCCA TTCCTCAGTT TCTGATAGGT CACATTGATT
481 TGGTAGACGC AGCGAAAGCA TCGCTCTCGT CATCTGGTCA TGAGGGCTTA TTCTTGGGTG
541 GAAATTACGT TGCCGGTGTA GCATTGGGTC GGTGTGTGGA AGGTGCTTAT GAAACTGCAA
601 CCCAAGTGAA TGATTTCATG TCAAGGTATG CTTACAAGTA ATGTAACGCA GCAACGATT
661 GATACTAAGT AGTAGATTTT GCAGTTCTGA CTTAAGAAC ACTCTGTTTG TGAAAAATTC
721 AAGTCTGTGA TTGAGTAAAT TTATGTATTA TTAATAA

```

Фиг. 38

Последовательность аминокислот пластидной протопорфириноген
IX оксидазы *Glycine max* GmcPPX1 - 1 Gm02G01000 (SEQ ID NO: 39)

```

1 MVAAMATA ASAAAPLLNG TRRPARLRRR GLRVRCAAVA GGAAEAPAST GARLSADCVV
61 VGGGISGLCT AQALATRHGV GEVLVTEARA RPPGNITVVE RPEEGYLWEE GPNSFQPSDP
121 VLSMAVDSGL KDDLVFQDPN APRFVLWEGK LRPVPSKPAD LPFFDLMSIP GKLRAGLGAL
181 GIRPPPPGRE ESVEEFVRRN LGAEVFERLI EPFCSGVYAG DPSKLSMKAA FGKVRLEEA
241 GGSIIIGTTIK TIQERGNPK PPRDRPLPKP KGQTVASFRK GLAMLNPAIT SSLGSKVKLS
301 WRLTSITKSD GKGIVLEYET PEGVVLVQAK SVIMTIPSYV ASDILRPLSG DAADALSIFY
361 YPPVAAVTVS YPKEAIRKEC LIDGELQGFQ QLHPRSQGVV TLGTIYSSSL FPNRAPAGRV
421 LLLNYIGGAT NTGIVSKTES ELVEAVDRDL RKMLINSTAV DPLVLGVRVW PQAIQFLVG
481 HLDLLEVARA ALDQGGYDGL FLGGNYVAGV ALGRICIEGAY ESAAQIYDFL TRYAYK

```

Фиг. 39

Последовательность аминокислот пластидной протопорфириноген
IX оксидазы *Glycine max* GmcPPX1 2 Gm02G01000 (SEQ ID NO: 40)

1 MVSVFNDILF PPNQTLSPST FFTSPTRKFP RSRENPILR SIAEESTESR PKTGDSPPPP
61 LMEALAVWHR PGPRHQARQC QHCWGDSRAR DRVGGGNITT MESGGYLWEE GPNSFQPSDP
121 MLTMVVDVSGL KDQLVLGDDP APRFVLWNGK LRPVPGKPTD LPFFDLMSIG GKIRAGFGVL
181 GIRPPPPVEE FVRRNLGDDV FERLIEPFCS GGNTCIFKQV GALLILWGLC RRSFKIKYES
241 SIWESLEAGK NNGSIIGGTF KAIQERNAS KPPRDRPLPK PKGQTVGSFR KGLIMLPDAI
301 SARLGNKVKL SWKLSSISKL DSGEYSLTYE TPEGVVSQVC KTVVLTIPSY VASTLLRPLS
361 AAAADTLSEK YYPVVAVSI SYPKEAIRSE CLIDGELKGF GAIYSSSLFS NRAPPGRVLL
421 LNYIGGATNT GIYQSFSGKL QGWFKELIIF TSGLFGCFKQ LRPNGLVSNL DSELVATVDR
481 DLRKILINPN AQDPFVVGVR LWPQAIPOFL IGHLLDLDVA KASLRNTGFE GLFLGGNYVS
541 GVALGRWVEG A

Фиг. 40

Нуклеотидная последовательность пластидной протопорфириноген
IX оксидазы *Glycine max* GmcPPX1 - 2 Gm02G01000 (SEQ ID NO: 41)

1 ATGGTTTCCG TCTTCAACGA CATCCTATTC CCGCCTAACC AAACCCTTTC CCCAACGTCC
61 TTCTTACCT CTCCCAGTCG AAAATTCCCT CGCTCTCGCC CTAACCCCTAT TCTCGGCTGC
121 TCCATCGCCG AGGAGTCCAC CGAGTCTCGG CCCC AAAACCG GAGACTCCCC CCCCCCGCCG
181 TTGATGGAGG CGTTAGCGGT CTGGCATCGC CCAGGCCCTC GCCACCAAGC ACGCCAATGC
241 CAACACTGTT GGGGAGATTG GAGGGCCCGA GACCGTGTGC GCGGGGGCAA CATACCACG
301 ATGGAGAGTG GCGGATACCT CTGGGAAGAA GGCCCAACA GCTTTCAGCC CTCTGATCCA
361 ATGCTCACCA TGGTGGTGGG CAGTGGCTTA AAGGATCAGC TTGTTTTGGG GGATCCTGAT
421 GCACCTCGGT TTGTGTTGTG GAATGGGAAG TTGAGGCCAG TGCCTGGGAA GCCGACTGAT
481 TTGCCTTTCT TTGACTTGAT GAGCATCGGT GGC AAAATCA GGGCTGGCTT TGGTGTGCTT
541 GGTATTCGGC TCCTCCTCC AGTTGAAGAG TTTGTTCTGC GGAACCTTGG TGATGATGTT
601 TTTGAACGAT TGATAGAGCC TTTTGTTC AAGGGCAATA CTTGTATAT TAAATTTGTG
661 GGAGCATTAC TCATATTGTG GGGTCTATGC AGGCGATCCT TCAAAATTA GTATGAAAGC
721 AGCATTGGG AAAGTTTGGG GCTGGAAAA AATGGTGGTA GCATAATTGG TGGAACTTTC
781 AAAGCAATAC AAGAGAGAAA TGGAGCTTCA AAACCACTC GAGATCCACG TCTGCCAAAA
841 CCAAGGGTCA AGACTGTTGG ATCTTTTCGG AAGGGACTTA TCATGTTGCC TGATGCAAT
901 TCTGCAAGAT TAGGCAACAA AGTAAAGTTA TCTTGGAAAG TTTCAAGTAT TAGTAAACTG
961 GTAGTGGAG AGTACAGTTT GACATATGAA ACACCCGAAG GAGTGGTTTT TTTGCAGTGC
1021 AAAACCGTTG TCCTGACCAT TCCTTCCTAT GTTGCTAGTA CATTGCTGCG TCCTCTGTCT
1081 GCTGCTGCTG CAGATAGCCT TTCAAAGTTT TATTACCCTC CAGTGTGTC AGTTTCCATA
1141 TCSTATCCAA AAGAAGCTAT TAGATCAGAA TGCTTGATAG ATGGTGAGTT GAAGGGTTTT
1201 GGAGCTATAT ACAGCTCATC ACTATCTCC AATCGAGCAC CACCTGGAAG GGTCTACTC
1261 TTGAATTACA TTGGAGGAGC TACTAATACT GGAATTTATC AAAGTTTTTC TGGAAACTT
1321 CAAGGATGGT TAAAGAAGT AATCATTTTC ACCAGCGGGT TATTGGGGT TTTTAAACAA
1381 CTCAGGCTTA ATGGTCTTGT TTCGAATACG GACAGTGAAC TTGTCGCAAC AGTTGATCGA
1441 GATTTGAGAA AAATCCTTAT AAACCCAAAT GCCCAGGATC CATTGTAGT GGGGGTGAGA
1501 CTGTGGCCTC AAGCTATTCC ACAGTTCTTA ATTGGCCATC TTGATCTTCT AGATGTTGCT
1561 AAAGCTTCTC TCAGAAATAC TGGGTTTGA GGGCTGTTC TTGGGGGTAA CTATGTGTCT
1621 GGTGTTGCCT TGGGACGATG GTTGAGGGA GCCTGA

Фиг. 41

Последовательность аминокислот пластидной протопорфириноген
IX оксидазы *Glycine max* GmcPPX2 - Gm10G27890 (SEQ ID NO: 42)

1 MVSVFNEILF PPNQTLRPS LHSPTSFFTS PTRKFPERSP NPILRCSIAE ESTASPPKTR
61 DSAPVDCVVV GGGVSLCIA QALATKHANA NVVVTEARDR VGGNITMTER DGYLWEEGPN
121 SFQPSDPLMT MVVDSGLKDE LVLGDDPAPR FVLWNRRLRP VPGKLTDLPF FDLMSIGGKI
181 RAGFGALGIR PPPPGHEESV EEFVRRNLGD EVFERLIEPF CSGVYAGDPS KLSMKAAPFK
241 VWKLEKNGS IIGGTFKAIQ ERNGASKPPR DPRLPKPKGQ TVGSFRKGLT MLPDAISARL
301 GNKVKLSWKL SSISKLDSGE YSLTYETPEG VVSLQCKTVV LTIPSYVAST LLRPLSAAAA
361 DALSKFYYP VAAVSIYYPK EAIRSECLID GELKGFGLH PRSQGVETLG TIYSSSLFPN
421 RAPPGRVLLL NYIGGATNTG ILSKTDSELV ETVDRDLRKI LINPNAQDPF VGVRLWPQA
481 IPQFLVGHLD LLDVAKASIR NTGFEGFLG GNYVSVGVALG RCVEGAYEVA AEVNDFLTNR
541 VYK

Фиг. 42

Нуклеотидная последовательность пластидной протопорфириноген
IX оксидазы *Glycine max* GmcPPX2 - Gm10G27890 (SEQ ID NO: 43)

```

1 ATGGTTTCCG TCTTCAACGA GATCCSTATTC CCGCCGAACC AAACCCCTTCT TCGCCCTCC
61 STCCATTCCC CAACCTCTTT STTCCACSTCT CCCACTCGAA AATTCCTCTG CTCTCGCCCT
121 AACCTTATTC TACGCTGCTC CATTGCGGAG GAATCCACCG CGTCTCCGCC CAAAACCAGA
181 GACTCCGCCC CCGTGGACTG CGTCGTCGTC GCGGAGGCGG TCAGCGGCCT CTGCATCGCC
241 CAGGCCCTCG CCACCAAACA CGCCAATGCC AACGTCGTCG TCACGGAGGC CCGAGACCGC
301 GTCGGCGGCA ACATCACCAC GATGGAGAGG GACGGATACC TCTGGGAAGA AGGCCCAAC
361 AGCTTCCAGC STTCTGATCC AATGCTCACC ATGGTGGTGG ACAGTGGTTT AAAGGATGAG
421 CTTGTTTTGG GGGATCCTGA TGCACCTCGG TTTGTGTTGT GGAACAGGAA GTTGAGGCCG
481 GTGCCCGGGA AGCTGACTGA TTTGCSTTTC TTTGACTTGA TGAGCATTGG TGGCAAAATC
541 AGGGCTGGCT TTGGTGGCCT TGGAATTCGG CCTCCTCCTC CAGGTCATGA GGAATCGGTT
601 GAAGAGTTTG TTCGTCGGAA CCTTGGTGAT GAGGTTTTTG AACGGTTGAT AGAGCCTTTT
661 TGTTCAAGGG TCTATGCAGG CGATCCTTCA AAATTAAGTA TGAAAGCAGC ATTCGGGAAA
721 GTTTGGAAGC TGGAAAAAAA TGGTGGTAGC ATTATTGGTG GAACTTTCAA AGCAATACAA
781 GAGAGAAATG GAGCTTCAAA ACCACSTCGA GATCCGCGTC TGCCAAAACC AAAAGGTCAG
841 ACTGTGGATG CTTTCCGGAA GGGACTTACC ATGTTGCCTG ATGCAATTC TCCAGACTA
901 GGCAACAAAG TAAAGTTATC TTGGAAGCTT TCAAGTATTA TCAACTGGA GTTGGAGAG
961 TACAGTTTGA CATATGAAAC ACCAGAAGGA GTGGTTTCTT TGCAGTGCAA AACTGTTGTC
1021 CTGACCATTG CTTCTATATG TGCTAGTACA TTGCTGCGTC CTCTGTCTGC TGCTGCTGCA
1081 GATGCACTTT CAAAGTTTTA TTACCSTCCA GTTGTGTCAG TTTCCATATC CTAATCAAAA
1141 GAAGCTATTA GATCAGATTA GTTGTAGAT GGTGAGTTGA AGGGGTTTTG TCAATTCGAT
1201 CCACGTAGCC AAGGAGTGG AACTATTAGGA ACTATATACA GCTCATCACT ATTCCTCAAC
1261 CGAGCACCCAC CTGGAAGGGT TCTACTCTTG AATTACATTG GAGGAGCAAC TAATACTGGA
1321 ATTTTATCGA AGACGGACAG TGAACSTGTG GAAACAGTTG ATCGAGATTG GAGGAAAAATC
1381 CTTATAAACC CAAATGCCCA GGATCCATTT GTAGTGGGGG TGAGACTGTG CCTCAAGCT
1441 ATTCCACAGT TCTTAGTTGG CCATCTTGAT CTTCTAGATG TTGCTAAAGC TTCTATCAGA
1501 AATACTGGGT TTGAAGGGCT CTTCTTGGG GGTAAATTATG TGTCTGGTGT TGCSTTGGGA
1561 CGATGCGTTG AGGGAGCCTA TGAGGTAGCA GCTGAAGTAA ACGATTTTCT CACAAATAGA
1621 GTGTACAAAT AG

```

Фиг. 43

Последовательность аминокислот митохондриальной протопорфириноген
IX оксидазы *Glycine max* GmmPPX - Gm19g25100 (SEQ ID NO: 44)

```

1 MASSATDDNP RSVKRVAVVG AGVSGLAAY KLKSHGLDVT VFEAEGRAGG RLRSVSDGL
61 IWDEGANTMT ESEIEVKGLI DALGLQEKQQ FPISQHKRYI VKNGLPLLP TNPAAALKSK
121 LLSAQSKIHL IFEPFMWKRK DPSNVCDENS VESVGRFFER HFGKEVDVYL IDPFVGGTSA
181 ADPELSMRH SFPELWNLEK RFGSIIAGAL QSKLFAKREK TGENRTRLRK NKHKRGSFSS
241 QGGMQLTLDL LKELGKDDL KLNKVLTLA YGHDGSSSSQ NWSITSASNQ STQDQDAVIM
301 TNLHYLKHSL HNGQAPLYNV KDIKITKRGF PFPLNLFPEV SYVPISVMIT TFKKENVKRP
361 LEGFVGLVPS KEQRNGLKTL GTLFSMMFEP DRAPSDLYLY TTFIGGTQNR ELAQASTDEL
421 RGIIVTSDLRK LLGAEGEPTF VNHFYWSKGF PLYGRNYGSV LQAIKDIEKD LPGFFFAGNY
481 KGLSVGKAI ASGCKAADLV ISYLNASDN TVPDK

```

Фиг. 44

Нуклеотидная последовательность митохондриальной протопорфириноген
IX оксидазы *Glycine max* GmmPPX - Gm19g25100 (SEQ ID NO: 45)

```

1 ATGGCTTCCT CTGCAACAGA CGATAACCCA AGATCTGTAA AAAGAGTAGC TGTGTTGGT
61 GCTGGGGTAA GTGGGCTTGC TGCGGCTTAC AAATTGAAAT CACATGGTCT GGATGTCACT
121 GTATTTGAAG CTGAGGGAAG AGCTGGAGGG AGGTTGAGAA GTGTTTCTCA GGATGTCTA
181 ATTTGGGATG AGGGAGCTAA TACAATGACT GAAAGTGAAA TTGAGGTTAA AGGTTTGATT
241 GATGCTCTTG GACTTCAAGA AAAGCAGCAG TTTCCAATAT CACAGCATAA GCGCTATATT
301 GTGAAAAATG GGGCACCACT TCTGGTACCC ACAAATCCTG CTGCACTACT GAAGAGTAAA
361 CTGCTTTCTG CACAATCAAA GATCCATCTC ATTTTGAAC CATTATATGTG GAAAAGAAGT
421 GACCCCTCTA ATGTGTGTGA TGLAAAATTCT GTGGAAAAGT TAGGCAGGTT CTTTGAACGT
481 CATTTTGGAA AAGAGGTTGT GGACTATCTG ATTGATCCTT TTGTTGGGGG CACTAGTGCA
541 CGAGATCCTG AATCTCTCTC TATGCGCCAT TCTTCCAG AGCTATGGAA TTTGGAGAAA
601 AGGTTTGGCT CCATTATAGC CGGGGCATTG CAATCTAAGT TATTCGCCAA AAGGGAAAAA
661 ACTGGAGAAA ATAGGACTGC ACTAAGAAAA AACAAACACA AGCGTGGTTC GTTTCTTTC
721 CAGGGTGGGA TGCAGACACT GACAGATACA TTGTGCAAAG AGCTTGGCAA AGACGACCTT
781 AAATTAATG AAAAGGTTTT GACATTAGCT TATGGTCATG ATGGAAGTTC CTCTTCAAA
841 AACTGGTCTA TTACTAGTGC TTCTAACCAA AGTACACAAG ATGTTGATGC AGTAATCATG
901 ACGAATCTGC ATTATTTAAA GCATTCGTTG CATAATGGTC AAGCTCCTCT ATATAATGTC
961 AAGGACATCA AGATCACAAA AAGGGGAAC CCCTTCCAC TTAATTTTCT TCCCGAGGTA
1021 AGCTACGTGC CAATCTCAGT CATGATTAAT ACCTTCAAAA AGGAGAATGT AAAGAGACCT
1081 TTGGAGGGAT TTGGAGTTCT GTTCTCTTCT AAAGAGCAA AAAATGGTTT AAAAACCTT
1141 GGTACACTTT TTTCTCTAT GATGTTCCCA GATCGTGCAC CTAGTGATT ATATCTCTAT
1201 ACCACSTTCA TTGGCGGAAC TCAAAAACAGG GAACTTGCTC AAGCTTCAAC TGACGAGCTT
1261 AGGAAAATTG TTAATCTCTG CCTGAGAAAAG TTGTTGGGAG CAGAGGGGGA ACCAACATTT
1321 GTAAACCATT TCTATTGGAG TAAAGGCTTT CCTTTGTATG GACGTAAC TAAGGTCAGTT
1381 CTTCAAGCAA TTGATAAGAT AGAAAAAGAT CTTCCCGGAT TTTCTTTG AGGTAAC TAC
1441 AAAGGTGGAC TCTCAGTTGG CAAAGCAATA GCCTCAGGCT GCAAAGCAGC TGATCTTGTG
1501 ATATCCTACC TCAACTCTGC TTCAGACAAC ACAGTGCCTG ATAAATGA

```

Фиг. 45

	1	10	20	30	40	50	60
A4g01690 кДНК – AX084732t	(1)					MELSLLRPT	---TQS
A5g14220 кДНК НЕМG2/МEE61 – NM_121426	(1)						
StmPPX1t	(1)						
StmPPX2-1t	(1)						
StmPPX2-2t	(1)						
StPPO х-пласт. кДНК – AJ225107t	(1)					MTTTAVANHPSIFTHRSPLPSPSS	
StPPO мит. кДНК – AJ225108t	(1)						
Amaranthus PPX кДНК – DQ386117t	(1)					MVIQSITHLSPNL	
Amaranthus PPX кДНК – DQ386118t	(1)					MVIQSITHLSPNL	
BncPPX1 контиг. CDS	(1)					MDLSLLRP	---QP
BncPPX2 контиг. CDS	(1)					MDLSLLRP	---QP
BncPPX3 неполн. CDS	(1)						
GmmPPX – Gm19g25100	(1)						
GmcPPX1-1 – Gm02G01000	(1)					MVAAAAMATAASAAAPLLN	
GmcPPX1-2 – Gm02G01000	(1)					MVSVFNILFFPNQTL	---PTS
GmcPPX2 – Gm10G27890	(1)					MVSVFNILFFPNQTL	LRPSPSLHSP
Os01g0286600 кДНК PPX – NM_001049312t	(1)					MAAAAAMATATASAAAPPL	
OsmPPXFLкДНК – Os04gC490000 предсказ.	(1)					MLSPATTFSSSS	
PtcPPX1 – P0014S10720	(1)					MTVKQSSVARIKGLINPSSQITSLQGGSFACQTESEBPAMTSTFTDLSLRPT	---IPS
PtcPPX2 – P0002S18740	(1)					MTTFIDFSLRPT	---TPS
Rc1678480 кДНК PPX – XM_002509502t	(1)						
Rc1343150 кДНК PPX – XM_002515127t	(1)					MANLADFSLFLRS	---TPS
Sb03g011670 кДНК PPX – XM_002455439t	(1)					MVAAAAMATAASAAAPLLN	
Sb06g020950 кДНК PPX – XM_002446665t	(1)					MLARTATVSSST	
ZmPPX кДНК – AF273767t	(1)					MLARTASASSAS	
ZmPPX кДНК – AF218052t	(1)					MVAATATAMATAASAPLLN	
CpcPPX – CP0057G0026	(1)					MAALMELSLRPT	---GHS
VvcPPX – VV7G0627	(1)					MPTLTLADPPTLRLSPV	---NLR
Консенсуc	(1)						L

	(61)	61	70	80	90	100	110	120	
A4g01690 кДНК – AX084732t	(13)			LPPSPSKPNLR			LNVIKPLRLRCS	VAGGPRTVSSSSKIEGGGG	---T
A5g14220 кДНК НЕМG2/МEE61 – NM_121426	(1)						MASGAVA	HQIEAVSG	----
StmPPX1t	(1)						MAPSAGEDKQNC	P----	
StmPPX2- 1t	(1)						MAPSAGEDKQNC	P----	
StmPPX2- 2t	(1)						MAPSAGEDKQNC	P----	
StPPO х-пласт. кДНК – AJ225107t	(25)						SSSSPFLFLNRTNIPYFSTSKRNSVNCNGWR	RCS	VAKDYTPV SEVDGNQFP----
StPPO мит. кДНК – AJ225108t	(1)							MAPSAGEDKQNC	----
Amaranthus PPX кДНК – DQ386117t	(14)			ALPSP		LSVS	KNYPVAVMGNISERE	EPTSA	----
Amaranthus PPX кДНК – DQ386118t	(14)			ALPSP		LSVS	KNYPVAVMGNISERE	EPTSA	----
BncPPX1 контиг. CDS	(11)			FLSPFSPNPFPR		SRPYKPLNLRCS	VSGG	SVVSSTIEGGGG	---K
BncPPX2 контиг. CDS	(11)			FLSPFSPNPFPR		SRPYKPLNLRCS	VSGG	SVVSSTIEGGGG	---K
BncPPX 3 неполн. CDS	(1)								
GmmPPX – Gm19g25100	(1)						MASSATDDNPRSV		----
GmcPPX1- 1 – Gm02G01000	(20)			GTRRRPARLR		RRGLRVRCA	AVAGGAAEAP	PASTGARLS	----
GmcPPX1- 2 – Gm02G01000	(21)			FFISPTRKFP		RSRPNPILROS	IAEESTESRPKTGDSPPP		----
GmcPPX2 – Gm10G27890	(27)			FFISPTRKFP		RSRPNPILROS	IAEESTAS	PKTRDSAPVD	
Os01g0286600 кДНК PPX – NM_001049312t	(21)			RIRDAARRT		RRRGHVRCA	VASGAAEAP	PAAPGARVS	----
OsmPPX полноразмерн. кДНК – Os04gC490000 предсказ.	(13)			SSSSPSRAHARAP		TRFAVAASARAAR	FRPARAMAA	SDPRGG	----
PtcPPX1 – P0014S10720	(58)			LIPSS		F	SKFTTHRPLKLRCS	LTEDSTTFIPFKLNGEAQSSAGH	
PtcPPX2 – P0002S18740	(17)			LIPSS		F	SKFSTPRDFKLRCS	LTEESATIIPSKLNGEAQSSNGGH	
Rc1678480 кДНК PPX – XM_002509502t	(1)						MSSVIKEDRNP	SHV	----
Rc1343150 кДНК PPX – XM_002515127t	(17)			LVPSP		K	TTINRTLKQLRCS	ITEQSTTTISPGGNSQSP	
Sb03g011670 кДНК PPX – XM_002455439t	(20)			GTRRRPARLR		RPGLRVRCA	AVAGGAAEAP	PASTGARLS	----
Sb06g020950 кДНК PPX – XM_002446665t	(13)			SHSHP		YRPTARS	RLRPLAVLAMA	AGSDDRAAPA	----
ZmPPX кДНК – AF273767t	(13)			SHPYR		HASANTRRP	RLRAVLAMA	AGSDDRAAPA	----
ZmPPX кДНК – AF218052t	(19)			GTRIPARLR		HRGLSVRCA	AVAGGAAEAP	PASTGARLS	----
CpcPPX – CP0057G0026	(17)			LFPSTSTSNLR		VKTNSSLR	LQCS	TAEGSTISPSNIDGG	----
VvcPPX – VV7G0627	(22)			RSTSISSPFRCRP		SRNNCTGPWR	VRCA	VAGES	TISSKVGDNH
Консенсуc	(61)								

Фиг. 46

Предпочтительная аминокислота. Table with columns: Вид, № доступа GenBank, Лок., and amino acid sequence (N, V, C, N, H, R, C, L, H, V, N, L, I, Y, D, K, T, L, F, E, S, Q, F, K, H, S, E, Q, R, R, G, G, I, S, D, K, E, S, K, I, V, V, D, I, A, E, N, F, T, S).

Фиг. 47

Table with columns: Вид, № доступа GenBank, Лок., and amino acid sequence (G, N, K, A, A, P, A, G, L, M, S, Q, S, A, L, K, K, L, O, L, Y, F, I, S).

- = Неизвестно из-за неполной последовательности

Фиг. 48