



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101218345 B

(45) 授权公告日 2012. 05. 02

(21) 申请号 200680021382. X

C12N 9/12(2006. 01)

(22) 申请日 2006. 06. 06

C12N 9/00(2006. 01)

(30) 优先权数据

A01N 51/00(2006. 01)

05076392. 9 2005. 06. 15 EP

A01N 43/40(2006. 01)

60/691, 103 2005. 06. 16 US

(56) 对比文件

(85) PCT申请进入国家阶段日

CN 1291076 A, 2001. 04. 11, 全文.

2007. 12. 14

WO 0126468 A2, 2001. 04. 19, 全文.

(86) PCT申请的申请数据

MATSUDA, K. et al. Neonicotinoids:

PCT/EP2006/005393 2006. 06. 06

insecticides acting on insect nicotinic

(87) PCT申请的公布数据

acetylcholine receptors. 《Trends in

W02006/133827 EN 2006. 12. 21

Pharmacological Sciences》. 2001, 第 22 卷 (第

(73) 专利权人 拜尔生物科学公司

审查员 罗霄

地址 比利时根特

(72) 发明人 M·梅茨拉夫 M·德布洛克

(74) 专利代理机构 北京市中咨律师事务所

11247

代理人 黄革生 凌立

(51) Int. Cl.

C12N 15/82(2006. 01)

C12N 9/10(2006. 01)

C12N 9/24(2006. 01)

C12N 9/80(2006. 01)

权利要求书 2 页 说明书 19 页

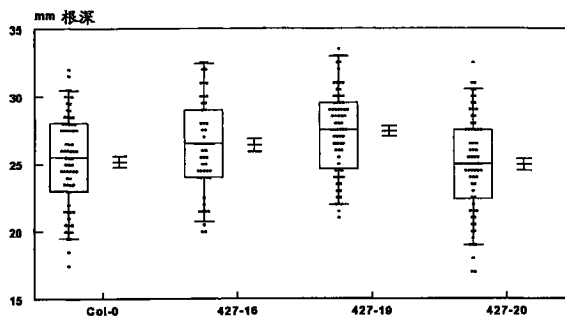
序列表 27 页 附图 4 页

(54) 发明名称

提高植物对低氧条件抗性的方法

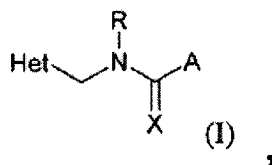
(57) 摘要

本发明提供用于提高植物对低氧或无氧条件抗性的方法。这类方法可被用于促进植物根在生长培养基中或进入土壤中的穿透。本发明的方法可包括提供有胁迫耐受性基因的植物。可通过对植物使用化合物,包括新烟碱类化合物来获得相似的效应。



1. 用于提高植物细胞或植物对低氧或无氧条件耐受性的方法,其包括步骤:

a) 对所述植物或其生境或对所述植物的种子使用有效量的式 (I) 化合物



其中

Het 表示氯吡啶基,

A 表示  $\text{C}_1\text{-C}_6$ -烷基、 $-\text{N}(\text{R}^1)$  ( $\text{R}^2$ ) 或  $\text{S}(\text{R}^2)$ , 其中

$\text{R}^1$  表示氢、 $\text{C}_1\text{-C}_6$ -烷基、苯基、 $-\text{C}_1\text{-C}_4$ -烷基、 $\text{C}_3\text{-C}_6$ -环烷基、 $\text{C}_2\text{-C}_6$ -链烯基或  $\text{C}_2\text{-C}_6$ -炔基,

且

$\text{R}^2$  表示  $\text{C}_1\text{-C}_6$ -烷基、 $\text{C}_2\text{-C}_6$ -链烯基、 $\text{C}_2\text{-C}_6$ -炔基、 $-\text{C}(=\text{O})-\text{CH}_3$  或苄基,

R 表示氢、 $\text{C}_1\text{-C}_6$ -烷基、 $\text{C}_2\text{-C}_6$ -链烯基、 $\text{C}_2\text{-C}_6$ -炔基、 $-\text{C}(=\text{O})-\text{CH}_3$  或苄基, 或与  $\text{R}^2$  一起表示以下基团:

$-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{CH}_2-$ ,

且

X 表示  $\text{N}-\text{NO}_2$ 、 $\text{N}-\text{CN}$  或  $\text{CH}-\text{NO}_2$ 。

2. 权利要求 1 的方法, 其中所述植物的根进入培养基内的穿透得以促进。

3. 权利要求 1 的方法, 其中所述 (I) 式的化合物是吡虫啉、烯啶虫胺、啉虫脒或噻虫啉。

4. 权利要求 1 或权利要求 2 的方法, 其中所述植物包含胁迫耐受性增强转基因。

5. 权利要求 4 的方法, 其中所述胁迫耐受性增强转基因包含以下有效连接的 DNA 片段:

a) 植物可表达的启动子;

b) 编码 PARP 抑制性 RNA 分子的 DNA 区, 其包含选自 SEQ ID No 1 的核苷酸序列、SEQ ID No 2 的核苷酸序列、SEQ ID No 3 的核苷酸序列、SEQ ID No 4 的核苷酸序列、SEQ ID No 5 的核苷酸序列或 SEQ ID No 6 的核苷酸序列的 20 个连续核苷酸中的至少 19 个; 或

编码 PARP 抑制性 RNA 分子的 DNA 区, 其包含选自 SEQ ID No 1 的核苷酸序列、SEQ ID No 2 的核苷酸序列、SEQ ID No 3 的核苷酸序列、SEQ ID No 4 的核苷酸序列、SEQ ID No 5 的核苷酸序列或 SEQ ID No 6 的核苷酸序列的互补序列的 20 个连续核苷酸中的至少 19 个; 或

编码 PARP 抑制性 RNA 分子的 DNA 区, 其包含选自 SEQ ID No 7 的核苷酸序列、SEQ ID No 8 的核苷酸序列、SEQ ID No 9 的核苷酸序列或 SEQ ID No 10 的核苷酸序列的 20 个连续核苷酸中的至少 19 个; 或

编码 PARP 抑制性 RNA 分子的 DNA 区, 其包含选自 SEQ ID No 7 的核苷酸序列、SEQ ID No 8 的核苷酸序列、SEQ ID No 9 的核苷酸序列或 SEQ ID No 10 的核苷酸序列的互补序列的 20 个连续核苷酸中的至少 19 个; 和

c) 转录终止和多聚腺苷酸化 DNA 区。

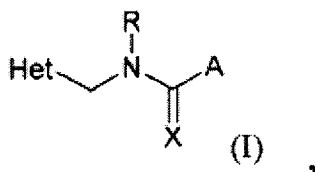
6. 权利要求 4 的方法, 其中所述胁迫耐受性增强转基因包含下述核苷酸序列, 所述核苷酸序列选自 SEQ ID 11 的核苷酸序列、SEQ ID 12 的核苷酸序列、SEQ ID 13 的核苷酸序

列、SEQ ID 14 的核苷酸序列、SEQ ID15 的核苷酸序列、SEQ ID 16 的核苷酸序列、SEQ ID 17 的核苷酸序列、SEQ ID 18 的核苷酸序列、SEQ ID 19 的核苷酸序列、SEQ ID 20 的核苷酸序列、SEQ ID 21 的核苷酸序列或 SEQ ID 22 的核苷酸序列。

7. 权利要求 1 的方法, 其中 Het 表示氯取代的吡啶 -3- 基杂环。

8. 以下物质用于提高植物对低氧或无氧条件耐受性的用途:

式 (I) 化合物



其中

Het 表示氯吡啶基,

A 表示  $\text{C}_1\text{-C}_6$ - 烷基、 $-\text{N}(\text{R}^1)(\text{R}^2)$  或  $\text{S}(\text{R}^2)$ ,

其中

$\text{R}^1$  表示氢、 $\text{C}_1\text{-C}_6$ - 烷基、苯基、 $\text{C}_1\text{-C}_4$ - 烷基、 $\text{C}_3\text{-C}_6$ - 环烷基、 $\text{C}_2\text{-C}_6$ - 链烯基或  $\text{C}_2\text{-C}_6$ - 炔基,

且

$\text{R}^2$  表示  $\text{C}_1\text{-C}_6$ - 烷基、 $\text{C}_2\text{-C}_6$ - 链烯基、 $\text{C}_2\text{-C}_6$ - 炔基、 $-\text{C}(=\text{O})-\text{CH}_3$  或苄基,

R 表示氢、 $\text{C}_1\text{-C}_6$ - 烷基、 $\text{C}_2\text{-C}_6$ - 链烯基、 $\text{C}_2\text{-C}_6$ - 炔基、 $-\text{C}(=\text{O})-\text{CH}_3$  或苄基, 或与  $\text{R}^2$  一起表示以下基团:

$-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{CH}_2-$ ,

且

X 表示  $\text{N}-\text{NO}_2$ 、 $\text{N}-\text{CN}$  或  $\text{CH}-\text{NO}_2$ 。

9. 权利要求 8 的用途, 其中通过暴露于水涝、浸没或淹没将所述低氧或无氧条件带给所述植物。

10. 权利要求 8 的用途, 其中所述植物的根进入培养基内的穿透得以促进。

11. 权利要求 8 的用途, 其中 Het 表示氯取代的吡啶 -3- 基杂环。

## 提高植物对低氧条件抗性的方法

[0001] 本发明提供用于提高植物对低氧或无氧条件抗性的方法。这类方法可用于促进植物根穿透生长培养基或土壤。本发明的方法可包括对植物基因组的修饰,所述修饰通过对植物提供外源胁迫耐受性基因或对应于这类外源基因的内源基因的胁迫耐受性变体。本发明的方法也可包括对植物或其生境,或对其细胞或种子使用新烟碱类化合物 (neonicotinoid compound),例如但不限于吡虫啉 (imidacloprid)、烯啶虫胺 (nitenpyram)、啉虫脒 (acetamiprid)、噻虫啉 (thiacloprid)、噻虫嗪 (thiamethoxam)、可尼丁 (clothianidin) 和呋虫胺 (dinotefuran)。特别有效的新烟碱类化合物是包含氯吡啶 (chloropyridine) 侧链的新烟碱类化合物,例如吡虫啉、烯啶虫胺、啉虫脒和噻虫啉,特别是其在植物中的降解能够释放 6-氯烟酸 (6-chloronicotinic acid, 6-CNA) 的那些新烟碱类化合物,像例如吡虫啉和噻虫啉。植物或其生境也可直接用 6-CNA 处理。

### 背景技术

[0002] 改造为胁迫耐受的植物为本领域所已知。植物细胞和植物的胁迫耐受性可例如通过降低内源聚-ADP-核糖聚合酶 (PARP) 或聚 (ADP-核糖) 糖原水解酶 (PARG) 的活性或水平实现,其分别描述于 W000/04173 和 W004/090140 中。

[0003] 欧洲专利申请 No. 04077624.7 描述了使用下述核苷酸序列例如在植物中过表达来实现植物和植物细胞的胁迫耐受性,所述核苷酸编码参与 NAD 补救合成途径和 / 或 NAD 从头合成途径的酶。

[0004] 然而,这些文件均没有公开使用其中提到的胁迫耐受性基因在植物细胞和植物中获得对低氧或无氧条件的耐受性的可能性。它们也没有公开其中所述胁迫耐受性基因用于下述目的用途:允许植物的根系更深地穿透进入生长培养基或土壤中。

[0005] 除昆虫控制外,新烟碱类化合物在植物中其他目的的应用也是本领域已知的 (W001/26468, W003/096811)。

[0006] W001/26468 公开了改善植物生长的方法,其包括向植物或其所在地应用至少一种选自新烟碱类的化合物。

[0007] W003/096811 描述了在下述地点的农学植物的产量和 / 或活力可以通过用新烟碱类化合物处理植物的种子来提高或改进,所述地点中虫害水平低于所指示的需要使用杀虫剂用于昆虫控制目的的水平。所述方法被认为适用于非转基因植物和具有外源基因的植物,所述外源基因编码经修饰的苏云金杆菌 (*Bacillus thuringiensis*)  $\delta$ -内毒素蛋白质的产生。

[0008] 然而,这些文件均未描述为了提高植物细胞或植物对低氧或无氧条件的耐受性,或允许植物的根系更深地穿透进入生长培养基或土壤的目的,将新烟碱类化合物用于植物的用途。

[0009] 因此,本领域仍未涉及增加植物根系或根进入生长培养基或土壤的穿透深度,或提高植物细胞或植物对低氧或无氧胁迫条件的耐受性的方法,所述方法如下文在不同的实施方案和权利要求中所述使用胁迫耐受性基因,或通过对植物或其细胞使用新烟碱类化合

物。

[0010] 发明概述

[0011] 本发明的一个实施方案提供提高植物细胞或植物对低氧或无氧条件耐受性的新方法,所述方法包括向植物细胞或植物提供胁迫耐受性增强转基因,其中所述胁迫耐受性增强转基因选自:

[0012] - 能够降低植物内源 PARP 基因表达的胁迫耐受性增强转基因,特别是其中所述转基因编码 PARP 抑制性 RNA 分子;

[0013] - 能够降低植物内源 PARG 基因表达的胁迫耐受性增强转基因,特别是其中所述转基因编码 PARG 抑制性 RNA 分子;或

[0014] - 编码烟酰胺腺嘌呤二核苷酸补救合成途径的植物功能酶的胁迫耐受性增强转基因,所述酶选自烟酰胺酶、烟酸盐/酯磷酸核糖基转移酶(nicotinate phosphoribosyltransferase)、烟酸单核苷酸腺嘌呤基转移酶或烟酰胺腺嘌呤二核苷酸合成酶。

[0015] 在另一实施方案中,本发明涉及这类胁迫耐受性增强转基因促进植物根穿透生长培养基(包括土壤)的用途。

[0016] 本发明的另一实施方案提供用于提高植物细胞或植物对低氧或无氧条件耐受性的方法,其包括向植物细胞、植物,或将长成此类植物的种子或其生境使用有效量的新烟碱类化合物。

[0017] 在另一实施方案中,本发明涉及这类化合物促进植物根穿透生长培养基(包括土壤)的用途。

[0018] 本发明还涉及用于提高植物细胞或植物对低氧或无氧条件耐受性的方法,包括将有效量的 6-氯烟酸提供给所述植物的细胞的步骤。

[0019] 本发明还涉及 6-CNA 用于促进植物根穿透进入生长培养基中的用途。

## 附图说明

[0020] 图 1:测量生长于琼脂溶液中的植物根深的测定法的示意图。用透明的或半透明的生长培养基(3)填充带有封口(2)的容器(1),所述生长培养基为例如 0.4%的琼脂-水或 0.7%的琼脂-水,其中可添加额外的测试化合物。向管中加入一粒预萌发的种子,并允许其生长三周。在垂直位置生长三周后,从培养基顶部到根的最低点测量植物(4)的根深(5)。

[0021] 图 2:拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)cv. Col-0 植物根深(mm)的箱状图示,所述植物与非转基因拟南芥植物(Col-0)相比包含转基因,所述转基因编码能够降低内源 PARP2 基因表达的 dsRNA 分子。

[0022] 分析以下种群:

[0023] • Col-0:数据指示野生型拟南芥株系

[0024] • 427-16:数据指示对强光胁迫条件具有弱耐受性的包含抗 PARP2 基因的拟南芥转基因株系

[0025] • 427-20:数据指示对强光胁迫条件具有弱耐受性的包含抗 PARP2 基因的拟南芥转基因株系

[0026] • 427-19 :数据指示对强光胁迫条件具有中等耐受性的包含抗 PARP2 基因的拟南芥转基因株系

[0027] 该图左侧表示了各组值的代表性箱状图（或箱状图和须盒图），所述值总结了以下的统计学测量：

[0028] - 中位数

[0029] - 上四分位和下四分位数

[0030] - 最小和最大数据值。

[0031] 另外，在各组数值的右边，指示这些数值的均值和均值标准差。

[0032] 箱状图解释如下：

[0033] - 箱自身包含中间 50% 的数据。箱的上缘（接合处）指出数据集的第 75 百分位数，下接合处指出第 25 百分位数。中间两个四分位数的范围已知为四分位数间距。

[0034] - 箱中的线指示数据的中位值。

[0035] - 须的末端指示最大和最小的数据值，存在异常值（outlier）的情况除外，在这种情况下须延伸至在 1.5 倍四分位数间距的范围内最近的值点。

[0036] 图 3 :拟南芥 cv. Col-0 植物根深 (mm) 测量值的箱状示意图和均值标准差，所述植物包含转基因，所述转基因编码能够降低内源 PARP 基因表达的 dsRNA 分子。

[0037] 分析以下种群：

[0038] • Col-0 :数据指示野生型拟南芥株系

[0039] • 427-22 :数据指示对强光胁迫条件具有高耐受性的包含抗 PARP2 基因的拟南芥转基因株系

[0040] • 427-24 :数据指示对强光胁迫条件具有低耐受性的包含抗 PARP2 基因的拟南芥转基因株系

[0041] 图 4 :拟南芥 cv. C24 植物根深 (mm) 测量值的箱状示意图和均值标准差，所述植物包含转基因，所述转基因编码能够降低内源 PARP 基因表达的 dsRNA 分子。

[0042] 分析了以下种群：

[0043] • C24 :数据指示野生型拟南芥株系

[0044] • 1599 :数据指示对强光胁迫条件具有高耐受性的包含抗 PARP2 基因的拟南芥转基因株系

[0045] • 1463 :数据指示对强光胁迫条件具有中等耐受性的包含抗 PARP2 基因的拟南芥转基因株系

[0046] • 1681 :数据指示对强光胁迫条件具有中等耐受性的包含抗 PARP1 基因的拟南芥转基因株系

[0047] • 1690 :数据指示对强光胁迫条件具有中等耐受性的包含抗 PARP1 基因的拟南芥转基因株系

[0048] 图 5 :对待分离抗 PARP2 转基因的拟南芥 Col-0 种群测量的根深 (mm) 测量值的箱状示意图和均值标准差。

[0049] 分析了以下的种群：

[0050] • 不成对的 (Azygous) :数据指示来自不含有抗 PARP2 基因的种群的拟南芥植物

[0051] • 转基因的 :数据指示来自含有抗 PARP2 基因的种群的拟南芥植物

[0052] 图 6 :用多种浓度的吡虫啉处理的拟南芥 cv. C24 植物与未处理的拟南芥 cv. C24 植物相比,根深 (mm) 测量值的箱状示意图和均值标准差。

[0053] 分析了以下的种群 :

[0054] • 0 :未处理的拟南芥 C24 植物

[0055] • 50 :用 50 毫克 / 升吡虫啉处理的拟南芥 C24 植物

[0056] • 100 :用 100 毫克 / 升吡虫啉处理的拟南芥 C24 植物

[0057] 图 7 :用多种浓度的 6- 氯烟酸处理的拟南芥 cv. C24 植物与未处理的拟南芥 cv. C24 植物相比,根深 (mm) 测量值的箱状示意图和均值标准差。

[0058] 分析了以下的种群 :

[0059] • 0 :未处理的拟南芥 C24 植物

[0060] • 1 :用 1 毫克 / 升 6- 氯烟酸处理的拟南芥 C24 植物

[0061] • 5 :用 5 毫克 / 升 6- 氯烟酸处理的拟南芥 C24 植物

[0062] 发明详述

[0063] 本发明基于以下的认识 :包含胁迫耐受性基因 (例如编码下述 dsRNA 的嵌合基因, 所述 dsRNA 目的在于使植物 *parp1* 或 *parp2* 基因的表达沉默) 的植物产生了下述根系, 所述根系的根与对照植物的根相比伸入生长培养基中更深。如现有技术所述, 包含胁迫耐受性基因的植物根穿透更深的现象仍未被注意, 并需要开发如本文所述的具体测定法用于统计学分析根进入培养基的穿透性。

[0064] 尽管不意图将本发明限制于具体的作用方式, 仍认为胁迫耐受性基因提高植物细胞的耐受性 (包括根的植物细胞对低氧和无氧条件的耐受性), 从而允许包含这类胁迫耐受性基因的根在较不良的氧条件下生长, 如可在生长培养基的更深区域或更深的土壤层中发现, 那里氧张力更低。植物根系进入更深土壤层的提高的穿透性部分地解释了在野外条件下对含有本文所述胁迫耐受性基因 (例如下述 dsRNA, 所述 dsRNA 编码使内源 *parp1* 或 *parp2* 基因表达沉默的基因) 所观察到的植物提高的干旱抗性。

[0065] 添加新烟碱类化合物或 6- 氯烟酸后, 可在所述测定法中观察到根伸长的类似效应。新烟碱类的使用对根生长深度的效应与昆虫的存在无关, 所述昆虫是上述新烟碱类的靶标。因此, 该效应也与植物或植物细胞或长成植物的种子的胁迫耐受性 (特别是与低氧或无氧相关的胁迫耐受性) 的生物化学改良相关。

[0066] 因此, 在第一个实施方案中, 本发明指向胁迫耐受性增强转基因提高植物细胞、植物或种子对低氧或无氧条件的耐受性的用途。

[0067] 本文使用的“低氧或无氧条件”是指植物细胞、植物或这类植物的部分所暴露的条件, 其中氧的可用性低或非常低。无氧条件是指几乎不能获得氧的条件。一般地, 溶解氧浓度低于约 2 毫克 / 升的条件被称为低氧 (0.1 毫克 / 升到 2 毫克 / 升), 溶解氧低于 0.1 毫克 / 升, 特别是低于 0.05 毫克 / 升的条件被称为无氧。水中正常溶解的氧浓度为约 8 毫克 / 升。土壤中的低氧条件是指氧张力低的条件, 特别是土壤大气中氧降至低于 5% 的条件。

[0068] 低氧条件可发生于植物或植物部分被淹没时。低氧条件还可发生于氧消耗高时, 例如在包含大量微生物代谢过程中的有机碎屑的土壤层中。另外, 低氧条件发生于生长培养基的较深层, 其中氧从表面发生扩散。低氧条件还发生于土壤较深层, 因为氧扩散和导致的氧张力比表面降低。氧减少的速率取决于土壤的紧密度 (compactness) (土壤越紧密, 存

在的土壤大气越少)、分解中的有机材料的存在、水含量等。

[0069] 本文使用的“胁迫耐受性增强转基因”是指这样的转基因,即当所述转基因被引入植物细胞或植物中,或在植物细胞或植物中表达时,给细胞或植物提供更好的胁迫耐受性,所述胁迫耐受性例如通过使用化合物(除草剂、杀真菌剂、杀虫剂、植物生长调节剂、佐剂、肥料)、暴露于非生物胁迫(例如干旱、水涝、淹没、强光条件、强UV辐射、提高的过氧化氢水平、极端(高或低)温度、臭氧及其他大气污染物、土壤盐度或重金属、低氧、无氧等等)或生物胁迫(例如病原体或害虫感染,包括真菌感染、病毒感染、细菌感染、昆虫感染、线虫感染、支原体感染和支原体样生物感染等)而被赋予植物。

[0070] 这类胁迫耐受性增强转基因可以是如 W000/04173 或 EP04077984.5(在本文引用作为参考)中所述的,能够降低植物细胞或植物中多聚(ADP-核糖)聚合酶(PARP)基因的表达和/或活性的转基因。

[0071] 多聚(ADP-核糖)聚合酶(PARP)也称为多聚(ADP-核糖)转移酶(ADPRT)(EC 2.4.2.30),是发现于多数真核生物中的核酶,所述真核生物包括脊椎动物、节肢动物、软体动物、粘菌类(slime mould)、沟鞭藻类(dinoflagellates)、真菌和除酵母外的其他低等真核生物。所述酶活性也已在大量植物中得到证明(Payne 等人,1976;Willmitzer 和 Wagner, 1982;Chen 等人,1994;O' Farrell,1995)

[0072] PARP 主要催化来自  $NAD^+$  的 ADP-核糖部分向靶蛋白中谷氨酸残基的羧基的转化,以及随后的 ADP-核糖聚合作用。主要的靶蛋白是 PARP 自身,但是组蛋白、高迁移率类染色体蛋白质(high mobility group chromosomal protein)、拓扑异构酶、内切核酸酶和 DNA 聚合酶也显示为可受到此修饰。

[0073] 作为具体的实施方案,胁迫耐受性增强转基因可包含以下有效连接的 DNA 片段:

[0074] a) 植物可表达的启动子;

[0075] b) 被转录后得到下述 RNA 分子的 DNA 区,所述 RNA 分子(PARP 抑制性 RNA 分子)能够降低植物的内源 PARP 编码基因的表达;

[0076] c) 参与转录终止和多聚腺苷酸化的 DNA 区。

[0077] 所述 DNA 区转录后可产生所谓的反义 RNA 分子,所述反义 RNA 分子以转录方式或转录后方式降低靶植物或靶植物细胞中 PARP 编码基因的表达,所述反义 RNA 分子包含至少 20 或 21 个连续的核苷酸,所述连续核苷酸与所述植物细胞或植物中存在的 PARP 编码基因核苷酸序列的互补序列具有至少 95%到 100%的序列同一性。

[0078] 所述 DNA 区还可产生所谓的有义 RNA 分子,所述有义 RNA 分子以转录方式或转录后方式降低靶植物或靶植物细胞中 PARP 编码基因的表达,所述有义 RNA 分子包含至少 20 或 21 个连续的核苷酸,所述连续核苷酸与所述植物细胞或植物中存在的 PARP 编码基因的核苷酸序列具有至少 95%到 100%的序列同一性。

[0079] 然而,约 20nt 的 PARP 编码区的反义或有义 RNA 区的最小核苷酸序列可以包含在更大的 RNA 分子中,所述更大 RNA 分子的大小在 20nt 到与靶基因尺寸相等的长度间变化。因此,所述反义或有义核苷酸区可以是约 21nt 到约 5000nt 长,例如长度为 21nt、40nt、50nt、100nt、200nt、300nt、500nt、1000nt、2000nt 或甚至约 5000nt 或更长。另外,本发明的目的不要求所使用的抑制性 PARP RNA 分子的核苷酸序列或转基因的编码区与内源 PARP 基因完全相同或互补,所述内源 PARP 基因的表达被靶向以在植物细胞中降低。序列越长,



对整体序列同一性的要求越不严格。因此,有义或反义区可以具有与内源 PARP 基因或其互补序列的核苷酸序列约 40%或 50%或 60%或 70%或 80%或 90%或 100%的整体序列同一性。然而如前文所述,反义或有义区应当包含 20 个连续核苷酸的核苷酸序列,其与内源 PARP 基因的核苷酸序列具有约 100%的序列同一性。优选地,约 100%序列同一性的一段序列应当是约 50、75 或 100nt。

[0080] 就本发明的目的而言,以百分比表示的两个相关核苷酸序列的“序列同一性”是指两个最佳比对的序列中具有相同残基的位置数除以所比较的位置数( $\times 100\%$ )。空位被认为是具有不相同残基的位置,即一个序列存在残基而另一个序列中不存在该残基的比对中的位置。两个序列的比对通过 Needleman 和 Wunsch 算法 (Needleman 和 Wunsch 1970) 计算机辅助序列比对进行,可使用标准软件程序如 GAP(其为 Wisconsin Package 10.1 版本 (Genetics Computer Group, Madison, Wisconsin, 美国)的一部分),使用默认评分矩阵(空位产生罚分 50 和空位延伸罚分 3)来便利地进行。

[0081] 应当明白一旦参照相应 DNA 分子的核苷酸序列定义 RNA 分子的核苷酸序列时,核苷酸序列中的胸腺嘧啶 (T) 应当用尿嘧啶 (U) 代替。本申请的上下文会明确是参照用 RNA 还是 DNA。

[0082] 上述转基因降低内源 PARP 基因表达的效力可以通过包含 DNA 元件而被进一步增强,所述 DNA 元件导致异常的、未多聚腺苷酸化的 PARP 抑制性 RNA 分子的表达。适用于该目的的一个这类 DNA 元件为如 W000/01133A1 中所述的编码自我剪接核酶的 DNA 区。

[0083] 如 W099/53050A1 中所述,上述转基因降低植物细胞内源 PARP 基因表达的效力还可通过如下方式进一步增强:在一个植物细胞中同时包括本文所述编码反义 PARP 抑制性 RNA 分子的转基因和本文所述编码有义 PARP 抑制性 RNA 分子的转基因,其中所述反义和有义 PARP 抑制性 RNA 分子能够通过所述至少 20 个连续核苷酸之间的碱基配对形成双链 RNA 区。

[0084] 如在 W099/53050A1 中所进一步描述的,能够形成双链 RNA 区的有义和反义 PARP 抑制性 RNA 区可以存在于一个 RNA 分子中,优选地被间隔区分离。间隔区可包含内含子序列。这类转基因可如下所述便利地构建:将反向重复序列中包含来自分离的或鉴定的内源 PARP 基因的至少 20 个核苷酸的 DNA 片段(其表达被靶向降低)与植物可表达的启动子和参与转录终止和多聚腺苷酸化的 3' 末端形成区有效地连接。为了实现这类转基因的构建,可使用 W002/059294A1 中描述的载体。

[0085] 现有的命名法将经典的含锌指的聚合酶称作 PARP1 蛋白质(和相应的 *parp1* 基因),而结构上非经典的 PARP 蛋白质现在被称为 PARP2(和相应的 *parp2* 基因),本文使用的“PARP 编码基因”可指二者中的任一类型。

[0086] 以下的实验性鉴定证实的和假定的多聚 ADP-核糖聚合酶蛋白质序列、其部分或同源序列的数据库登录号(在本文引用作为参考)可以根据本发明使用:BAD53855(稻 (*Oryza sativa*));BAD52929(稻);XP\_477671(稻);BAC84104(稻);AAT25850(玉米 (*Zea mays*));AAT25849(玉米);NP\_197639(拟南芥);NP\_850165(拟南芥);NP\_188107(拟南芥);NP\_850586(拟南芥);BAB09119(拟南芥);AAD20677(拟南芥);Q11207(拟南芥);C84719(拟南芥);T51353(拟南芥);T01311(拟南芥);AAN12901(拟南芥);AAM13882(拟南芥);CAB80732(拟南芥);CAA10482(拟南芥);AAC79704(玉米);AAC19283(拟南芥);

CAA10888(玉米);CAA10889(玉米);CAA88288(拟南芥)。

[0087] 作为本发明具体的实施方案,降低 PARP 基因表达的基因可包含以下有效连接的 DNA 片段:

[0088] a) 植物可表达的启动子;

[0089] b) 被转录后产生 RNA 分子的 DNA 区,所述 RNA 分子包含:

[0090] a. 反义核苷酸序列,其包含至少约 20 个连续的核苷酸,所述连续的核苷酸与选自以下的约 20 个连续核苷酸的核苷酸序列具有约 96% 的序列同一性:SEQ ID 1(拟南芥 parp1 编码区)、SEQ ID 2(拟南芥 parp 2 编码区)、SEQ ID 3(玉米 parp1 编码区)、SEQ ID 4(另一玉米 parp1 编码区)、SEQ ID 5(玉米 parp2 编码区)或 SEQ ID 6(棉花 parp2 部分 cDNA)的核苷酸序列或编码蛋白质的核苷酸序列,所述蛋白质具有与所述核苷酸序列编码的氨基酸序列相似或相同的氨基酸序列。

[0091] b. 有义核苷酸序列,其包含至少约 20 个与反义核苷酸序列互补的核苷酸。因此,有义核苷酸序列可包含至少约 20 个连续核苷酸的序列,所述序列与选自以下的约 20 个连续核苷酸的核苷酸序列具有约 96% 的序列同一性:SEQ ID 1(拟南芥 parp1 编码区)、SEQ ID 2(拟南芥 parp 2 编码区)、SEQ ID 3(玉米 parp1 编码区)、SEQ ID 4(另一玉米 parp1 编码区)、SEQ ID 5(玉米 parp2 编码区)或 SEQ ID 6(棉花 parp2 部分 cDNA)的核苷酸序列或编码蛋白质的核苷酸序列,所述蛋白质具有与所述核苷酸序列编码的氨基酸序列相似或相同的氨基酸序列;

[0092] 其中有义和反义核苷酸序列能够形成双链 RNA 分子(dsRNA);

[0093] c) 用于转录终止和多聚腺苷酸化的 DNA 区。

[0094] 然而,应当明白可使用如 W000/04173 或 EP04077984.5 中描述的其他降低 PARP 基因表达的基因。

[0095] 在本发明的另一实施方案中,胁迫耐受性增强转基因可以是能够降低植物或植物细胞的 PARG 编码基因表达和/或活性的转基因,如 W02004/090140(在本文引用作为参考)中所述。

[0096] PARG(多聚(ADP-核糖)糖原水解酶;E. C. 3. 2. 1. 143)通过其外切糖苷酶和内切糖苷酶活性(PARG)将聚(ADP-核糖)聚合物转化为游离的 ADP-核糖。

[0097] 在植物中,通过基于基因图谱对野生型基因的克隆而鉴定了聚(ADP-核糖)糖原水解酶在突变体中失活,所述突变体受到拟南芥中时钟控制基因转录和从植物性生长到开花的光周期依赖性转换(tej)的影响。该基因的核苷酸序列可以在登录号 AF394690(Panda 等人,2002 Dev. Cell. 3,51-61;SEQ ID No 7)下从核苷酸数据库中获得。

[0098] 其他来自植物的植物 PARG 编码基因的核苷酸序列以及从其他植物分离其他 PARG 编码基因及其变体的方法可见于 W02004/090140A2,该核苷酸序列例如来自马铃薯(Solanum tuberosum)的 PARG 基因(SEQ ID No8);稻(SEQ ID No 9)或玉米(SEQ ID No 10)。

[0099] 因此,在一个实施方案中,被改造为抗胁迫的植物或植物细胞可包含以下有效连接的 DNA 片段:

[0100] a) 植物可表达的启动子;

[0101] b) 当被转录后产生抑制性 RNA 分子的 DNA 区,所述 RNA 分子包含:

[0102] i. 反义核苷酸区,其包含至少约 20 个连续的核苷酸,所述连续的核苷酸与选自以下的约 20 个连续核苷酸的核苷酸序列具有至少 96% 的序列同一性:编码植物 PARG 蛋白的核苷酸序列(例如 SEQ ID 7、SEQ ID 8、SEQ ID 9 或 SEQ ID 10 的核苷酸序列)的互补序列,或编码蛋白质的核苷酸序列,所述蛋白质具有与所述核苷酸序列相似或相同的氨基酸序列;或

[0103] ii. 有义核苷酸区,其包含至少约 20 个选自以下的连续核苷酸:编码植物 PARG 蛋白的核苷酸序列(例如 SEQ ID 7、SEQ ID 8、SEQ ID 9 或 SEQ ID 10 的核苷酸序列),或编码蛋白质的核苷酸序列,所述蛋白质具有与所述核苷酸序列相似或相同的氨基酸序列;或

[0104] iii. 如 i) 或 ii) 所述的反义和有义核苷酸序列,其中所述反义和有义核苷酸序列能够形成双链 RNA 分子;

[0105] c) 参与转录终止和聚腺苷酸化的 DNA 区。

[0106] 本领域技术人员将立刻可以明白,有义和反义核苷酸序列或 dsRNA 分子的长度,以及 ParG 抑制性 RNA 分子的序列同一性的其他参数可如上所述用于 PARP 抑制性 RNA 分子。

[0107] 本发明的另一实施方案中,胁迫耐受性增强转基因可以是编码烟酰胺腺嘌呤二核苷酸补救合成途径的植物功能酶的转基因。因此,胁迫耐受性增强基因可包含以下如 EP04077624.7 中所述(在本文引用作为参考)的有效连接的 DNA 分子:

[0108] a) 植物可表达的启动子;

[0109] b) 编码烟酰胺腺嘌呤二核苷酸补救合成途径的植物功能酶的 DNA 区,所述酶选自烟酰胺酶、烟酸盐/酯磷酸核糖基转移酶、烟酸单核苷酸腺嘌呤基转移酶或烟酰胺腺嘌呤二核苷酸合成酶;和

[0110] c) 参与转录终止和聚腺苷酸化的 3' 末端区。

[0111] 本文使用的“烟酰胺腺嘌呤二核苷酸补救合成途径的植物功能酶”是这样的酶,即当将其引入植物中、与合适的调控元件(例如植物可表达的启动子和终止子区)连接后能够在植物细胞中被转录并翻译而产生有功能的 NAD 补救合成途径的酶。该酶包括得自植物来源的来自 NAD 补救合成的酶(和编码基因),以及得自酵母(酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*))或得自其他酵母或真菌的酶。认为后面的蛋白质甚至可更适用于本发明的方法,因为它们较不可能受到酶反馈调节等,而类似的来自植物的酶可受到所述调节。

[0112] 参与 NAD 补救合成途径的酶包括以下:

[0113] - 烟酰胺酶(EC 3.5.1.19),其催化烟酰胺的酰胺基水解,从而释放烟酸根和 NH<sub>3</sub>。该酶也已知为烟酰胺脱氨酶、烟酰胺酰胺酶、YNDase 或烟酰胺酰胺水解酶;

[0114] - 烟酸盐/酯磷酸核糖基转移酶(EC 2.4.2.11),其也已知为烟酸核糖核苷酸酶、烟酸单核苷酸糖原水解酶;烟酸单核苷酸焦磷酸化酶;烟酸磷酸核糖基转移酶;其催化以下反应

[0115] 烟酸盐/酯 -D- 核糖核苷酸 + 二磷酸盐 = 烟酸盐/酯 + 5- 磷酸 -  $\alpha$  -D 核糖 1- 二磷酸盐

[0116] - 烟酸核苷酸腺苷酰基转移酶(EC 2.7.7.18) 也已知为去酰胺 -NAD<sup>+</sup> 焦磷酸化酶;烟酸单核苷酸腺苷酰基转移酶;去酰胺烟酰胺腺嘌呤二核苷酸焦磷酸化酶;NaMT-ATase;

烟酸单核苷酸腺苷酰基转移酶；其催化以下反应

[0117]  $ATP + \text{烟酸核糖核苷酸} = \text{二磷酸盐} + \text{去酰胺基-NAD}^+$

[0118] -NAD- 合酶 (EC 6.3.1.5), 也已知为 NAD 合成酶; NAD<sup>+</sup> 合酶; 烟酰胺腺嘌呤二核苷酸合成酶; 二磷酸吡啶核苷酸合成酶; 其催化以下反应

[0119]  $\text{去酰胺基-NAD}^+ + ATP + NH_3 = AMP + \text{二磷酸盐} + NAD^+$

[0120] 在本发明的一个实施方案中, 编码 NAD 补救合成途径的植物功能酶的 DNA 区可包含来自 SEQ ID No11、12、13、14 或 15 的核苷酸序列或编码下述蛋白质的核苷酸序列, 所述蛋白质具有与上述核苷酸序列所编码的蛋白质相似或相同的氨基酸序列。

[0121] 如 Hunt 等, 2004 所述, 这些酶的植物同源物已被鉴定, 且这些 DNA 序列可被用于相似的效应 (Hunt 等人, 2004, *New Phytologist* 163(1):31-44)。经鉴定的 DNA 序列具有以下的登录号: 烟酰胺酶为 At5g23220 (SEQ ID No 16); At5g23230 (SEQ ID No 17) 和 At3g16190 (SEQ ID No 18); 烟酸盐 / 酯磷酸核糖基转移酶为 At4g36940 (SEQ ID No 19)、At2g23420 (SEQ ID No 20), 烟酸单核苷酸腺嘌呤基转移酶为 At5g55810 (SEQ ID No 21), NAD 合成酶为 At1g55090 (SEQ ID No 22)。

[0122] 然而, 应当明白被改造为抗胁迫的植物也可包含这些核苷酸序列的变体, 其包括插入、缺失和取代。同样的, 可使用来自除酿酒酵母以外物种的所述核苷酸序列的同源物。这些包括但不限于来自植物的核苷酸序列, 和编码具有相同氨基酸序列的蛋白质的核苷酸序列, 以及这类核苷酸序列的变体。

[0123] 所述核苷酸序列的变体与经鉴定的核苷酸序列 (其编码来自 NAD 补救途径的酶, 例如序列中鉴别的序列) 应具有优选至少约 80%, 或 85% 或 90% 或 95% 的序列同一性。优选这些变体将编码功能性蛋白质, 其具有与来自 NAD 补救途径的酶相同的酶活性。

[0124] 阅读上文对胁迫耐受性增强转基因提高植物细胞、植物或种子对低氧或无氧条件耐受性的本发明用途的描述后, 本领域技术人员会立刻明白可使用对应这类胁迫耐受性增强转基因的内源基因的变体获得相似的效应, 所述变体使得带有这类变体的植物细胞或植物有更高的胁迫耐受性。举例而言, 植物内源 *parp2* 基因的变体 (其具有更低的表达水平, 并给具有该变体的植物提供提高的胁迫耐受性) 可以以与降低内源 *parp2* 基因表达的转基因相似的方式使用。这类变体基因可通过育种技术被引入植物细胞或植物。

[0125] 本领域技术人员也会明白不同胁迫耐受性增强基因或转基因的表达可引起一群不同的事件, 这显示不同的效应分布——从几乎没有效应到非常显著的效应。然而, 本领域技术人员显然能够区分、鉴别或分离最适应需要的群体代表。

[0126] 另一实施方案本发明提供用于促进植物根穿透进入生长培养基或土壤的方法, 其包括对植物提供胁迫耐受性增强转基因或这些胁迫耐受性增强转基因的内源变体, 如本文在其不同的实施方案中所述的那些。

[0127] 本文使用的“植物根伸长”或“植物根穿透进入生长培养基或土壤”是指从生长培养基表面到根的最低点所测量的根在固体生长培养基 (包括土壤) 中生长的深度 (也参见图 1)。

[0128] 通常, “植物根伸长或穿透的提高”是指从培养基表面到根生长的最低点所测量的生长培养基中根生长深度的至少统计学显著的提高, 其也可测量为野生型参照植物根深与被改造为胁迫耐受的植物根深的比较中的差异, 或测量为用特别的化合物处理的植物根深

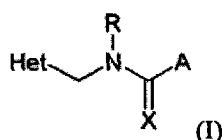
与未处理植物根深的比较中的差异。

[0129] 为了正确理解本发明,明白以下内容是重要的:通过本发明方法达到的植物根系更深地穿透进入生长培养基或土壤中不等于根系在体积或干重或鲜重上的提高。事实上,根系的体积可被显著提高,但是根全部处在生长培养基或土壤表面下非常浅表处。相反,根据本发明处理的植物根在尺寸、体积、重量或甚至长度上可以是相等的,但是更深地伸入生长培养基或土壤的表面下。

[0130] 本文使用的“生长培养基”旨在涉及适用于植物生长的任何培养基,包括土壤。这类培养基包括固化的或凝胶化的液体,例如水-琼脂、泥炭(peat)、草炭(turf)、不同类型的土壤等。

[0131] 在另一实施方案中,本发明指向新烟碱类化合物提高植物细胞、植物或种子对低氧或无氧条件耐受性的用途。因此,本发明提供用来提高植物细胞、植物或种子对低氧或无氧条件耐受性的方法,其包括对植物细胞、植物、种子或植物的生境或对生长培养基使用有效量的式(I)的新烟碱类化合物的步骤。

[0132]



[0133] 其中

[0134] Het 表示杂环,所述杂环在各情况下任选被氟、氯、甲基或乙基单取代或多取代,所述杂环选自下组杂环:

[0135] 吡啶-3-基、吡啶-5-基、3-吡啶基(pyridinio)、1-氧化-5-吡啶基(1-oxido-5-pyridinio)、四氢呋喃-3-基、噻唑-5-基,

[0136] A 表示  $\text{C}_1\text{-C}_6$ -烷基、 $-\text{N}(\text{R}^1)(\text{R}^2)$  或  $\text{S}(\text{R}^2)$ ,

[0137] 其中

[0138]  $\text{R}^1$  表示氢、 $\text{C}_1\text{-C}_6$ -烷基、苯基- $\text{C}_1\text{-C}_4$ -烷基、 $\text{C}_3\text{-C}_6$ -环烷基、 $\text{C}_2\text{-C}_6$ -链烯基或  $\text{C}_2\text{-C}_6$ -炔基,且

[0139]  $\text{R}^2$  表示  $\text{C}_1\text{-C}_6$ -烷基、 $\text{C}_2\text{-C}_6$ -链烯基、 $\text{C}_2\text{-C}_6$ -炔基、 $-\text{C}(=\text{O})-\text{CH}_3$  或苄基,

[0140] R 表示氢、 $\text{C}_1\text{-C}_6$ -烷基、 $\text{C}_2\text{-C}_6$ -链烯基、 $\text{C}_2\text{-C}_6$ -炔基、 $-\text{C}(=\text{O})-\text{CH}_3$  或苄基,或与  $\text{R}^2$  一起表示以下基团:

[0141]  $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{C}_6\text{H}_5-$ , 且

[0142] X 表示  $\text{N}-\text{NO}_2$ 、 $\text{N}-\text{CN}$  或  $\text{CH}-\text{NO}_2$ 。

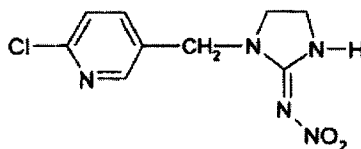
[0143] 在每种情况下,只要可能,饱和的或不饱和的烃基(例如烷基或链烯基)可以是直链的或支链的,其包括与杂原子组合例如烷氧基。

[0144] 这些化合物已知具有杀昆虫的活性(参阅例如 EP-A1-192606、EP-A2-580533、EP-A2-376279、EP-A2-235725)。

[0145] 可以被提到的式(I)的化合物为“*The Pesticide Manual*”,第13版,2003(British Crop Protection Council)中所列的新烟碱类。

[0146] 一种化合物为例如从 EP A1 0192060 已知的式

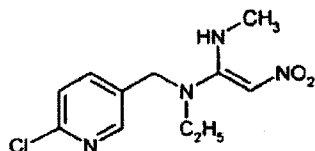
[0147]



[0148] 的吡虫啉。

[0149] 另一种化合物为例如从 EPA20302389 已知的式

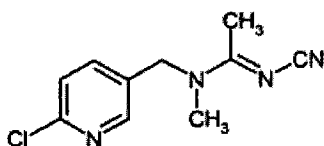
[0150]



[0151] 的烯啶虫胺。

[0152] 另一种化合物为从例如 WO A191/04965 已知的式

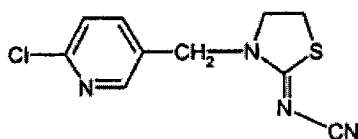
[0153]



[0154] 的啉虫脒。

[0155] 另一种化合物为例如从 EPA20235725 已知的式

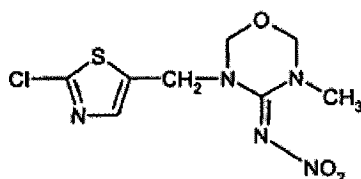
[0156]



[0157] 的噻虫啉。

[0158] 另一种化合物是例如从 EPA20580553 已知的式

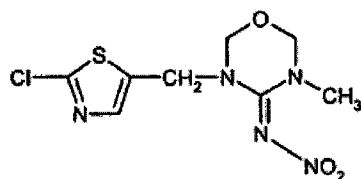
[0159]



[0160] 的噻虫嗪。

[0161] 另一种化合物是例如从 EPA20376279 已知的式

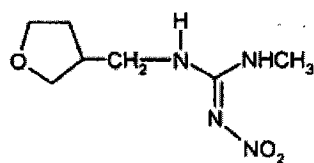
[0162]



[0163] 的可尼丁。

[0164] 另一种化合物是例如从 EPA10649845 已知的式

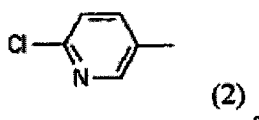
[0165]



[0166] 的呋虫胺。

[0167] 特别适用于本发明的是式 (2) 的化合物, 其中取代基 "Het" 表示氯吡啶基, 例如吡虫啉、烯啶虫胺、啉虫脒和噻虫啉

[0168]



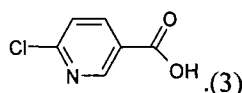
[0169] 特别优选的化合物是吡虫啉和噻虫啉。

[0170] 在上述带有 6-氯烟酸基团的新烟碱类 (例如吡虫啉、烯啶虫胺和噻虫啉) 的降解中, 6-氯烟酸可被释放。例如, 吡虫啉被逐步降解为初级代谢产物 6-氯烟酸, 其最后降解为二氧化碳。发现该代谢物也促进植物或植物细胞或长成此类植物的种子的胁迫耐受性和健康, 所述植物或植物细胞或长成此类植物的种子被改造为耐胁迫, 并也可根据本发明的方法使用。

[0171] 确定上述新烟碱类在植物中或特定植物中降解时是否释放 6-CNA 的一种方法由 Placke 和 Weber 描述 (Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer46/1993, 2 109-182)。

[0172] 因此, 在本发明的另一实施方案中, 描述了可用于提高植物细胞或植物或其部分对低氧或无氧条件耐受性的方法, 所述方法包括步骤: 对所述植物, 对植物细胞或对长成所述植物的种子提供有效量的式 (3)

[0173]



[0174] 的 6-氯烟酸 (烟酸, CAS NO :5326-23-8)。

[0175] 可通过向植物细胞、植物、种子和 / 或其生境直接应用式 (3) 的化合物来向植物细胞、植物或种子提供有效量的 6-氯烟酸。然而, 也可通过提供化合物 (例如上述化合物) 向植物提供 6-CNA, 所述化合物可被植物代谢产生代谢物 6-CNA。

[0176] 应当立刻明白上述化合物也可被用于提高植物根穿透进入生长培养基或土壤中, 其包括步骤: 向植物细胞、植物或种子或向植物的生境或向生长培养基提供有效量的式 (I) 的新烟碱类化合物 (例如包含氯吡啶侧链的式 (I) 的新烟碱类化合物, 特别是能够在植物中被代谢产生 6-can, 包含氯吡啶侧链的式 (I) 的新烟碱类化合物, 包括吡虫啉或噻虫啉), 或向植物细胞、植物或种子或向植物的生境或向生长培养基提供 6-CNA。

[0177] 本发明的优点之一在于本发明化合物和包含所述化合物的组合物的全身性特性, 即用这些组合物处理植物的种子就足够促进萌发中的植物和萌发后产生的植物的根伸长。

[0178] 在本发明的另一实施方案中, 描述了适用于促进植物根伸长的方法, 其包括向所述植物和 / 或其生境、向植物细胞或长成所述植物的种子应用有效量的组合物, 所述组合物包含式 (I) 的化合物。

[0179] 因此, 本发明还涉及组合物, 所述组合物包含用于本发明的这类组合物用途的式

(I) 化合物。

[0180] 式 (I) 的化合物也可用于与其他活性化合物 (例如商业有用制剂形式的或从这类制剂制备的应用形式的杀虫剂、杀细菌剂、杀螨剂、杀真菌剂等) 的混合物中。可进行混合以获得下述组合物, 所述组合物除了根据本发明促进植物根伸长外, 也抗可能存在的害虫。可以使用的杀虫剂例如为有机磷剂、氨基甲酸酯剂、羧化物类化学品、氯化烃类化学品、通过微生物产生的杀虫物质等。

[0181] 在许多情况下, 这引起协同效应, 即混合物的活性超出单个成分的活性。这类制剂和应用形式在商业和生态学上是特别有用的, 因为通常可以使用更低量的活性成分。但是, 增效剂本身不必须有活性, 只要其能够增强活性化合物的作用即可。

[0182] 与其他已知活性化合物 (例如除草剂) 或与安全剂、肥料和生长调节剂的混合物也是可能的。

[0183] 根据本发明用活性化合物对植物和植物部分的处理是直接进行的, 或通过常规处理方法允许化合物对其周边、环境或储存空间起作用, 所述常规处理方法例如通过浸入、喷雾、蒸发、雾化、分散、涂抹, 和在繁殖材料的情况下 (特别是在种子的情况下) 还通过应用一层或多层涂层。

[0184] 活性化合物可以被转化为常规制剂, 例如溶液剂、乳剂、可湿性散剂、混悬剂、粉剂、粉尘、糊剂、可溶性散剂、颗粒剂、悬浮液-乳剂浓缩物、浸渍过活性化合物的天然和合成材料, 以及聚合物物质中的微胶囊。

[0185] 本发明活性化合物在商业有用制剂或应用形式中的含量可在宽泛的范围内变化。从商业制剂制备的使用形式的活性化合物含量可在宽泛的限定内变化。

[0186] 这些制剂以已知的方式提供, 例如通过将活性化合物与补充剂 (即液体溶剂和/或固体载体) 混合, 任选地使用表面活性剂 (即乳化剂和/或分散剂) 和成泡剂。

[0187] 如果使用的补充剂为水, 也可能使用例如有机溶剂作为助溶剂。本质上, 合适的液体溶剂为: 芳香剂 (如二甲苯、甲苯或烷基萘), 氯化的芳香剂或氯化的脂肪烃如氯苯、氯乙烯或二氯甲烷; 脂肪烃如环己烷或石蜡, 例如石油级分、矿物质和植物油; 醇如丁醇或二醇及其醚和酯; 酮如丙酮、甲基乙基酮、甲基异丁基酮或环己酮; 强极性溶剂如二甲基甲酰胺和二甲基亚砷, 以及水。

[0188] 合适的固体载体为: 例如铵盐和地面天然矿物质如高岭土、粘土、滑石、白垩、石英、石绒、蒙脱土或硅藻土, 以及地面合成矿物质如高度分散的二氧化硅、氧化铝和硅酸盐; 用于颗粒的合适固体载体为: 例如被压碎并分级的天然石头如方解石、大理石、浮石、海泡石和白云石, 还有无机和有机粉的合成颗粒, 以及有机材料 (如锯屑、椰壳、玉米棒子和烟草茎) 的颗粒; 合适的乳化剂和/或成泡剂为: 例如非离子的和阴离子的乳化剂如聚氧乙烯脂肪酸酯、聚氧乙烯脂肪醇醚例如烷基芳基聚乙二醇醚、烷基磺酸盐、烷基硫酸酯、芳基磺酸酯, 还有蛋白质水解产物; 合适的分散剂为: 例如亚硫酸化木素废液和甲基纤维素。

[0189] 制剂中可以使用增粘剂, 如羧甲基纤维素和粉末、颗粒或乳液状的天然和合成的聚合物 (如阿拉伯树胶、聚乙烯醇和聚乙酸乙烯酯) 以及天然磷脂 (如脑磷脂和卵磷脂) 和合成的磷脂。其他添加物可以是矿物质和植物油。

[0190] 可能使用着色剂如无机色素 (例如氧化铁、二氧化钛和普鲁士蓝) 和有机染料 (如茜素染料、偶氮染料和金属酞菁染料), 和微量营养 (如铁、锰、硼、铜、钴、钼和锌的盐)。



[0191] 制剂通常包含 0.1wt% 和 98wt% 之间的活性化合物, 优选在 0.1wt% 和 90wt% 之间, 特别优选在 0.5wt% 和 70wt% 之间的活性化合物。

[0192] 在某些应用率下, 新烟碱类化合物和 6-CNA 对根生长深度的影响特别强烈显著。然而, 活性化合物的应用率可在相对宽泛的范围内变化。通常应用率为每公顷 1g 到 1600g 活性化合物, 优选每公顷 10g 到 800g 活性化合物, 特别优选每公顷 10g 到 600g 活性化合物。

[0193] 如前文所述, 本发明涉及适用于促进植物根伸长进入生长培养基中或提高对低氧条件耐受性的方法, 所述方法包括对植物繁殖材料 (包括长成植物的种子) 使用有效量的包含式 (I) 化合物的组合物。可在种植前处理植物的繁殖材料, 例如可在播种前处理 (dress) 种子。本发明的化合物也可通过下述方式使用于种子粒上: 用液体制剂浸渍种子粒或用固体制剂包被种子粒。当繁殖材料被种植时, 例如在播种时, 也可将组合物应用于种植部位。

[0194] 就处理植物繁殖材料 (如种子) 而言, 偏好的应用率通常为每 100kg 待处理材料用 0.1 到 1000g, 特别是 1 到 800g, 优选 10 到 500g 的新烟碱类化合物之一或 6-CNA。

[0195] 所有的植物和植物部分可根据本发明被处理。植物部分应当被理解为所有地上和地下部分, 和植物器官 (如枝、叶、花和根), 可以提到的实例为叶、针叶、柄、茎、花、子实体、果实、种子、根、块茎和根茎。植物部分也包括收获的材料和营养繁殖材料和有性繁殖材料, 例如插条、块茎、根茎、短匍茎和种子。它们还包括植物细胞, 例如可用于或得自根据本发明对植物细胞的转化。也可能将上述化合物应用于土壤上或土壤中, 例如在种植或播种前应用以达到所述效应, 例如增强种植后的植物和萌发的植物的胁迫耐受性, 所述萌发的植物是从被播种进经处理土壤中的种子生长而来。

[0196] 也应立即明白本发明的方法 (包括使用胁迫耐受性增强转基因或胁迫耐受性增强内源变体) 可以与本发明的方法 (包括使用新烟碱类化合物或 6-CNA) 组合, 在提高对低氧或无氧条件耐受性的方面, 或在提高生长培养基或土壤中植物根深的方面产生额外的和协同的效应。

[0197] 本发明的方法可适合于任何植物——双子叶和单子叶植物, 包括但不限于棉花、芸苔属 (*Brassica*) 植物、欧洲油菜、小麦、谷物或玉米、大麦、向日葵、稻、燕麦、甘蔗、大豆、蔬菜 (包括菊苣、莴苣、番茄)、烟草、马铃薯、甜菜、木瓜、菠萝、芒果、拟南芥, 但是也包括用于园艺、花卉或林业的植物, 谷物植物包括小麦、燕麦、大麦、黑麦、稻、草坪草、高粱、粟或甘蔗植物。本发明的方法也可用于任何植物, 包括但不限于棉花、烟草、油菜、欧洲油菜、大豆、蔬菜、马铃薯、浮萍属物种 (*Lemna* spp.)、烟草属物种 (*Nicotiana* spp.)、甘薯、拟南芥、苜蓿、大麦、豆类、谷物、棉花、亚麻、豌豆、油菜、稻、黑麦、红花、高粱、大豆、向日葵、烟草、小麦、天门冬属、甜菜、花茎甘蓝、卷心菜、胡萝卜、花椰菜、芹菜、黄瓜、茄子、莴苣、洋葱、欧洲油菜、胡椒、马铃薯、西葫芦、萝卜属、菠菜属、南瓜、番茄、美洲南瓜 (*zucchini*)、扁桃、苹果、杏属、香蕉、黑莓、越桔属、可可树、樱桃、椰子、大果越桔、海枣、葡萄属、葡萄柚、番石榴属、猕猴桃树、柠檬、来檬、芒果、瓜 (*melon*)、油桃、橙、番木瓜属、西番莲果、桃、花生、梨、菠萝、阿月浑子 (*pistachio*)、李子 (*plum*)、覆盆子 (*raspberry*)、草莓、柑橘、胡桃和西瓜。

[0198] 将本文使用的“包含”解释为说明所述被涉及的特征、整体、步骤或成分的存在, 但是不排除存在或添加一种或多种特征、整体、步骤或成分或其集合。因此, 例如包含核苷酸

或氨基酸序列的核酸或蛋白质可包含除事实上引用的核苷酸或氨基酸之外的更多核苷酸或氨基酸,即位于更大的核酸或蛋白质中。包含功能或结构上定义的 DNA 区的转基因可包含额外的 DNA 区等。

[0199] 除非在实施例中另有说明,所有的重组 DNA 技术根据如 Sambrook 等人 (1989) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 第二版, ColdSpring Harbor Laboratory Press, NY 和 Ausubel 等人 (1994) *Current Protocols in Molecular Biology*, *Current Protocols*, 美国的第 1 卷和第 2 卷中所述的标准方案完成。用于植物分子操作的标准材料和方法由 R. D. D. Croy 描述于 *Plant Molecular Biology Labfax* (1993), 其由 BIOS Scientific Publications Ltd (英国) 和 Blackwell Scientific Publications, 英国联合出版。用于标准分子生物学技术的其他参考资料包括 Sambrook 和 Russell (2001) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 第三版, Cold Spring Harbor Laboratory Press, NY, Brown (1998) *Molecular Biology LabFax*, 第二版, Academic Press (英国) 的第 I 卷和第 II 卷。用于聚合酶链式反应的标准材料和方法可见于 Dieffenbach 和 Dveksler (1995) *PCR Primer: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press 和 McPherson 等人 (2000) *PCR-Basics: From Background to Bench*, 第一版, SpringerVerlag, 德国。

[0200] 在说明书和实施例全文中参考以下序列:

[0201] SEQ ID No. 1: 来自拟南芥的 *parp1* 编码区

[0202] SEQ ID No. 2: 来自拟南芥的 *parp2* 编码区

[0203] SEQ ID No. 3: 来自玉米的 *parp1* 编码区 1

[0204] SEQ ID No. 4: 来自玉米的 *parp1* 编码区 2

[0205] SEQ ID No. 5: 来自玉米的 *parp2* 编码区

[0206] SEQ ID No. 6: 来自棉花的 *parp2* 部分编码区

[0207] SEQ ID No. 7: 来自拟南芥的 *parG* 编码区

[0208] SEQ ID No. 8: 来自马铃薯 (*Solanum tuberosum*) 的 *parG* 编码区

[0209] SEQ ID No. 9: 来自稻的 *parG* 编码区

[0210] SEQ ID No. 10: 来自玉米的 *parG* 编码区

[0211] SEQ ID No. 11: 来自酿酒酵母的烟酰胺酶 (PNC1) 的核苷酸序列

[0212] SEQ ID No. 12: 来自酿酒酵母的烟酸盐 / 酯磷酸核糖基转移酶 (NPT1) 的核苷酸序列 (互补序列)

[0213] SEQ ID No. 13: 来自酿酒酵母的烟酸单核苷酸腺嘌呤基转移酶 1 (NMA1) 的核苷酸序列

[0214] SEQ ID No. 14: 来自酿酒酵母的烟酸单核苷酸腺嘌呤基转移酶 2 (NMA2) 的核苷酸序列

[0215] SEQ ID No. 15: 来自酿酒酵母的 NAD 合成酶 (QNS1) 的核苷酸序列

[0216] SEQ ID No. 16: 来自拟南芥的烟酰胺酶的核苷酸序列 (同种型 1)

[0217] SEQ ID No. 17: 来自拟南芥的烟酰胺酶的核苷酸序列 (同种型 2)

[0218] SEQ ID No. 18: 来自拟南芥的烟酰胺酶的核苷酸序列 (同种型 3)

[0219] SEQ ID No. 19: 来自拟南芥的烟酸盐 / 酯磷酸核糖基转移酶的核苷酸序列 (同种

型 1)

[0220] SEQ ID No. 20 :来自拟南芥的烟酸盐 / 酯磷酸核糖基转移酶的核苷酸序列 (同种型 2)

[0221] SEQ ID No. 21 :来自拟南芥的烟酸单核苷酸腺嘌呤基转移酶的核苷酸序列

[0222] SEQ ID No. 22 :来自拟南芥的 NAD 合成酶的核苷酸序列

[0223] 实施例

[0224] 实施例 1 :用于测量生长培养基中拟南芥根生长深度的方案培养基 :

[0225] 萌发培养基 :一半浓度的 Murashige 和 Skoog 盐 ;维生素 B5 ;1.5% 蔗糖 ;pH5.8 ;0.4% Difco 琼脂。

[0226] 拟南芥植物

[0227] 拟南芥种子灭菌 :70% 乙醇 2 分钟 ;漂白剂 (6% 活性氯) +1 滴 Tween 20 配成 20ml 溶液 10 分钟 ;用无菌自来水洗涤 5 次 ;在 2ml 微量离心管中进行灭菌。拟南芥种子沉到管底,允许借助于 1ml 自动移液器去除液体。

[0228] 种子预萌发 :在含有 10ml 无菌自来水的 9 厘米 Optilux 培养皿 (Falcon) 中弱光过夜至 24 小时。

[0229] 拟南芥植物生长 :将种子播种于含 ±34ml 萌发培养基的具有天然 (透明) 有色盖子 (Sigma C5791) 的 25×150 毫米玻璃管 (Sigma C5916) 中 :1 个种子 / 管。将管置于 40 管的试管架 (VWR nalg5970-0025) 外面两行中,用铝箔包好使得根能够在黑暗中生长。植物在 23°C 培养。30-50  $\mu$  Einstein  $s^{-1}m^{-2}$ 。12 小时光照 -12 小时黑暗。(见图 1)。

[0230] 测量根深

[0231] 三周后,从培养基表面到根生长的最深点测量根深。(见图 1)。

[0232] 实施例 2 :包含了增强胁迫耐受性的转基因的拟南芥植物根生长深度的分析

[0233] 如实施例 1 中所述培养包含如 W000/04173A1 中所述 (例如在其实例 8 中) 的转基因的拟南芥植物,所述转基因编码 dsRNA 分子,所述 dsRNA 分子能够降低内源 PARP1 或 PARP2 基因的表达。

[0234] 三周后,测量转基因植物的根深并与以相似方式培养的非转基因对照植物或非转基因同基因植物的根深比较。

[0235] 在第一个实验中,将包含转基因的拟南芥 cv. Col-0 植物的多种种群与非转基因拟南芥 cv. Col-0 植物的非转基因种群比较,所述转基因编码 dsRNA 分子,所述 dsRNA 分子能够降低内源 PARP2 基因的表达 (株系 427-16 和 427-20 显示对强光胁迫的弱耐受性,株系 427-19 显示对强光胁迫的中等耐受性)。

[0236] 对测量结果进行统计学分析,概括在表 1 中,表 1 也表示了均值、标准偏差和置信区间。

[0237] 与非转基因拟南芥 cv. Col-0 对照植物相比,对强光胁迫条件具有最高耐受性的转基因拟南芥植物 (株系 427-19) 的根统计学显著地伸入生长培养基中更深 (99% 置信水平) (见图 2 和表 1)。

[0238] 表 1 :与非转基因拟南芥 cv. Col-0 植物比较,包含转基因的拟南芥 cv. Col-0 植物的根深 (mm),所述转基因编码 dsRNA 分子,所述 dsRNA 分子能够降低内源 PARP2 基因的表达

[0239]

	Col-0	427-16	427-19	427-20
均值	25.173611	26.388889	27.42	24.942029
标准偏差	3.64166	3.422548	3.361185	3.69174
标准误差	0.429174	0.46575	0.388116	0.444433
95%置信	0.858348	0.94128	0.776233	0.888866
99%置信	1.141602	1.259388	1.032389*	1.182192

[0240] \*p < 0.01

[0241] 在另一实施方案中,将包含转基因并对强光胁迫有耐受性的转基因拟南芥 cv. Col-0 植物的种群(株系 427-22)与含有相似的转基因但是对强光胁迫敏感的转基因株系(株系 427-24),以及非转基因拟南芥 cv. Col-0 对照植物比较,其中所述转基因编码 dsRNA 分子,所述 dsRNA 分子能够降低内源 PARP2 基因的表达。

[0242] 对测量结果进行统计学分析,总结在表 2 中,表 2 也表示了均值、标准偏差和置信区间。

[0243] 与拟南芥 cv. Col-0 对照植物的根和胁迫敏感的转基因拟南芥 Col-0 植物株系(株系 427-24)的根相比,胁迫耐受的转基因株系(株系 427-22)的转基因拟南芥 cv. Col-0 植物的根伸入生长培养基(包含 0.7%(代替 0.4%)的 Difco 琼脂而)中更深(见图 3 和表 2)。

[0244] 表 2:与非转基因拟南芥 cv. Col-0 植物比较,包含转基因的拟南芥 cv. Col-0 植物的根深(mm),所述转基因编码 dsRNA 分子,所述 dsRNA 分子能够降低内源 PARP2 基因的表达

[0245]

	Col-0	427-22	427-24
均值	18.291339	21.146154	17.384058
标准偏差	2.928677	5.368981	2.740149
标准误差	0.259878	0.66594	0.329875
95%置信	0.514558	1.33188	0.65975
99%置信	0.680101	1.771401*	0.877468

[0246] \*p < 0.01

[0247] 在另一实施方案中,分析以下种群:

[0248] C24:野生型拟南芥株系;株系 1599:包含抗-PARP2 转基因的对强光胁迫条件具有高耐受性的拟南芥转基因株系;株系 1463:包含抗-PARP2 转基因的对强光胁迫条件具有中等耐受性的拟南芥转基因株系;株系 1681:包含抗-PARP1 基因的对强光胁迫条件具有中等耐受性的拟南芥转基因株系;和株系 1690:包含抗-PARP1 基因的对强光胁迫条件具有中等耐受性的拟南芥转基因株系。株系 1599 的胁迫耐受性非常高,株系 1463、1681 和 1690 的胁迫耐受性从中等到高等变化。

[0249] 将测量结果进行统计学分析,并总结于表 3 中,表 3 表示均值、标准偏差和置信区间。

[0250] 与非转基因拟南芥 cv. C24 对照植物相比,包含转基因的转基因拟南芥 cv. C24 植物的根伸入生长培养基中更深,其中所述转基因编码 dsRNA 分子,所述 dsRNA 分子能够降低内源 PARP1 基因(株系 1681 和 1690)或 PARP2 基因(株系 1599 和 1463)的表达(见图 4 和表 3)。

[0251] 表 3:与非转基因拟南芥 cv. C24 植物相比,包含转基因的拟南芥 cv. C24 植物的根深(mm),所述转基因编码 dsRNA 分子,所述 dsRNA 分子能够降低内源 PARP1 或 PARP2 基因的

表达

[0252]

	C24	1599	1463	1681	1690
均值	16.18	18.125	17.405063	17.433333	17.897727
标准偏差	2.192181	2.992481	2.16036	2.112246	1.885007
标准误差	0.219218	0.451133	0.243059	0.27269	0.284175
95%置信	0.438436	0.911741	0.486119	0.551106	0.574319
99%置信	0.58312	1.219865*	0.646538*	0.737353*	0.76841*

[0253] \*p < 0.01

[0254] 在另一实施方案中,分析包含转基因并对强光胁迫具有高度耐受性的转基因拟南芥 cv. Col-0 株系的 1 : 1 分离群体,其中所述转基因编码 dsRNA 分子,所述 dsRNA 分子能够降低内源 PARP2 基因的表达。转基因的存在通过 PCR 分析证实。

[0255] 与来自株系 427-19 的不对的拟南芥 cv. Col-0 植物相比,包含转基因的植物具有伸入生长培养基中更深的根(见图 5 和表 4)。

[0256] 表 4:与不对的拟南芥 cv. Col-0 植物相比,包含转基因的拟南芥 cv. Col-0 植物的根深(mm),所述转基因编码 dsRNA 分子,所述 dsRNA 分子能够降低内源 PARP2 基因的表达

[0257]

	不对的 427-19	转基因的 427-19
均值	25.296512	27.38172
标准偏差	3.573907	3.244894
标准误差	0.385384	0.33648
95%置信	0.770769	0.67296
99%置信	1.025122	0.895036*

[0258] \*p < 0.01

[0259] 实施例 3:应用吡虫啉后拟南芥植物根生长深度的分析

[0260] 如实施例 1 所述将拟南芥 cv. C24 植物在包含多种浓度吡虫啉(0、50 和 100 毫克/升)的萌发培养基(含 0.7%(代替 0.4%)的 Difco 琼脂)上培养。三周后测量用 50 和 100 毫克/升吡虫啉处理的植物根的深度,并与以相同方式培养的未处理植物的根的深度比较。

[0261] 与未处理的拟南芥植物的根相比,经处理拟南芥植物的根伸入生长培养基中更深(见图 6 和表 5)。

[0262] 表 5:与未用吡虫啉处理的拟南芥 cv. C24 植物相比,用 50 和 100 毫克/升吡虫啉处理的拟南芥 cv. C24 植物的根深(mm)

[0263]

	0 毫克/升	50 毫克/升	100 毫克/升
均值	1.9475	2.1875	2.2725
标准偏差	0.289714	0.353508	0.456072
标准误差	0.037402	0.045638	0.058879
95%置信	0.075589	0.092234	0.118994
99%置信	0.101135	0.123404*	0.159208*

[0264] \*p < 0.01

[0265] 实施例 4:应用 6-氯烟酸(6-CNA)后拟南芥植物根生长深度的分析

[0266] 如实施例 1 所述将拟南芥 cv. C24 植物在包含多种浓度 6-CNA(0、1 和 5 毫克/升)的萌发培养基上培养。三周后测量用 1 和 5 毫克/升 6-CNA 处理的植物根的深度,并与以

相同方式培养的未用 6-CNA 处理的植物的根的深度比较。

[0267] 与未处理的拟南芥植物的根相比,经处理植物的根伸入生长培养基中更深(见图 7 和表 6)。

[0268] 表 6:与未用 6-CNA 处理的拟南芥 cv. Col-0 植物相比,用 1 和 5 毫克/升 6-CNA 处理的拟南芥 cv. C24 植物的根深(mm)

[0269]

	0 毫克/升	1 毫克/升	5 毫克/升
均值	2.031034	2.179661	2.118367
标准偏差	0.189373	0.186418	0.237762
标准误差	0.024866	0.02427	0.033966
95%置信	0.050254	0.049049	0.068645**
99%置信	0.067237	0.065625*	0.091844

[0270] \*p < 0.01

[0271] \*\*p < 0.05

[0001]

序 列 表

- <110> 拜尔生物科学公司
- <120> 提高植物对低氧条件抗性的方法
- <130> BCS 05-2015
- <150> EP 05076392.9
- <151> 2005-06-15
- <150> US 60/691,103
- <151> 2005-06-16
- <160> 22
- <170> PatentIn 版本 3.3
- <210> 1
- <211> 3187
- <212> DNA
- <213> 人工的
- <220>
- <223> 来自拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*) 的 parp1 编码区
- <220>
- <221> misc\_feature
- <222> (11)..(2962)
- <223> 可读框

```

<400> 1
taccggagaa atggcaagcc cacataagcc gtggagggcg gagtatgcaa agtcgtcgag      60
gtcttcatgt aaaacttgca agtccgcat taacaaggag aactttcgtc ttggaaagtt      120
ggttcaatct actcacttcg atggcatcat gcccatgtgg aaccatgctt cttgtatact      180
gaagaagacg aagcagataa aatcagttga tgatgttgaa ggcatagaat cacttcgttg      240
ggaagatcag caaaagatta gaaaatatgt cgaatctgga gcagggagta acacaagcac      300
aagcacaggc acaagcacga gcagtaccgc taataatgcc aaactagaat atgggattga      360
agtgtcacia acttcccgtg ccggttcgag aaagtgtagc gaaaagatct tgaaaggaga      420
ggtacgtata ttctccaagc ctgaaggccc gggtacaaa ggtttgatgt ggcatcacgc      480
taaatgttcc cttgaaatgt cttcctctac tgaactggaa agtttgtctg gatggagaag      540

```

[0002]

tataccagac tcagaccaag aagctcttct tcccttagtg aagaaagctc tgccggcagc	600
caaaactgag acagcagaag cacgtcaaac aaattcaaga gcaggcacia aacgaaaaa	660
tgattctggt gataacgaga agtcgaaact agcaaaaagt agttttgaca tgtctacaag	720
tgggtcttta caaccttgta gcaaagaaaa ggaaatggag gcccaacta aggaattgtg	780
ggacctgaag gatgatctga aaaaatatgt aacatcagct gagttgcggg aatgcttga	840
agtaaagaa caaagtacia gaggatctga acttgatctg cgtgataaat gtgctgatgg	900
catgatgttt ggcccactcg ctctctgccc aatgtgctct gggcatcttt cttctccgg	960
aggactttac cgatgccatg gatacatctc agaatggagc aaatgttctc attccacttt	1020
ggatccagac cgcatcaaag ggaagtggaa aatccctgac gaaacagaaa atcaattcct	1080
tctgaagtgg aataagtctc aaaagagtgt gaagccaaaa cgtattctgc gtcctgtatt	1140
gtctggcgag acatctcagg gtcaaggttc taaagatgca actgactcct caaggagtga	1200
aaggctagca gatcttaaag tttcaattgc tggaaatact aaggaaaggc aacctggaa	1260
gaagagaatt gaggaagctg gtgcagagtt tcatgctaat gtaaaaaag gtacaagctg	1320
tttggttggt tgtggactga cagatatcag agacgctgaa atgagaaagg caaggaggat	1380
gaaagtggca atcgtgagag aggattatth ggttgattgt ttaaaaaac agaggaaact	1440
tccatttgac aagtacaaaa ttgaagacac tagtgagagc ctgtgactg ttaaagtaaa	1500
aggacgaagc gctgtgcatg aagcgtctgg cctccaagag cactgtcaca ttcttgaaga	1560
tgggaacagt atctataaca caactctgag catgtctgat ctctctaccg gtatcaatag	1620
ttattacata ctccagataa tccaagaaga taaaggttca gattgttacg tatttcgtaa	1680
atggggccga gttggaaatg aaaagattgg tggtaacaaa gtggaggaaa tgtcaaagtc	1740
tgatgcggtt cacgaattca aacgtctatt tcttgaaaa accggaaca catgggaatc	1800
ttgggaacaa aaaacgaatt tccagaaaca acctggaaaa tttctcccgt tggacattga	1860
ttatggagtt aataagcaag tagccaaaa agagccattt cagaccagta gcaaccttgc	1920
tccatcatta atagaattga tgaagatgct ttttgatgtg gaaacttaca gatctgcaat	1980
gatggagttc gagataaata tgtcagagat gccacttggg aagctcagca aacataatat	2040
acagaagggt tttgaggcat tgacggagat acagaggcta ttgactgaaa gcgaccccca	2100

[0003]



```

gcctactatg aaagaaagct tgcttgttga tgctagtaac agatttttta ccatgatccc 2160
ttctattcat cctcatatta tccgagatga agatgacttt aagtcaaagg tgaaaatgct 2220
cgaggctctg caggatatcg aaatagcttc aagaatagtt ggctttgatg ttgatagcac 2280
cgaatctctt gatgataagt ataagaagct gcattgcgat atctcaccac ttctcatga 2340
tagcgaagat tatcgattaa tcgagaagta tcttaacaca actcatgccc caacgcatac 2400
agagtggagt cttgagctag aggaagtttt tgctcttgaa agagaaggag agtttgataa 2460
atatgctccc cacagagaaa aacttgcaa taagatgctc ctatggcatg gttctcgatt 2520
aacgaatfff gttggaatat tgaaccaagg actgagaatt gcacctccag aagctcctgc 2580
tactggttac atgtttgtaa aaggatata ctttctgac cttgtcagta aaagtctca 2640
gtactgctac acttgaaga aaaatccggt gggctaatg cttctgagtg aagttgcatt 2700
gggagaaata catgagctaa caaaagctaa gtatatggat aaacctccga gagggaaaca 2760
ctcgacaaa gggctcggca agaaagtgcc tcaagattcc gagtttgcca agtggagagg 2820
tgatgtgact gttccctgtg gaaaacctgt ttcacaaag gtcaaggctt ctgagcttat 2880
gtacaatgag tatatcgtct acgatacagc ccaggatgaag ttgcagtctt tgttgaaagt 2940
aaggtttaag cacaagagat gagcctgaac caaacaagaa gacgtcactt ctgttaacta 3000
aatgtttttt tgggaaatcg aatccaacac gaagacttaa cttttgtaac taaattgctt 3060
ttgataaatt gaattcaaca tgtagtcaca gatttaactc tctggcgttg tagatgtttc 3120
tggttttaa agagcgtact ctacattttg ttatgctttt tctcagtaat gacacttett 3180
aagactt 3187

```

<210> 2

<211> 2147

<212> DNA

<213> 人工的

<220>

<223> 来自拟南芥的 parp2 编码区

<220>

<221> misc\_feature

<222> (129)..(2042)

<223> 可读框

[0004]

<400> 2	
attgatgaag aagaaaacga agaagaagac tcttcaaatg ctgcgcgaa ctcaactctg	60
acgaaaacca tacttctca gtctcattcc ctttccgacg aactattctc ctgaagaaga	120
agacgaaaat ggcaacaag ctcaaagtcg acgaactccg tttaaaactc gccgagcgtg	180
gactcagtac tactggagtc aaagccgttc tggtagagag gcttgaagag gctatcgcag	240
aagacactaa gaaggaagaa tcaaagagca agaggaaaag aaattcttct aatgatactt	300
atgaatcgaa caaattgatt gcaattggcg aatttcgtgg gatgattgtg aaggaattgc	360
gtgaggaagc tattaagaga ggcttagata caacaggaac caaaaaggat cttcttgaga	420
ggctttgcaa tgatgctaata acgtttcca atgcaccagt caaatccagt aatgggacag	480
atgaagctga agatgacaac aatggctttg aagaagaaaa gaaagaagag aaaatcgtaa	540
ccgcgacaaa gaagggtgca gcggtgctag atcagtgatg tctgatgag ataaagagtc	600
agtaccatgt tctacaaagg ggtgatgatg tttatgatgc tatcttaaat cagacaaatg	660
tcagggataa taataacaag ttctttgtcc tacaagtcct agagtcggat agtaaaaaga	720
catacatggt ttacactaga tggggaagag ttggtgtgaa aggacaaagt aagctagatg	780
ggccttatga ctcattggat cgtgcgatag agatatttac caataagttc aatgacaaga	840
caaagaatta ttggtctgac agaaaggagt ttatcccaca tcccagttc tatacatggc	900
tcgaaatgga ttacggaaaa gaggaaaatg attcaccggt caataatgat attccgagtt	960
catcttccga agttaaacct gaacaatcaa aactagatac tcgggttgcc aagttcatct	1020
ctcttatatg taatgtcagc atgatggcac agcatatgat ggaaatagga tataacgcta	1080
acaaattgcc actcggcaag ataagcaagt ccacaatttc aaagggttat gaagtgtgta	1140
agagaatatc ggaggtgatt gaccggtatg atagaacgag gcttgaggaa ctgagtgag	1200
agttctacac agtgatacct catgatittg gttttaagaa aatgagtcag tttgttatag	1260
acactcctca aaagttgaaa cagaaaattg aaatggttga agcattaggt gaaattgaac	1320
tcgcaacaaa gtgtttgtcc gtcgaccgg gattgcagga tgatccttta tattatcact	1380
accagcaact taattgtggt ttgacgccag taggaaatga ttcagaggag ttctctatgg	1440
ttgctaatta catggagaac actcatgcaa agacgcattc gggatatacg gttgagattg	1500

[0005]

cccaactatt tagagcttcg agagctgttg aagctgatcg attccaacag ttttcaagtt 1560  
 cgaagaacag gatgctactc tggcacggtt cacgtctcac taactgggct ggtattttat 1620  
 ctcaaggctc gcgaatagct cctcctgaag cgcctgtaac tggttacatg tttgaaaag 1680  
 gggtttactt tgcggatatg ttctccaaga gtgcgaacta ttgctatgcc aacctggcg 1740  
 ctaatgatgg cgttctgctc ctctcgagg ttgctttggg agacatgaat gaacttctgt 1800  
 attcagatta taacgcggat aatctacccc cgggaaagct aagcacaaaa ggtgtgggga 1860  
 aacagcacc aaacccatca gaggtcaaaa cactagaaga cgggtttggt gttccacttg 1920  
 gcaaaccagt ggaacgttca tgctccaagg ggatgttggt gtacaacgaa tatatagtct 1980  
 acaatgtgga acaaatcaag atgcgttatg tgatccaagt caaattcaac tacaagcact 2040  
 aaaacttatg tatattagct tttgaacatc aactaattat ccaaaaatca gcgttttatt 2100  
 gtatttcttt caaactcctt catctctgat tttgcacggt tcaactcg 2147

<210> 3

<211> 3211

<212> DNA

<213> 人工的

<220>

<223> 来自玉米 (Zea mays) 的 parp1 编码区 1

<220>

<221> misc\_feature

<222> (113)..(3022)

<223> 可读框

<400> 3

acctacctga atacgtcacc cctaagtgtt ccgcttcctc tgcgtccgg cctccaactc 60  
 catcgaaggg gctagggaga ggaggaacc cgaaccacag caggccggcg caatggcggc 120  
 gccgcaaag gcgtggaagg cggagtatgc caagtctggg cgggcctcgt gcaagtcag 180  
 ccggtcccct atcgccaagg accagctccg tcttgcaag atggttcagg cgtcacagtt 240  
 cgacggcttc atccgatgt ggaacatgc cagcgttgac gatgttgaag ggatagatgc 300  
 acttagatgg gatgatcaag agaagatacg aaactacgtt gggagtgcct cagctggtac 360  
 aagttctaca gctgctcctc ctgagaaatg tacaattgag attgctccat ctgcccgta 420

[0006]

ttcagttaga cgatgcagtg aaaagattac aaaaggatcg gtccgtcttt cagctaagct	480
tgagagtga ggtcccaagg gtataccatg gtatcatgcc aactgtttct ttgaggtatc	540
ccgctctgca actgttgaga agttctcagg ctgggatact ttgtccgatg aggataagag	600
aaccatgctc gatcttgta aaaaagatgt tggcaacaat gaacaaaata agggttccaa	660
gcgcaagaaa agtgaaaatg atattgatag ctacaaatcc gccaggttag atgaaagtac	720
atctgaaggt acagtgcgaa acaaaggca actttagtag ccacgtggtt ccaatactag	780
ttcagctgat atccaactaa agcttaagga gcaaagtac acactttgga agttaaagga	840
tggacttaag actcatgtat cggctgctga attaaggat atgcttgagg ctaatgggca	900
ggatacatca ggaccagaaa ggcacctatt ggatcgtgt gcggatggaa tgatatttg	960
agcgctgggt cettgccag tctgtgctaa tggcatgtac tattataatg gtcagtacca	1020
atgcagtgg t aatgtgtcag agtgggtccaa gtgtacatac tctgccacag aacctgtccg	1080
cgtaagaag aagtggcaaa ttccacatgg aacaaagaat gattacctta tgaagtgggt	1140
caaatctcaa aaggtaaga aaccagagag ggttcttcca ccaatgtcac ctgagaaatc	1200
tggaagtaaa gcaactcaga gaacatcatt gctgtcttct aaagggttg ataaattaag	1260
gttttctgtt gtaggacaat caaaagaagc agcaaatgag tggattgaga agctcaaact	1320
tgctggtgcc aacttctatg ccagggttgt caaagatatt gattgtttaa ttgcatgtgg	1380
tgagctcgac aatgaaaatg ctgaagtcag gaaagcaagg aggctgaaga taccaattgt	1440
aaggagggt tacattggag aatgtgttaa aaagaacaaa atgctgccat ttgatttgta	1500
taaactagag aatgccttag agtcctcaaa aggcagtact gtcactgtta aagtaaggg	1560
ccgaagtgt gttcatgagt cctctggttt gcaagatact gtcacattc ttgaagatgg	1620
gaaaagcata tacaatgcaa ccttaaacad gtctgacctg gcactaggtg tgaacagcta	1680
ctatgtactc cagatcattg aacaggatga tgggtctgag tgctacgtat ttcgtaagtg	1740
gggacgggtt gggagtgaga aaattggagg gcaaaaactg gaggagatgt caaaaactga	1800
ggcaatcaag gaattcaaaa gattatttct tgagaagact ggaaactcat gggaagcttg	1860
ggaatgtaaa accaatttct ggaagcagcc tgggagattt taccacttg atgttgatta	1920
tgggtttaag aaagcaccaa aacggaaaga tatcagtga atgaaaagt ctcttgctcc	1980

[0007]

tcaattgcta gaactcatga agatgctttt caatgtggag acatatagag ctgctatgat	2040
ggaatttgaa attaataigt cagaaatgcc tcttggaag ctaagcaagg aaaatattga	2100
gaaaggattt gaagcattaa ctgagataca gaatttattg aaggacaccg ctgatcaagc	2160
actggctggt agagaaagct taattgttgc tgcgagcaat cgctttttca ctcttatccc	2220
ttctattcat cctcatatta tacgggatga ggatgattg atgatcaaag cgaaaatgct	2280
tgaagctctg caggatattg aaattgcttc aaagatagtt ggcttcgata gcgacagtga	2340
tgaatctctt gatgataaat atatgaaact tcaactgtgac atcaccccg tggctcacga	2400
tagtgaagat tacaagttaa ttgagcagta tctcctcaac acacatgctc ctactcacia	2460
ggactggctg ctggaactgg aggaagtttt ttcacttgat cgagatggag aacttaataa	2520
gtactcaaga tataaaaata atctgcataa caagatgcta ttatggcacg gttcaagggt	2580
gacgaatttt gtgggaattc ttagtcaagg gctaagaatt gcacctcctg aggcacctgt	2640
tactggctat atgttcggca aaggcctcta ctttgcatg ctagtaagca agagcgaca	2700
atactgttat gtggatagga ataactctgt aggtttgatg cttctttctg aggttgettt	2760
aggagacatg tatgaactaa agaaagccac gtccatggac aaacctcaa gagggaagca	2820
ttcgaccaag ggattaggca aaaccgtgcc actggagtca gagtttgtga agtggaggga	2880
tgatgtcgta gttccctgcg gcaagccggt gccatcatca attaggagct ctgaactcat	2940
gtacaatgag tacatcgtct acaacacatc ccagggtgaag atgcagttct tgctgaaggt	3000
gcgtttccat cacaagaggt agctgggaga ctaggcaagt agagtggaa ggtagagaag	3060
cagagttagg cgatgcctct tttgttatta ttagtaagcc tggcatgtat ttatgggtgc	3120
tcgcgcttga tccatthtgg taagtgttgc ttgggcatca gcgcgaatag caccaatcac	3180
acacttttac ctaatgacgt tttactgtat a	3211

<210> 4

<211> 3212

<212> DNA

<213> 人工的

<220>

<223> 来自玉米的 parp1 编码区 2

[0008]

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (81)..(3020)  
 <223> 可读框  
  
 <400> 4  
 gcttcctctg tcgtccggcc tccaactcca tcgaaggggc tagggagagg agggaacccg 60  
 aaccacagca ggccggcgca atggcggcgc cgccaaaggc gtggaaggcg gagtatgcca 120  
 agtctgggcg ggcctcgtgc aagtcatgcc ggtcccctat cgccaaggac cagctccgtc 180  
 ttggcaagat ggttcaggcg tcacagttcg acggcttcat gccgatgtgg aaccatgcca 240  
 ggtgcatctt cagcaagaag aaccagataa aatccgttga cgatgttgaa gggatagatg 300  
 cacttagatg ggatgatcaa gagaagatac gaaactacgt tgggagtgcc tcagctggtg 360  
 caagttctac agctgctcct cctgagaaat gtacaattga gattgctcca tctgcccgtg 420  
 cttcatgtag acgatgcagt gaaaagatta caaaaggatc ggtccgtctt tcagctaagc 480  
 ttgagagtga aggtccaag ggtataccat ggtatcatgc caactgtttc tttgaggtat 540  
 ccccgtctgc aactgttgag aagttctcag gctgggatac tttgtccgat gaggataaga 600  
 gaaccatgct cgatcttggt aaaaaagatg ttggcaacaa tgaacaaaat aagggttcca 660  
 agcgcaagaa aagtgaaaat gatattgata gctacaaatc cgccagggtta gatgaaagta 720  
 catctgaagg tacagtgcga aacaaagggc aacttgtaga cccacgtggt tccaatacta 780  
 gttcagctga tatccaacta aagcttaagg agcaaagtga cacactttgg aagttaaagg 840  
 atggacttaa gactcatgta tcggctgctg aattaaggga tatgcttgag gctaattggc 900  
 aggatacatc aggaccagaa aggcacctat tggatcgctg tgcggatgga atgatatttg 960  
 gagegctggg tccttgccca gtctgtgcta atggcatgta ctattataat ggtcagtacc 1020  
 aatgcagtgg taatgtgtca gagtggcca agtgtacata ctctgccaca gaacctgtcc 1080  
 gcgtaagaa gaagtggcaa attccacatg gaacaaagaa tgattacctt atgaagtgg 1140  
 tcaaactca aaaggttaag aaaccagaga gggttcttcc accaatgtca cctgagaaat 1200  
 ctggaagtaa agcaactcag agaacatcat tgctgtcttc taaagggttg gataaattaa 1260  
 ggttttctgt tgtaggacaa taaaagaag cagcaaatga gtggattgag aagctcaaac 1320  
 ttgctggcgc caacttctat gccagggttg tcaaagatat tgattgttta attgcatgtg 1380

[0009]

gtgagctcga caatgaaaat gctgaagtca ggaaagcaag gaggctgaag ataccaattg	1440
taagggaggg ttacattgga gaatgtgta aaaagaaca aatgctgcca tttgatttgt	1500
ataaactaga gaatgcctta gagtcctcaa aaggcagtac tgtcactgtt aaagttaagg	1560
gccgaagtgc tgitcatgag tcctctggtt tgcaagatac tgctcacatt cttgaagatg	1620
ggaaaagcat atacaatgca accttaaaca tgtctgacct ggcaactagg gtgaacagct	1680
actatgtact ccagatcatt gaacaggatg atgggtctga gtgctacgta tttcgtaagt	1740
ggggacgggt tgggagtgag aaaattggag ggcaaaaact ggaggagatg tcaaaaactg	1800
aggcaatcaa ggaattcaaa agattatttc ttgagaagac tggaaactca tgggaagctt	1860
gggaatgtaa aaccaatttt cggaagcagc ctgggagatt ttaccactt gatgttgatt	1920
atgggtgtaa gaaagcacca aaacggaaag atatcagtga aatgaaaagt tctcttgctc	1980
ctcaattgct agaactcatg aagatgcttt tcaatgtgga gacatataga gctgctatga	2040
tggaatttga aattaatatg tcagaaatgc ctcttgggaa gctaagcaag gaaaatattg	2100
agaaaggatt tgaagcatta actgagatac agaatttatt gaaggacacc gctgatcaag	2160
cactggctgt tagagaaagc ttaattgttg ctgcgagcaa tcgcttttct actcttatcc	2220
cttctattca tcctcatatt atacgggatg aggatgattt gatgatcaaa gcgaaaatgc	2280
ttgaagctct gcaggatatt gaaattgctt caaagatagt tggttcgat agcgacagtg	2340
atgaatctct tgatgataaa tatatgaaac ttcactgtga catcaccocg ctggctcacg	2400
atagtgaaga ttacaagtta attgagcagt atctcctcaa cacacatgct cctactcaca	2460
aggactggtc gctggaactg gaggaagttt tttcacttga tcgagatgga gaacttaata	2520
agtactcaag atataaaaat aatctgcata acaagatgct attatggcac ggttcaaggt	2580
tgacgaattt tgtgggaatt cttagtcaag ggctaagaat tgcacctcct gaggcacctg	2640
ttactggcta tatgttcggc aaaggcctct actttgcaga tctagtaagc aagagcgcac	2700
aatactgtta tgtggatagg aataatcctg taggtttgat gcttcttct gaggttgctt	2760
taggagacat gtatgaacta aagaaagcca cgtccatgga caaacctcca agaggaagc	2820
atcgaccaa gggattagc aaaaccgtgc cactggagtc agagtttgat aagtggaggg	2880
atgatgtcgt agttccctgc ggcaagccgg tgccatcatc aattaggagc tctgaactca	2940

[0010]

tgtacaatga gtacatcgtc tacaacacat cccaggtgaa gatgcagttc ttgctgaagg	3000
tgcgtttcca tcacaagagg tagctgggag actaggcaag tagagttgga aggtagagaa	3060
gcagagttag gcgatgcctc ttttggatt attagtaagc ctggcatgta tttatgggtg	3120
ctcgcgcttg atccattttg gtaagtgtg cttgggcac agcgcgaata gcaccaatca	3180
cacactttta cctaatagac ttttactgta ta	3212

&lt;210&gt; 5

&lt;211&gt; 2295

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工的

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 来自玉米的 parp2 编码区

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; misc\_feature

&lt;222&gt; (107)..(2068)

&lt;223&gt; 可读框

&lt;400&gt; 5

tgacctgttc catcccgcca gcccttcgc tcccacgacc caaccccact gcccgagcc	60
cccgagcctt ctgcaatctt gcgagaacct cagggcgag gagcagatgt cggcgaggct	120
acgggtggcg gacgtccgcg cggagcttca gcgcccgcc ctcgatgtat ccggcaccaa	180
gcctgctctc gtgcggagge tggacgccg aatttgcgag gcggagaagg ccgtgggtgc	240
tgctgcgcca accagtgtgg caaatgggta tgacgtagcc gtagatggca aaaggaactg	300
cggaataat aagaggaaaa ggtccgggga tgggggtgaa gagggaaacg gcgatacgtg	360
tacagatgtg acaaaactag agggcatgag ctatcgtgag ctgcagggat tggccaaggc	420
acgtggagtt gcggcaaatg ggggcaagaa agatgttata cagaggttgc tctcggcgac	480
tgctggtcct gctgcagttg cagatggtgg tcctctgggc gccaaaggaag tcataaaagg	540
tggtgatgag gaggttgagg tgaaaaagga gaagatggtt actgccacga agaagggagc	600
tgcagtgtg gatcagcaca ttccgatca cataaaagt aactatcatg tcttgaagt	660
ggcgatgaa atctatgat ccacctgaa ccagactaat gttggagaca acaacaataa	720
gttctatata attcaagttt tagaatctga tgctggtgga agctttatgg tttacaatag	780

[0011]



atggggaaga gttgggtac gaggtcaaga taaactacat ggtccctccc caacacgaga	840
ccaagcaata tatgaatttg aggggaagtt ccacaacaaa accaataatc attggtctga	900
tcgcaagaac ttcaaatgtt atgcaaagaa atacacttgg cttgaaatgg attatggtga	960
aactgagaaa gaaatagaga aaggttccat tactgatcag ataaaagaga caaaacttga	1020
aactagaatt gcgcagttca tatccctgat ctgcaatatt agcatgatga agcaaagaat	1080
ggtggaaata ggttataatg ctgaaaagct tccccttga aagctaagga aagctacaat	1140
acttaagggt tatcatgttt tgaaaaggat atccgatggt atttcaaagg cggacaggag	1200
acatcttgag caattgactg gggaattcta caccgtgatt cctcatgact ttggtttcag	1260
aaagatgcgt gaatttatta tcgatactcc tcagaaacta aaagctaagc tggagatggt	1320
tgaagccctt ggtgagattg aaattgcaac taaactttg gaggatgatt caagtacca	1380
ggatgatccg ttgtatgctc gatacaagca acttcattgt gatttcacac ctcttgaagc	1440
tgattcagat gagtactcta tgataaaatc atatttgaga aatacacatg gaaaaacaca	1500
ctctggttat acggtggaca tagtgcaaat atttaagggt tcaaggcatg gtgaaacaga	1560
gcgatttcaa aaatttgcta gtacaagaaa taggatgctt ttgtggcatg gttctcggtt	1620
gagcaactgg gctgggatcc tttctcaggg tctggaatc gctcctcctg aagcacctgt	1680
tactggttac atgtttggca agggtgttta ctttgctgac atgttttcaa agagtgcaaa	1740
ctattgctac gcctctgaag catgtagatc tggagtactg cttttatgtg aggttgcat	1800
gggcatgatg aatgagctac tgaatgcaga ttacgatgct aataacctgc ccaaaggaaa	1860
attaagatcc aaggagttg gtcaaacagc acctaacatg gtcgagtcta aggtcgctga	1920
cgatggtgtt gttgttcccc ttggcgaacc caaacaggaa ctttcaaaa ggggtggctt	1980
gctttataat gagtacatag tgtacaacgt agaccagata agaatgcggt atgtcttaca	2040
tgtaacttc aatttcaaga gacggtagat gttgcaaaga gctgaaactg ttgctgagat	2100
cttagcagaa catatgtgga cttatagcac caggtgcct cagcctcatt ttctgagcaa	2160
atttgtagc ctttgcatth cgattttggt ttcagcttct agccccattg atgattgata	2220
ctgagtgtat atatgaacca ttgatatcca ctttccatgt acttaagttt tttaacatg	2280
tcccatgcat aataa	2295

[0012]

<210> 6  
 <211> 1384  
 <212> DNA  
 <213> 人工的  
  
 <220>  
 <223> 来自棉花的 parp2 部分编码区  
  
 <220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (3)..(460)  
 <223> 可读框  
  
 <400> 6  
 gagaagatbg ttacagcgac gaggaagggg tggctgttct ggatcaaggg atcccagatg 60  
 acataaaggc tcattatcat gttctacaaa agggatgatga tatctatgat gccatgttaa 120  
 atcagacgaa tgttgggcaa aacaataaca aattctttgt gatccagctt ctagaatctg 180  
 atgactcgaa gacatacatg gttcataaca gatgggtag agttggtgtg aagggtcaaa 240  
 ttaagttaca tggccccttt acttcacgac aagccgcaat tgatgagttt caaaccaaat 300  
 tctttaacaa gaccaaaaac tattggtaca acagaaaaga cttgtttgt cacccaaagt 360  
 gctacacctt gctggagatg gactatgatg aaaaagaaaa ggaatctgat gtcaaaagaa 420  
 aggctaactc ttccattggt gctcaattgc gggagacaaa gcttgaacaa cgtgttgcta 480  
 agtttatctc tattatatgc aatatcagca tgatgaagca acaaatgatg gaaataggat 540  
 acaatgctga caagttgcct cttggtaagc taagcaaatc cacaatttta aagggtatg 600  
 atgtcttaaa gaaaattgct gatgtgattg accagtcaaa caggagcaag cttgagcaat 660  
 taagttcgga attttacacc gtgattccac atgattttgg atttagaaaa atgctgtgatt 720  
 ttgtcatcga cacacctcag aagttgaaaa agaagttgga aatggttgaa gccctgggag 780  
 aaatagaggt cgcacataaaa ttattaatgg atgacattac gatggaggaa gatcctttat 840  
 attatcggtc ccaacagctt cactgtgaac tgtttctctc tgacaatgat actgaggagt 900  
 tcgctttgat tgtaaagtat attcagaata ctcatgctca gacacattca aattatacag 960  
 ttgatgttgt tcaaatattc aaggtagaaa gagacggtga aagtgaacgc tttaaaaagt 1020  
 tttctggaac aaaaaataga atgctgttgt ggcatggttc tcgcttact aactggactg 1080

[0013]

gcattctgtc ccaaggtttg cgcattgctc cacctgaagc gcctgccacg ggttatatgt	1140
ttgggaagg ggtttacttt gctgatatgt tctccaaaag tgcaaattat tgctatacta	1200
attctgcctt cacaacagg gtgttgcttc tatgtgaggt tgcctgggt gacatggctg	1260
agcttctaca agctaaaagc gatgctgata agctgccgga tgggaagttg agcacaaaag	1320
gtgttggtgc aactgcaccg gatccttctg aagcccagtc acttgatgat ggtgttgtg	1380
ttcc	1384
<210> 7	
<211> 1647	
<212> DNA	
<213> 拟南芥	
<400> 7	
atggagaatc gcgaagatct taactcaatt ctccgtacc ttccacttgt aattcgttcg	60
tctctcgtgt attggccgcc gcgtgtggtg gaggcgttaa aggcaatgct tgaaggacca	120
tctcacagcc aagttgactc aggagaggtt ctacggcaag ctattttcga tatgagacga	180
tccttatctt tctctactct cgagccatct gcttctaag gctacgcatt tctctttgac	240
gaattgattg atgagaaaga atcaaagaga tggttcgatg agattatccc agcattggcg	300
agcttacttc tacagtttcc atctctgtta gaagtgcatt tccaaaatgc tgataatatt	360
gtagtgga tcaaaaccgg tcttcgtttg ttaaattccc aacaagctgg cattgttttc	420
ctcagccagg agttgattgg agctcttctt gcatgctctt tcttttgttt gtttccggat	480
gataatagag gtgcaaaaca ccttccagtc atcaactttg atcatttgtt tgcaagcctt	540
tatataagtt atagcaaaag tcaagaaagc aagataagat gtattatgca ttactttgaa	600
aggttttgct cctgcgtgcc tatttgtatt gtttcatttg aacgcaagat taccgctgct	660
cctgatgctg atttctggag caagtctgac gtttctcttt gtgcatttaa gtttactct	720
tttgggttaa ttgaagatca acctgacaat gctctcgaag tggactttgc aaacaagtat	780
ctcggaggtg gttccctaag tagagggtgc gtgcaggaag agatacgctt catgattaac	840
cctgaattaa tcgctggcat gcttttcttg cctcggatgg atgacaatga agctatagaa	900
atagttggtg cggaaagatt ttcattgtac acagggtatg catcttcggt tcggtttgct	960
ggtgagtaca ttgacaaaaa ggcaatggat cctttcaaaa ggcgaagaac cagaattggt	1020

[0014]

gcaattgatg cattatgtac accgaagatg agacacttta aagatatatg tcttttaagg 1080  
 gaaattaata aggcactatg tggcttttta aattgtagca aggcttggga gcaccagaat 1140  
 atattcatgg atgaaggaga taatgaaatt cagcttgtcc gaaacggcag agattctggt 1200  
 cttctgcgta cagaaactac tgcgtcacac cgaactccac taaatgatgt tgagatgaat 1260  
 agagaaaagc ctgctaacia tcttatcaga gatttttatg tggaggagt tgataacgag 1320  
 gatcatgaag atgatggtgt cgcgacagg aattgggat gtggtgtttt tggaggagac 1380  
 ccagagctaa aggctacgat acaatggctt gctgcttccc agactcgaag accatttata 1440  
 tcatattaca ctttggagt agaggcactc cgaacctag atcaggtgac gaagtggatt 1500  
 ctttccata aatggactgt tggagatctg tggacatga ttttagaata ttctgctcaa 1560  
 aggctctaca agcaaaccag tgttggcttc ttttcttggc tacttccatc tctagctacc 1620  
 accaacaag ctatccagcc gccttga 1647

<210> 8

<211> 598

<212> DNA

<213> 马铃薯 (Solanum tuberosum)

<400> 8

gcaatggaga atagagaaga cgtgaagtca atccttccct ttttgccggt gtgtctccga 60  
 tcatcttctc ttttctggcc gccgctagtt gttgaagcac tgaaagccct ctctgaaggc 120  
 cctcattaca gcaatgtaa ctccggccaa gtcctcttcc tcgcaatctc cgacattcgg 180  
 aattcccttt cactacctga ttcttcaatt tctcttctg cttcagacgg attttctctc 240  
 ttatttgatg atttaattcc tagggatgaa gctgttaaat ggttcaaaga agtgggtgccg 300  
 aaaatggcgg atttgcatt gcggttgctt tcttattgg aggctcacta tgagaaggct 360  
 gatggtggaa ttgttaaagg agtcaacact ggtcttctgct tattggaatc acaacagcct 420  
 ggcattgttt tctcagtcga ggaattagtc ggtgctcttc ttgcatgttc cttcttttgc 480  
 tattccctac caatgataga ggtatctgta tgatcagtat gacgagaaat ttgaaaataa 540  
 attgaagtgc attcttcaat attttgagag gattggctca ttgatacctg cgggctac 598

<210> 9

[0015]

<211> 1530  
 <212> DNA  
 <213> 稻 (*Oryza sativa*)

<400> 9

atggaggcgc gcgcgacct gcgctcgatc ctgccctacc tccccgtcgt gctccgcggc	60
ggcgcgctct tctggccgcc ggcgggcag gaggcgctca aggcgctggc gctgggcccc	120
gacgtgagcc gcgtctcctc cgcgacgctc ctgcccgacg ccctcaccga cctccgcctc	180
gcgctcaacc tcgaccact cccgcgccgc gccgccgagg gcttcgcgct cttcttcgac	240
gacctcctgt cgcgggcgca ggcgcgggac tggttcgacc acgtcgcccc ctccctcgcc	300
cgctcctcc tccgctccc cacgctgctc gagggccact accgcgccgc cggcgacgag	360
gctcgcgggc tccgcatcct gagctcgag gatgccgggc tcgtgctcct cagccaggag	420
ctgcgcgcc cgctgctcgc ctgcgcgctc ttctgctgt tcccaccgc cgatagggcc	480
gaggcgtgcc tcccgggat caatttcgat agcctatttg cggcactgtg ttataattcg	540
aggcaaagcc aggagcagaa ggtgaggtgc cttgttcaact attttgacag ggtgaccgt	600
tctacaccta ctggttccgt ttcgtttgag cgtaaggttc ttcctcgccg tctgaatct	660
gatggcatta cgtaccctga catggatact tggatgaaat ctgggtgtcc cctttgcaca	720
ttccgggtat tttctcagg cttgatagaa gatgaggaac aagaagccct tgaagttgac	780
tttgcaaata gatatttggg aggtggcgca ctttcagag gctgcgtgca ggaagaaatc	840
cggttcatga taaaccaga attgatcgtg ggcactgctc tcatggttc aatggaagat	900
aatgaagcta tagaaattgt tggtcagaa aggttctcac agtacatggg gtaggttcc	960
tcattccgtt ttactggtga ctacttagat agcaaaccct ttgatcgat gggtagacgg	1020
aaaactagga tagtggcaat tgatgcttg gactgtcaa ctaggttaca gtttgaatct	1080
agtgtcttc taaggaagt gaacaaggct tttgtggat ttttgatca atcaaatcat	1140
cagctctgtg caaagcttgt ccaggattta aatacaaagg ataactgtcc aagtgtcatt	1200
cctgatgaat gcataggagt ttcaactgga aactggggtt gcggggcttt tggtggaac	1260
cctgaaatca agagcatgat tcaatggatt gctgcatcac aggcactccg atcttttatt	1320
aactactaca cttttgagtc cgaatcactg aaaagattag aagaggtgac ccagtggata	1380
ttgcgccata ggtggacggt tggcgagttg tgggacatgc ttgtggagta ttcattccag	1440

[0016]

aggctaagag gagacaccaa tgagggttt ttaacatggc tacttcccaa ggacatcccc	1500
aatggtgatg tagattacat gtgtgaatag	1530
<210> 10	
<211> 603	
<212> DNA	
<213> 玉米	
<400> 10	
tagggctgtg tgcaggagga aatccgcttc atgataaacc ccgaattgat tgtgggtatg	60
ctattcttgt cttgtatgga agataacgag gctatagaaa tctttggtgc agaacggttc	120
tcacagtata tgggttatgg ttcctccttt cgctttgttg gtgactattt agataccaaa	180
ccctttgatt cgatgggcag acggagaact aggattgtgg ctatcgatgc tttggactgt	240
ccagctaggt tacactatga atctggctgt ctcctaaggg aagtgaacaa ggcattttgt	300
ggatttttcg atcaatcgaa acaccatctc tatgcgaagc tttccagga tttgcacaac	360
aaggatgact ttcaagcat caattccagt gagtacgtag gagtttcaac aggaaactgg	420
ggttgtggtg cttttggtgg aaaccctgaa atcaagagca tgattcagtg gattgctgca	480
tcacaggctc ttcgcccttt tgttaattac tacacttttg agaacgtgtc tctgcaaaga	540
ttagaggagg tgatccagtg gatacggctt catggctgga ctgtcggcga gctgtggaac	600
ata	603
<210> 11	
<211> 651	
<212> DNA	
<213> 酿酒酵母 (Saccharomyces cerevisiae)	
<400> 11	
atgaagactt taattgttgt tgatatgcaa aatgatttta tttcaccttt aggttccttg	60
actgttccaa aaggtgagga attaataaat cctatctcgg atttgatgca agatgctgat	120
agagactggc acaggattgt ggtcaccaga gattggcacc cttccagaca tatttcgttc	180
gcaaagaacc ataaagataa agaaccctat tcaacataca cctaccactc tccaaggcca	240
ggcgatgatt ccacgcaaga gggatatttg tggcccgtac actgtgtgaa aaacacctgg	300
ggtagtcaat tggttgacca aataatggac caagtgtca ctaagcatat taagattgtc	360

[0017]

gacaagggtt tcttgactga ccgtaatac tactccgct tccacgacat ctggaacttc 420  
cataagaccg acatgaacaa gtacttagaa aagcatcata cagacgaggt ttacattgtc 480  
ggtgtagctt tggagtattg tgtcaaagcc accgccattt ccgctgcaga actaggttat 540  
aagaccactg tcctgctgga ttacacaaga cccatcagcg atgatcccga agtcatcaat 600  
aaggtaagg aagagttgaa ggcccacaac atcaatgtcg tggataaata a 651

<210> 12

<211> 1290

<212> DNA

<213> 酿酒酵母

<400> 12

ttaggtccat ctgtgcgctt cgttatcacc actccaactt cgttcagtat atcccaattc 60  
ctctttcact ctcttcacag tggcaggatc tcccatatth ttacctaagt tatcagaaat 120  
ttgatagcg tgattaccat ttacttctaa tagtttgata acgatgttta acggctcact 180  
ttaaacctgg ggttctgact tcttacgaaa atcattagta aagtttgtgc caataccgaa 240  
tgtggctagc attccattct ctttagctgc atgggagtaa gttattgcct tttcgacgtt 300  
caaagaatcg gaataacaga taatcttcga gaatttaggc aatttcaaca cgatcatgta 360  
atggtgggaa atctttttgg tatactcaac tgggtctcca gaatcttgc taacaccgac 420  
gtaagcatca gaatatggtg gacggaatga ttttaaaaag tcatcagttc caaaagtatc 480  
cgtaatgct aaaccagcat ttttgcacc aaaaglattg atccaacaat ccattgcatt 540  
tttattggca tgcaataat cttcactaat agaagcgact ccataacc actcgtgagc 600  
cacagtaccg attggcttga ctccatattt cttggcaaat aaaatatttg atgtgcctaa 660  
taatagcgat ttgtttctgt ctgggttacc gttcacagct tcatgatc cttgcataat 720  
tagatcttga gccttcagag atctacgacg tcttgtacca aattcactga atctaatacc 780  
attatcaaac aaagtttccg cttcttctc agcttgttct aattggtttt cgtagtccca 840  
gtc gatgtca acaaatttaa aatacgcttc tgatattagg gacagtaagg ggatctcata 900  
aaggatagta tcctccaac taccactgac taaaatttc aattgtagt ggggtggctt 960  
gcctcgatt tcttctgaag tgaaggaaat ctgctcttca ggggtgtagtt tgtaattaga 1020

[0018]

actgctaata tacttaatat atgccgatgg caaatatggg atttcctggt ttaagtattc	1080
aatttcctct tctgtgaacc tcaaatttcc caaatacga aattgctctt tcaaccaatt	1140
aatggcttcc ttattgaagg tcaattggga cgacctgttg gtatatttat aagtaactgt	1200
aacatctgga aaattagtga agacagcagc atgcatcgta atcttgtaca tgtctgtgtc	1260
caaaagagac tttatcactg gttctgacat	1290
<210> 13	
<211> 1206	
<212> DNA	
<213> 酿酒酵母	
<400> 13	
atggatccca caagagctcc ggatttcaaa ccgccatctg cagacgagga attgattcct	60
ccacccgacc cggaatctaa aattcccaaa tctattccaa ttattccata cgtcttagcc	120
gatgcgaatt cctctataga tgcacctttt aatattaaga ggaagaaaa gcatcctaag	180
catcatcatc accatcatca cagtcgtaaa gaaggcaatg ataaaaaaca tcagcatatt	240
ccattgaacc aagacgactt tcaaccactt tccgcagaag tgtcttccga agatgatgac	300
gcgatttta gatccaagga gagatacggg tcagattcaa ccacagaatc agaaactaga	360
ggtgttcaga aatcagat tgctgattta gaagaagttc cacatggaat cgttcgtaa	420
gcaagaacct tggaagacta cgaattcccc tcacacagat tatcgaaaa attactggat	480
ccaaataaac tgccgttagt aatagtagca tgtgggtctt tttaccaat cacctacttg	540
catctaagaa tgtttgaat ggctttagat gcaatctctg aacaacaag gtttgaagtc	600
ataggtggat attactcccc tgtttagtat aactatcaaa agcaaggctt ggccccatcc	660
taccatagag tacgtatgtg tgaattggcc tgcgaaagaa cctcatcttg gttgatggtg	720
gatgcatggg agtcattgca accttcatac acaagaactg ccaaggtctt ggatcatttc	780
aatcacgaaa tcaatattaa gagaggtggg gtagctactg ttactggaga aaaaattggt	840
gtgaaaataa tgttgctggc tgggtgtgac ctaatagagt caatgggtga accaaacgtt	900
tggcgacg ccgatttaca tcacattctc ggtaattacg gttgtttgat tgtcgaactg	960
actggttctg atgtaagtc tttttgtta tcccatgata ttatgtatga acatagaagg	1020
aatattctta tcatcaagca actcatctat aatgatattt cttccacgaa agttcgteta	1080

[0019]



tttatcagac ggcgatgtc tgtacaatat ttgttaccta attcggatcat caggatatatc	1140
caagaacata gactatatgt ggaccaaaccc gaacctgtta agcaagttct tggaaacaaa	1200
gaatga	1206
<210> 14	
<211> 1188	
<212> DNA	
<213> 酿酒酵母	
<400> 14	
atggatccca ccaaagcacc cgattttaaa ccgccacagc caaatgaaga actacaacca	60
ccgccagatc caacacatac gatacaaaaa tctggacca tagttccata tgttttagct	120
gattataatt cttcgatcga tgctcctttc aatctcgaca ttacaaaac cctgtcgtca	180
aggaaaaaaaa acgccaactc aagcaaccga atggaccata ttccattaaa tactagtgac	240
ttccagccac tatctcggga tgtatcatcg gaggaggaaa gtgaaggca atcgaatgga	300
attgacgcta ctctacagga tgttacgatg actgggaatt tgggggtact gaagagccaa	360
attgctgatt tggaagaagt tectcacaca attgtaagac aagccagaac tattgaagat	420
tacgaatttc ctgtacacag attgacgaaa aagttacaag atcctgaaaa actgcctctg	480
atcatcgttg cttgtggatc attttctccc ataacatacc tacatttgag aatgtttgaa	540
atggcttttag atgatatcaa tgagcaaagc cgttttgaa ggtttggtgg ttatttttct	600
ccagtaagtg ataactatca aaagcgaggg ttagccccag cttatcatcg tgtccgatg	660
tgcaatttag catgcgagcg gacatcatct tggttaatgg ttgatgcctg ggaatcttta	720
caatcaagtt atacaaggac agcaaaaagtc ttggaccatt tcaatcatga aataaatatc	780
aagagaggtg gaatcatgac tgtagatggt gaaaaaatgg gcgtaaaaat catgttattg	840
gcaggcggtg atcttatcga atccatgggc gacccatcg tgtgggctga ttcagacctg	900
caccatattt tgggtaatta tggatgtttg atcgtggaaa ggactgggtc tgatgttagg	960
tccttcttgc tttccatga tatcatgtat gaacacagaa gaaatatacct tattatcaaa	1020
caacttattt acaatgatat ttctctacg aaagtgcggc tttcatcag acgtggaatg	1080
tcagttcaat atcttcttcc aaactctgtc atccgttaca tccaagagta taatctatac	1140

[0020]

attaatcaaa gtgaaccggt caagcaggtc ttggatagca aagagtga	1188
<210> 15	
<211> 2145	
<212> DNA	
<213> 酿酒酵母	
<400> 15	
atgtcacatc ttatcacitt agctacatgc aacttgaatc aatgggccct agattttgaa	60
ggtaatagag accgtatcct acagtccatt aagattgcca aagagagggg tgccaggtta	120
cgtgtcggcc cagaactgga aataactggc tacggatggt tagatcattt tttagaaaat	180
gacgtttgcc ttcatctatg ggaaatgtat gctcaaatca ttaagaataa agaaacccat	240
ggattaatac ttgacattgg tatgcccggt ctacacaaga atgttcgta taattgtcgt	300
ttgttatect tggatgggta gatattgttc ataagacct agatttgggt agctaataat	360
ggtaactata gggaaatgag atttttcaca ccttggatga aacctggcgt ggtggaggac	420
tttatcctc cacctgagat tcagaaagt accggccaga gacttgtgcc atttggggac	480
gctgtgataa attcattgga tacatgcatt ggtacagaaa cttgtgaaga attgtttaca	540
cctcaatccc cccacategc catgtcttta gatggtgtgg aatcatgac aaactcatct	600
ggttctcatc atgaactgcg taagttaaat aaaaggtag acctaatctt aatgccact	660
aaacgttggt gtggtgttta cttgtatgca aatcaaagag gttgtgatgg tgacagatta	720
tattatgatg gctgtgcact aattgccatc aatggtacaa ttgtagccca aggttcacaa	780
tttctgctag atgatgtgga agtagttact gctactgtgg acctagaaga ggtgaggagt	840
tatcgtgcag ctgtcatgtc tcgtggccta caagcctcct tggcagaaat aaagttcaag	900
cgtattgata ttctgtaga attggcttta atgacctcca gatttgatcc tacagtgtgt	960
ccaacaaaag tccgcgagcc tttctatcac tctctgagg aagaaattgc actgggacct	1020
gcttgcctga tgtgggatta ttttaagact tgtaacggaa cagggttttt cttccctta	1080
tctgggggca ttgactcttg tgcaactgca atgattgtcc actctatgtg ccgttttagt	1140
accgacgctg ctcaaatgg aatgagcaa gttatcaaag acgttcgtaa gataacacgt	1200
agcggcgatg attggattcc agacagtcca caggatctag cctcaaaaat atttactcc	1260
tgtttcatgg gtacggaaaa ttcatccaag gagacaagaa acagagcaaa ggacctttcc	1320

[0021]

aatgcaattg gatcttacca cgtggattta aagatggact cattggatc cagtgtggtg 1380  
tccttattcg aagtagccac tggcaaaaa ccaatataca aaatatttg gggatctcaa 1440  
atcgagaact tggctttaca aaacatccag gcgcgtctaa gaatggttct ttcttatctt 1500  
tttgcgcaac tgttgccgtg ggttcgtggt atcccaaact cgggtggatt gttagtactt 1560  
ggtagcgcaa atgttgatga gtgcttacgt gggatctaa caaaataga ctgctcctcc 1620  
gcagatatca accctattgg gggattttca aaaactgact tgaagagatt cattgcctac 1680  
gcatcaaac aatataacat gccaatcttg aatgactttt taaacgctac accaactgca 1740  
gaattagaac ctatgactaa agattacgtt caatcggatg agatagatat ggggatgacg 1800  
tatgaagaat tgggcgtgtt tggttaccta agaaaggtg aaaaatgttg tccttattct 1860  
atgttcttaa aacttctca tcaatggtcc ccaaagtaa cacctcgtca aatatctgaa 1920  
aaggtagaaa gatttttctt cttctatgcc atcaacagac acaagcaaac tgttttaact 1980  
cctagttatc atgctgaaca gtattcacca gaagacaaca gatttgactt acgtcctttc 2040  
ttaatcaacc caagatttcc atgggcttca agaaaaattg atgaagttgt cgagcagtgt 2100  
gaagcacata aaggetcaac gcttgacatt atgtctattg attag 2145

<210> 16

<211> 597

<212> DNA

<213> 拟南芥

<400> 16

atggcttctt catcaacgag aaagtacgag acacgaaagc gagatccaaa ctctaaaatc 60  
gcagctcttc tcgttatcga catgcagaat cacttctcct ccatggccaa acccatcctc 120  
aacaacgttc tcaccacat cgacatctgc cgacgcgctt cagtccccgt attctttacg 180  
cgtcacaacc acaaatcccc gaccgaccac ggcattgctg gcgagtgggtg taacggcgat 240  
gtaatccttg acggaaccac cgattctgaa atcatccagg agatacaagg ccaagtaacc 300  
ggaccagacg agatggtgga gaagaacacg tacagtgcgt ttaacaaaac cgcctccag 360  
gaaaacctgg aaaagatcgg agtaaaggag gtgatcgtga tcggagtgat gacgaacttg 420  
tgctgtgaga caacggcgcg tgaagcgttt attaagggtt ttagggtttt tttctcgacg 480

[0022]

gacgcgactg cgacgtttaa tgaggagctt cacgaggcta cgctaatgaa tctcgctttt	540
ggcttcgctt atctcgtcga ttgcgataaa ctccggcgaa gtctactcgg taactaa	597
<210> 17	
<211> 597	
<212> DNA	
<213> 拟南芥	
<400> 17	
atggcttctt catcatcgag aacgtacgag acacgaaagc gagagccaaa tcctaaaatc	60
gcagctcttc tcgtcatcga tatgcagaat cacttctact ctatggctga accaatcctc	120
caaaacgctc tcaccacat cgacatctgc cgacgcgctt caatccccgt attcttcacg	180
cgccacaacc acaaatcccc aaccgaccac ggcatgctcg gagagtggcg gaacggcgat	240
ctaactctcg acggaaccac tgattccgaa atcatcccgg aaatcaatcg ccaggtcacc	300
ggaccagacg aaatcgtgga gaagagcacg tacagtgcgt ttaacaacac gcaccttcag	360
gagaagctgg acaagatcgg agtgaaggag gtgatcggtta tcggagtgat gacgaaccta	420
tgctgtgaga cgacggcgcg tgaagcgttt gtaaagggtt ttagggtttt tttctcgacg	480
gacgcgactg cgacggttaa tgaagagctt cacgaggcta ctctaatgaa tctcgcglat	540
ggctttgctt atctcgtcga ttgcgataga ctccggcgag gtctactcag tagttaa	597
<210> 18	
<211> 591	
<212> DNA	
<213> 拟南芥	
<400> 18	
atggccgaga gatggaggaa cacggctcta ctcgtcatcg acatgcagaa cgatttcata	60
gaggaaggcg ctgtgacgca agtgaaagga gaaaaatcta tagttcctaa tgttatcaga	120
gtcgtcgaac tcgcgaggca gcgtgggtatt ctcgtaattt gggttgctcg agaacatgat	180
cgtaaggaa gagatgttga attattcagg cgccataact acagttctga gaaagtcggg	240
ccagttatta aaggcaccgt aggagcagaa ttggttgatg gattgatgat caacgaagaa	300
gatgactata agattgtgaa aactcgtttc agtgctttct ttagtaccaa tcttcattcc	360
ttcttgcaaa cttcaggggt taccaagtta gtgattgctg gtgtgcaaac gccgaactgt	420

[0023]

atccggcaaa cgggtgttga tgcagtggcg ctggattatc ccaatgtgac tgttattaca	480
gatgccacag ctgctgcaac accagagatc catactgcga atattcttga catgaagaat	540
attggagtca agactcctac attacacgag tggtcgaag aacttgcttg a	591
<210> 19	
<211> 1680	
<212> DNA	
<213> 拟南芥	
<400> 19	
atggagaaga aagaaatgg tctcgatgga aagcaatcgg gtcgggtcat taacggacc	60
actaaccga tggtcacacc tctgctcaac gatctttacc aattcacat ggcttatgct	120
tattggaaag ctggcaaaaca atctgagcga tctgtgtttg atctgtattt tcgtaagaat	180
ccttttggtg gagaatacac taictttgct ggtttagaag aatgcatcaa atttctcgt	240
aatttcaatt tgactgatga agagatcgat ttcgttcgtg attcgttacc tggatgtgag	300
gaagctttct gtgattatct tcgagggctt gattgttctg acattgaagt gtatgccatt	360
tcggaaggat cagttgtttt tcctaaagtt cctttactca gaatcgaagg tctgttgct	420
gtggtgcaat tgttggaaac tccattcctc aatctcatca attacgcac tttggttgc	480
acaaatgcag caagacatcg gtttgttga ggaaaacta agcttctgct tgagtttgg	540
gctagaagag ctcagggacc cgatggtgca ataagcgcac caaagtattg ctaccttga	600
ggtttgatg caacaagtaa tgttgcagcg ggaaaactgt ttgggatacc cctccgtgt	660
actcattccc atgcttttgt tagctcattc atgagccttg atgaaattgt tgacaaagt	720
cttcgaagtt ctgatgggaa aagcacttgt aaggatttta tatgtttggt ccaaactgc	780
ctaacaaga ttcagaattc atcttcatta caaggaattt tttccgagac aatcaaagc	840
gagcttgcag cgttcatttc atatgactg gcattccca actcctttct cgtctttgta	900
gacacttatg atgtgatgaa gagtggatt ccaaacttct gtgctgttgc tctagcact	960
aatgaattgg gatacaaagc agtaggcatt agactggatt caggtgactt agcctatctt	1020
tctactgagg tcaggaaatt cttttgtgcc atagagagag acctcaaagt tctgatttc	1080
gggaagatga tcgtcactgc tagtaacgat ctaaacgaag agacagtcga tgctctaaat	1140
aaacagggtc atgaagtaga tgcatttga attggaacca acttagtgac ttgctatgct	1200

[0024]

caagctgcgt taggttgtgt tttcaaactt gtgaaataa acaatcagcc tcggatcaaa 1260  
 ctttctgaag atgttactaa ggtatcgatt ccatgtaaaa agcgtactta cagattgttc 1320  
 ggaaaagagg gttaccctct tgttgatata atgactggag agaacgaacc acctccaaag 1380  
 gtcggtgaaa ggttactttg cgcctatcca ttcaatgaat caaaaagggc ttatgtggtt 1440  
 ccacaacgcg ttgaagagct tctgaaatgt tattggcgtg gcaatgcaga tgaagctagg 1500  
 gaagagctag agccattgaa agagctaaga aatcgttgca tcaaacagct cgaaaatag 1560  
 cgacccgatc atatgagaag attaaacctt actccttata aggttagtgt cagcgccaag 1620  
 ttgtatgact tcatccactt cctctggctc aacgaagctc ctgtcgggtga actgcattga 1680

<210> 20

<211> 1674

<212> DNA

<213> 拟南芥

<400> 20

atggagccga aagagaacgg ctcagaattg ggtcagaaga tcattgacgg accaacgaat 60  
 ccaatggtca cacctttact caatgatctt tatcaattca ccatggctta tgcttattgg 120  
 aaagctggca aacacaacga acgatccggt ttcgatctgt attttcgtaa gaaccattt 180  
 ggtggtgagt aactgtggtt tgctggatta gaagagtgtg ttaagttctt agccaatttc 240  
 aaattgactg atgaagaaat cgatttcggt caagagtgtt tgcttgatc tgaggagct 300  
 tttgtgatt atcttagagg gcttgattgt tctgatgttg aagtttatgc aattccggaa 360  
 ggatcagttg tttttcctaa agtacctctc atgagagtg aaggacctgt tgggtgtggt 420  
 caattgttgg aaactccatt cctcaatctt gtcaattttg catctttggt agctactaac 480  
 gcagctagc atcgctttgt tgccgaaaa tctaagagtc tactcgagtt tgggtgctga 540  
 aggctcagg gtccgatgg tgcaataagc gcatcaaaat attgctacct tggaggtttt 600  
 gatgcaaca gtaatgtagc agctggaaaa ctttttgga ttctcttcg tggaaacacac 660  
 tctcatgctt atgttagctc attcatgagt actgatgaga ttgtgacaa agtacttcgt 720  
 agtgcctgat ggaaaaccac gtgcgaggat tttgttagtc atgttcagac atggttaaaa 780  
 aagattcagt attcaccatc tctaagtggc attttctctg agacaaatca aagcgagcta 840

[0025]

gcagctttca cctcatatgc actggcattc cccaaaactt ttcttgcctt cgtagataca	900
tacgatgtga tgaagagtgg aatccctaac ttctgtgcag ttgctttagc actcaatgac	960
tttgatata aagcattagg tattagactg gattcaggtg atttagctta tctatctaga	1020
gaggccagaa atttcttctg cacggtagag agagaactaa aagtgccctg ttttggaag	1080
atggctgca ctgctagtaa tgatctaaat gaagagacga ttgacgcttt aaataaacag	1140
ggacatgagg tggatgcttt tggeatcggg acctacttgg tcacttgcta ttcacaagcg	1200
gccttaggtt gcgttttcaa acttgtggag ataaacaatc agcctcggat taaactttct	1260
gaagatgtta caaaggtatc aataccgtgt aaaaagcgaa gttacagatt atacggcaaa	1320
gaaggttacc ctctggtaga tataatgact ggagagaacg aaccacctcc aaaggttgg	1380
gagcgtttac tttgtcgtca ccattcaac gaatccaaaa gagcatatgt agtgccacaa	1440
cgtgtcgaag agctcctcaa atgttattgg cgtggaagtg cagatgaagc aagagaagta	1500
ttaccgcctt tgaaagagat aagagaccgt tgcatcaaac agctcgaaaa catgcgacct	1560
gatcatatga ggagattaaa cccaactcct tataaggtta gtgtaagcgc aaagctgtac	1620
gatttcatcc acttcttatg gctaaacgaa gcacctgttg gtgaattgca gtga	1674

<210> 21  
 <211> 717  
 <212> DNA  
 <213> 拟南芥

<400> 21	
atggatgtcc cgttaccagt cgagaaatta tcttatggat caaacactga ggacaaaact	60
tgtgtagtgc ttgtggcaac tgggagtffc aatcctccta ctttcatgca ttacgcatg	120
tttgagctgg cgagagatga attacgctca aaaggatttc atgttcttgg aggatatatg	180
tctcctgtta atgatgcata taagaagaag ggccttttat ctgcagaaca tcgtttagag	240
atgtgtaatg tatcatgtca aagctctgac ttigttaatgg ttgatccgtg ggaggcatct	300
caaagcaact accaacgaac tttgacggtt ttatcaaggg tcaagacttt ctaacaaca	360
aatcgacatg taccgagga atctctcaaa gtcatgctac tatgtggctc ggatttactg	420
ctatctttct gcactcccgg tgtttggatc cctgaacagt taagaactat ttgcaaagat	480
tatggcattg tgtgcatccg tagagaagga caagatgttg aaaatatgat ctctggtgac	540

[0026]

gaaatcttaa acgaaaactg tgctaacgtc aaaatcgttg acaatactgt tcctaataca	600
atcagttcga gtagattaag gcaatgcatt tcgcgagggt ttcggttaa atacttgact	660
gaagatggag taatagatta tatcagacaa catcaactat aactgagct cacatga	717
<210> 22	
<211> 2178	
<212> DNA	
<213> 拟南芥	
<400> 22	
atgaggctgt tgaaggtgc tacgtgtaac ttgaaccaat gggccatgga ttctgagagc	60
aacatgaaga acatcaaggc ttcgatcgtc gaggcaaagg ctgctgggtc tgttatcagg	120
cttgaccg agctcaggt cactggctat ggttgcgagg atcacttctt ggaactcgac	180
actgtcactc atgcgtggga gtgtttgaag gaattgctgc ttggtgattg gacggatgat	240
atthttgtgca gcataggaat gcctgtgatt aaaggagcag agcgttataa ctgccaggtt	300
ctctgtatga acagaagaat catcatgatt cgaccgaaa tgggctcgc aaacgatgga	360
aactataggg agctacggtg gttcacagct tggaagcaga gagaagagct agaggaattt	420
cagctcccca ttgaaatttc agaggctttg gagcagaaat cagtcccttt tggttatggt	480
tacatccagt ttatcgacac ggctgttgca gctgaagtct gtgaggaact gtttagtcca	540
cttctcctc atgccgagct cgattgaaat ggtgttgaag tatttatgaa tgcaagtggg	600
agtcatcacc aacttaggaa actagatatt cgtctgaatg ctthttatggg ggctactcat	660
gctcgtggtg ggggtgtatat gtacagtaat caacaaggat gcgatggtag ccgcttatac	720
tacgatggat gtgcatgtat tgttgtaaac gggaatgttg ttgctcaagg ctcaaatc	780
tcgttgagag acgttgaggt catcatttca caagtggatc ttgatgcggt tgctagcctt	840
cgtggatcta taagtagctt tcaggaacaa gcaagctgca aggttaaagt atcttcagta	900
gctgtgcct gtagacttac acagtccttc aacctgaaaa tgacactaag cagtccgaag	960
aagatcattt accactctcc acaagaagaa atagcctttg gtcccgttg ctggatgtgg	1020
gactatttga gaagaagtgg cgcttcagga tttttgctc ctctttctgg cggagcagac	1080
agctcctccg tggcagctat tgttggtgc atgtgccaac ttgttgtaa agagattgca	1140

[0027]



---

aaggagatg agcaagtaa agctgatgcg aaccgaattg ggaattatgc taatgggcag	1200
tttcctactg atagcaaaga gttgccaac cgaatatttt acactgtctt tatgggttct	1260
gaaaacagtt ctgaggagac aaaaaggcgt tcaaagcagc tggcagacga gattggtgct	1320
tggcatcttg atgtttgcat agatggtggt gtctctgcag tttatcatt attcaaaca	1380
gttacaggca agcgaccaag gtataaggtt gatggaggat caaatgctga gaaccttggg	1440
ttgcagaaca ttcaagcccg gatgagaatg gtgtagcat ttatgtagc gtctctcttg	1500
ccttgggttc atagcaaacc aggcttttac cttgttctag gcagctcaa cgttgatgaa	1560
ggacttcgtg gttacctgac aaagtatgat tgcagctcag cagacataaa tcctatagga	1620
agtatcagta aatggattt gaggttgttc ttaaatggg ctgcaacgaa tctcgatat	1680
ccatccttgg cagagataga agctgctcca ccaacagctg agcttgagcc cattcgttct	1740
gactattctc agctcgatga agtcgacatg ggaatgacat atgaagagct ttcagtctat	1800
ggaaggatga ggaagatatt ccgttgtgga ccagtatcta tgttcaagaa tctatgttac	1860
aagtggggaa caaagctaag cccagcagaa gtagctgaga aagtgaagta tttcttcaaa	1920
tattattcga tcaatcgaca caaatgact gtcctcacac cgtcttatca cgctgagagt	1980
tactccccag aggacaacag attcgatctg aggcagtttc tgtacaacag caagtggcca	2040
taccagtta agaagattga cgagattggt gacagcttaa atggtgactc agttgctttc	2100
ccggaagaag aagcaaacct caacaaagaa attggagttg tagcagcaaa ctccggagac	2160
ccaagtgcgg gtctctga	2178

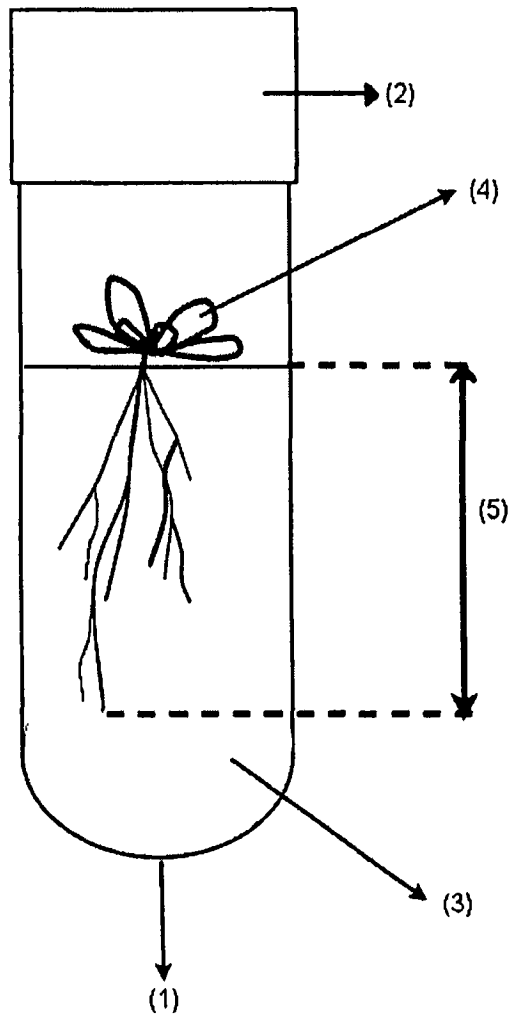


图 1

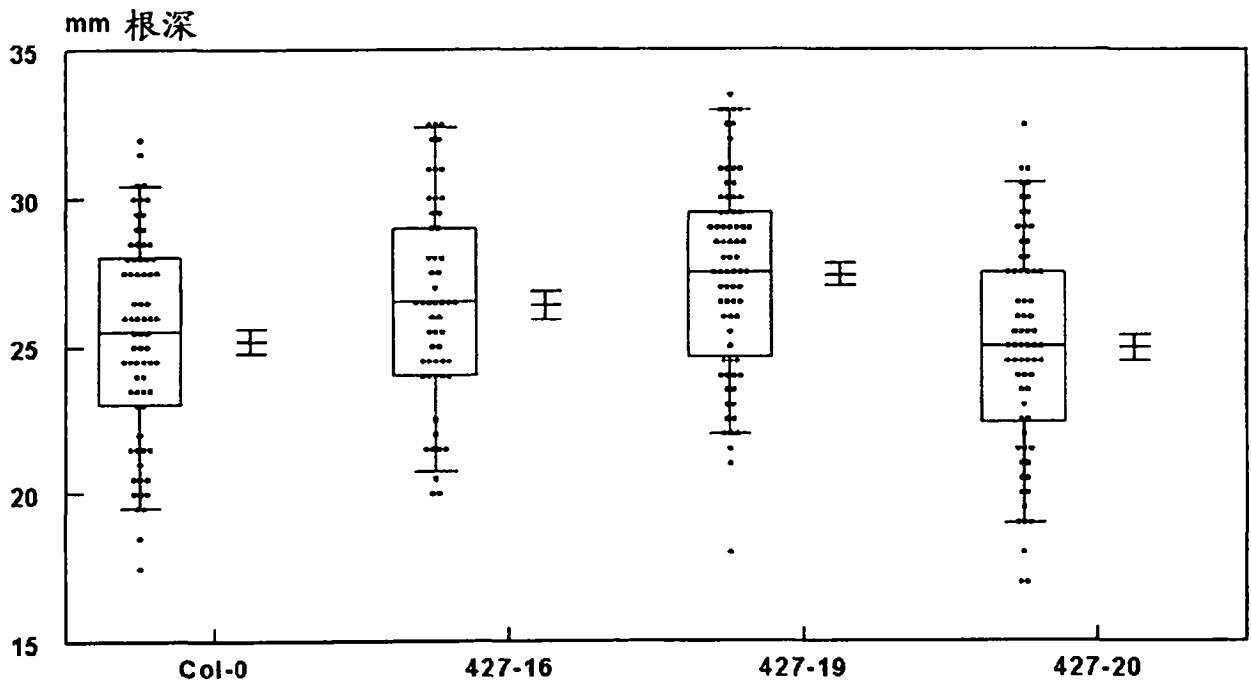


图 2

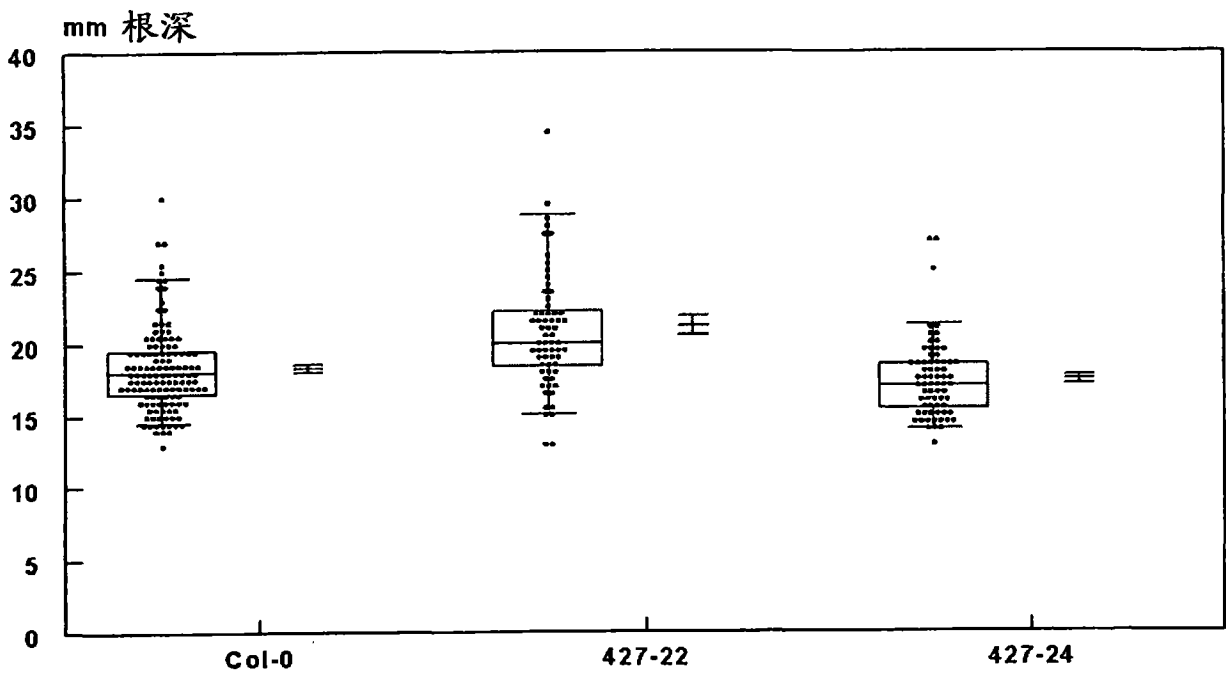


图 3

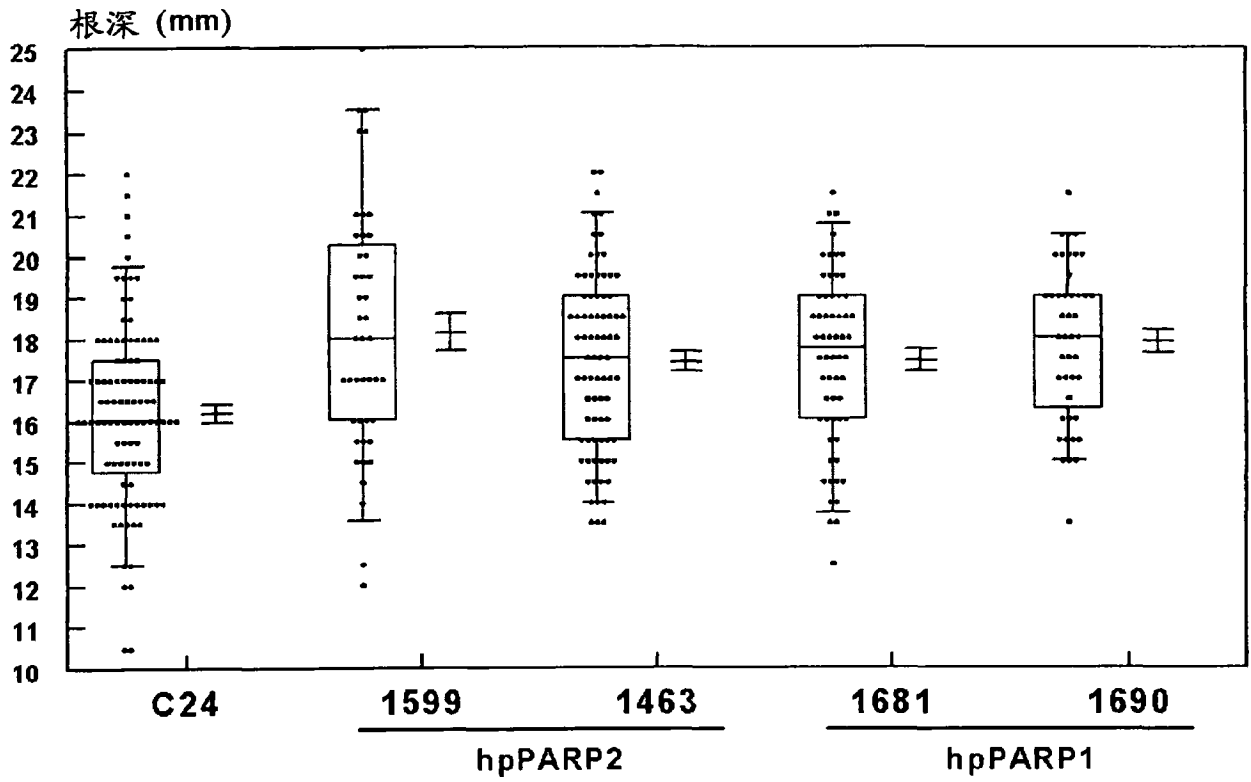


图 4

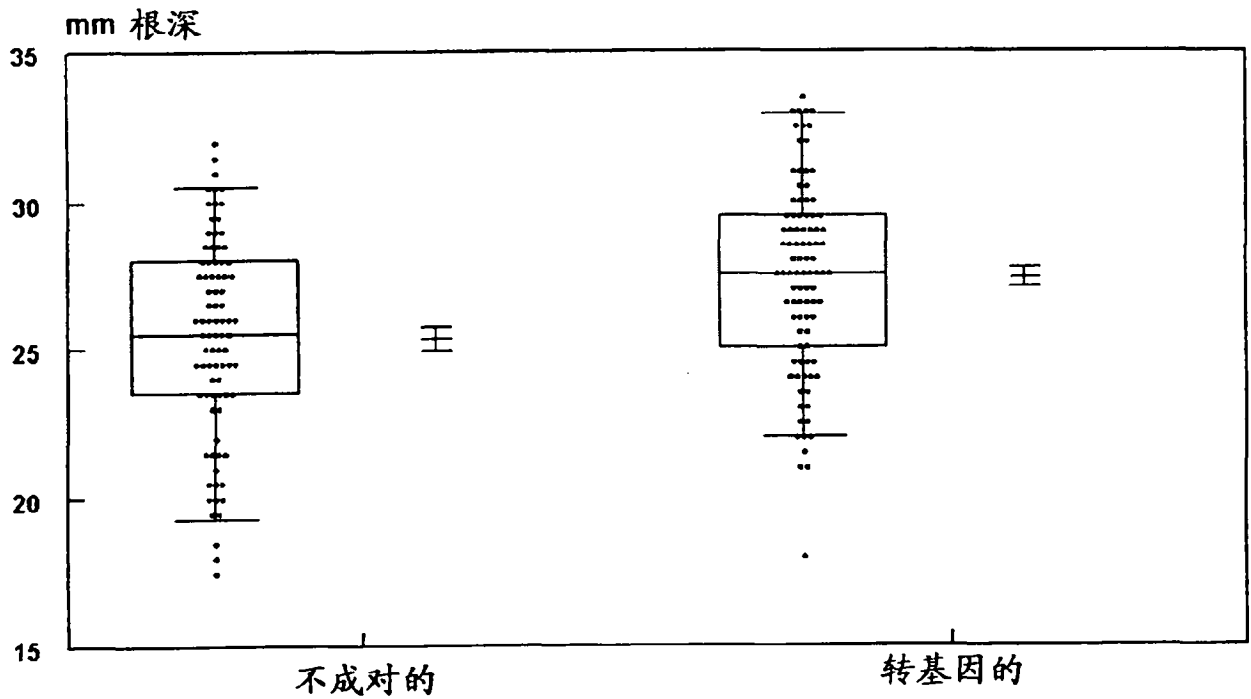


图 5

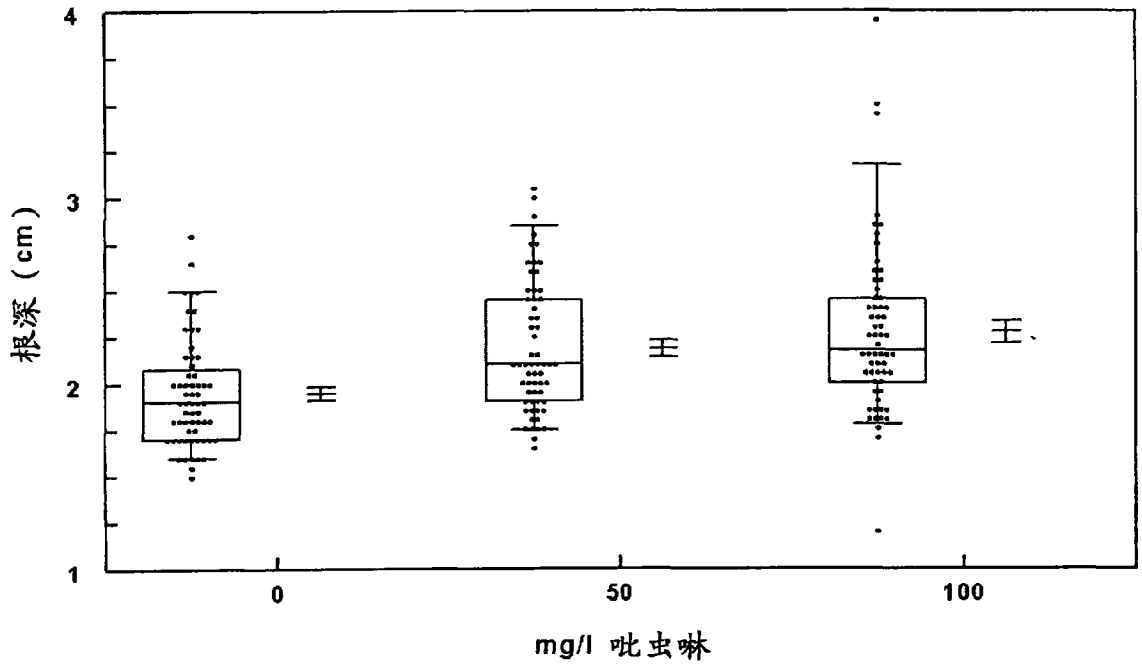


图 6

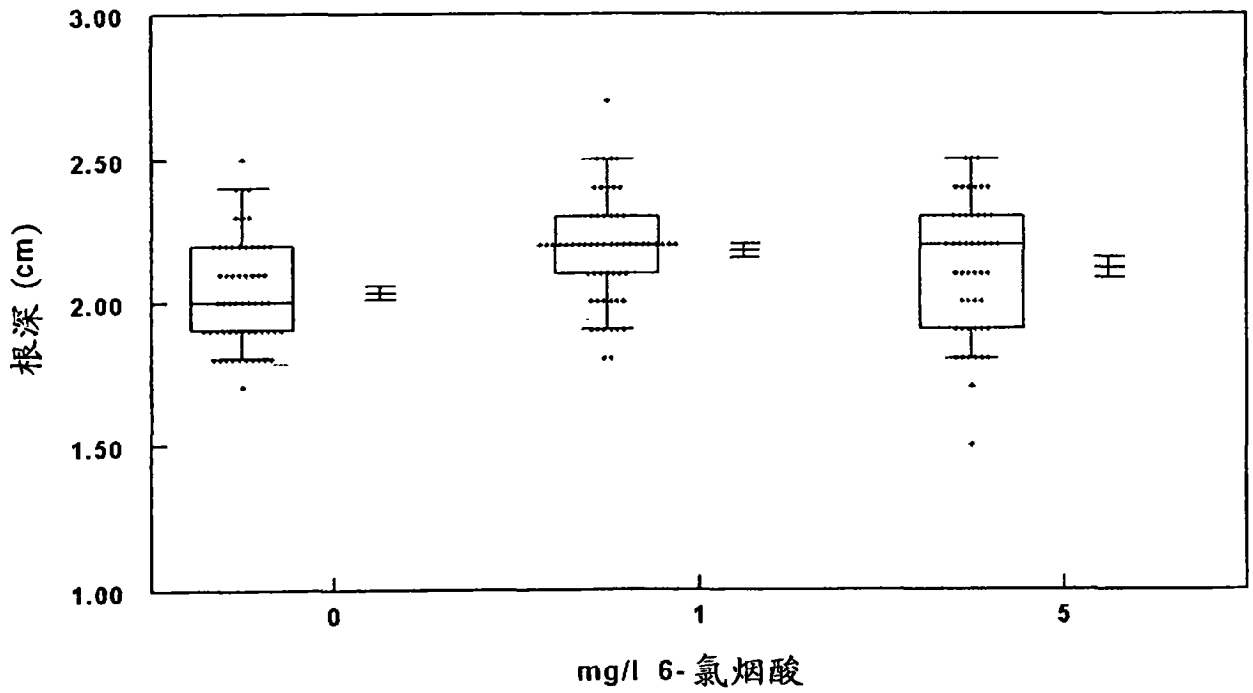


图 7