



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 113372421 A

(43) 申请公布日 2021.09.10

(21) 申请号 202110543015.2

(22) 申请日 2015.10.14

(30) 优先权数据

62/064810 2014.10.16 US

(62) 分案原申请数据

201580056320.1 2015.10.14

(71) 申请人 先锋国际良种公司

地址 美国依阿华州

申请人 纳幕尔杜邦公司

(72) 发明人 J·K·巴里 D·W·克拉克

J·J·恩格里斯 A·安格

E·J·谢佩斯 J·祁

J·A·里塞

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司 72001

代理人 李波 黄希贵

(51) Int.Cl.

C07K 14/415 (2006.01)

C12N 15/82 (2006.01)

A01N 37/46 (2006.01)

A01N 65/00 (2009.01)

A01N 65/04 (2009.01)

A01P 7/04 (2006.01)

权利要求书1页 说明书106页

序列表109页 附图24页

(54) 发明名称

杀昆虫蛋白及其使用方法

(57) 摘要

本发明涉及杀昆虫蛋白及其使用方法。本发明提供了用于防治害虫的组合物和方法。所述方法涉及用编码杀昆虫蛋白的核酸序列转化生物体。具体地讲,所述核酸序列可用于制备具有杀昆虫活性的植物和微生物。因此,本发明提供了转化的细菌、植物、植物细胞、植物组织和种子。组合物是细菌物种的杀昆虫核酸和蛋白。所述序列可用于构建表达载体以用于后续转化到包括植物的所关注的生物体中,用作分离其它同源(或部分同源)基因的探针。所述杀虫蛋白可用于防治、抑制生长或杀灭鳞翅目、鞘翅目、双翅目、真菌、半翅目和线虫害虫种群,以及用于产生具有杀昆虫活性的组合物。

1. 一种重组的PtIP-96多肽,其由SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 9、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 42或SEQ ID NO: 54的氨基酸序列所示。
2. 一种重组多核苷酸,所述重组多核苷酸编码根据权利要求1所述的PtIP-96多肽。
3. 根据权利要求2所述的重组多核苷酸,其中所述多核苷酸为cDNA。
4. 根据权利要求2所述的重组多核苷酸,其中所述多核苷酸为合成多核苷酸。
5. 根据权利要求4所述的重组多核苷酸,其中所述多核苷酸具有经优化以在农业上重要的作物中表达的密码子。
6. 一种生产转基因植物或植物细胞的方法,其包括将根据权利要求2至5中任一项所述的多核苷酸引入植物或植物细胞。
7. 一种DNA构建体,其包含可操作地连接至异源调控元件的根据权利要求2至5中任一项所述的多核苷酸。
8. 一种生产转基因植物或植物细胞的方法,其包括将根据权利要求7所述的DNA构建体引入植物或植物细胞。
9. 一种组合物,其包含根据权利要求1所述的PtIP-96多肽。
10. 一种用于防治鳞翅目昆虫害虫种群的方法,所述方法包括使所述昆虫害虫种群与根据权利要求1所述的PtIP-96多肽接触。
11. 一种抑制生长或杀灭鳞翅目昆虫害虫的方法,所述方法包括使所述昆虫害虫与包含根据权利要求1所述的PtIP-96多肽的组合物接触。
12. 一种防治转基因植物中的鳞翅目昆虫侵染并提供昆虫抗性治理的方法,所述方法包括在所述植物中表达根据权利要求1所述的PtIP-96多肽。
13. 一种用于防治鳞翅目昆虫害虫种群的方法,所述方法包括使所述昆虫害虫种群与根据权利要求6或8所述的方法生产的转基因植物或植物细胞接触。
14. 一种抑制生长或杀灭鳞翅目昆虫害虫的方法,所述方法包括用根据权利要求7所述的DNA构建体转化植物或植物细胞。
15. 根据权利要求14所述的方法,所述方法还包括使所述昆虫害虫与所述转基因植物或植物细胞接触。
16. 根据权利要求14或15所述的方法,其中所述昆虫害虫为玉米穗虫(谷实夜蛾)。
17. 根据权利要求11、12或14中任一项所述的方法,其中所述鳞翅目昆虫害虫或昆虫害虫种群对至少一种Bt毒素具有抗性。
18. 根据权利要求1所述的PtIP-96多肽抑制生长或杀灭鳞翅目昆虫或昆虫种群的用途。

杀昆虫蛋白及其使用方法

[0001] 本申请是申请日为2015年10月14日的中国专利申请201580056320.1“杀昆虫蛋白及其使用方法”的分案申请。

[0002] 对以电子方式提交的序列表的引用

[0003] 通过EFS-Web以电子方式将序列列表的正式文本作为ASCII格式的序列列表提交,该文件名称为“6584WOPCT_sequence_listing”,创建日期为2015年9月14日,文件大小为255千字节,并且该文件与本说明书同时提交。该ASCII格式文档中所含的序列表是本说明书的一部分,并且全文以引用的方式并入本文。

技术领域

[0004] 本发明涉及分子生物学领域。提供了编码杀虫蛋白的新型基因。这些杀虫蛋白以及编码它们的核酸序列可用于制备杀虫制剂并且可用于产生转基因抗虫害植物。

背景技术

[0005] 使用微生物剂如真菌、细菌或者另一种昆虫对具有农业意义的昆虫害虫进行生物防治,可提供具有环境友好性和商业吸引力的合成化学杀虫剂替代方案。一般而言,生物杀虫剂的使用造成的污染和环境危害的风险较低,并且生物杀虫剂能提供比传统广谱化学杀虫剂的特征性靶特异性更高的靶特异性。另外,生物杀虫剂的生产成本往往较低,因此能提高众多作物的经济产量。

[0006] 已知芽孢杆菌属(*Bacillus*)微生物的某些物种对于一系列昆虫害虫具有杀虫活性,这些昆虫害虫包括鳞翅目(Lepidoptera)、双翅目(Diptera)、鞘翅目(Coleoptera)、半翅目(Hemiptera)害虫以及其它昆虫害虫。苏云金芽孢杆菌(*Bacillus thuringiensis*) (Bt)和日本金龟子芽孢杆菌(*Bacillus popilliae*)是至今为止发现的最成功的生物防治剂的代表。昆虫致病性也被认为是由幼虫芽孢杆菌(*B. larvae*)、缓病芽孢杆菌(*B. lentimorbus*)、球形芽孢杆菌(*B. sphaericus*)和蜡样芽孢杆菌(*B. cereus*)的菌株引起的。微生物杀昆虫剂特别是那些从芽孢杆菌(*Bacillus*)菌株获得的微生物杀昆虫剂,在农业上作为害虫化学防治的替代方案已起到重要的作用。

[0007] 最近,已通过对作物进行遗传工程改造以产生来自芽孢杆菌的杀虫蛋白,开发出了昆虫抗性增强的作物。例如,已对玉米和棉花植物进行遗传工程改造以产生从Bt的菌株分离的杀虫蛋白。这些经遗传工程改造的作物目前在农业中广泛应用,给农场主提供了传统昆虫防治方法的环境友好的替代方案。虽然这些经遗传工程改造的抗昆虫作物已证明在商业上十分成功,但它们仅对较窄范围的经济上重要的昆虫害虫具有抗性。在一些情况中,昆虫可产生对不同杀昆虫化合物的抗性,使得有必要寻找替代的生物防治剂来进行害虫防治。

[0008] 因此,仍然需要针对昆虫害虫具有不同范围杀昆虫活性的新杀虫蛋白,例如对于鳞翅目和鞘翅目的多种昆虫具有活性的杀昆虫蛋白,所述多种昆虫包括但不限于已对现有杀昆虫剂产生抗性的昆虫害虫。

发明内容

[0009] 提供了将杀虫活性赋予细菌、植物、植物细胞、组织和种子的组合物和方法。组合物包含编码杀虫和杀昆虫多肽的序列的核酸分子、含有那些核酸分子的载体以及含有所述载体的宿主细胞。组合物还包含杀虫多肽序列以及那些多肽的抗体。核酸序列可用于DNA构建体或表达盒中,该DNA构建体或表达盒用于在生物体(包括微生物和植物)中转化和表达。核苷酸或氨基酸序列可以为设计用于在生物体(包括但不限于微生物或植物)中表达的合成序列。组合物还包含转化的细菌、植物、植物细胞、组织和种子。

[0010] 具体地讲,提供了分离的或重组的核酸分子,所述核酸分子编码蕨类植物门(Pteridophyta)和石松门(Lycopodiophyta)杀昆虫蛋白-96(PtIP-96)多肽,所述多肽包含氨基酸置换、缺失、插入、其片段。此外,涵盖与PtIP-96多肽对应的氨基酸序列。提供了分离的或重组的核酸分子,所述核酸分子能够编码SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:26;SEQ ID NO:28;SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:42、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:50、SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:70、SEQ ID NO:72、SEQ ID NO:74、SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:78、SEQ ID NO:80、SEQ ID NO:82、SEQ ID NO:84、SEQ ID NO:86、SEQ ID NO:88、SEQ ID NO:90、SEQ ID NO:92、SEQ ID NO:94、SEQ ID NO:96、SEQ ID NO:98、SEQ ID NO:100、SEQ ID NO:102、SEQ ID NO:104、SEQ ID NO:106或SEQ ID NO:108的PtIP-96多肽、以及氨基酸置换、缺失、插入、其片段以及它们的组合。还涵盖了与上述实施方案的核酸序列互补或杂交至所述实施方案的序列的核酸序列。还提供了分离的或重组的SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:26;SEQ ID NO:28;SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:42、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:50、SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:70、SEQ ID NO:72、SEQ ID NO:74、SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:78、SEQ ID NO:80、SEQ ID NO:82、SEQ ID NO:84、SEQ ID NO:86、SEQ ID NO:88、SEQ ID NO:90、SEQ ID NO:92、SEQ ID NO:94、SEQ ID NO:96、SEQ ID NO:98、SEQ ID NO:100、SEQ ID NO:102、SEQ ID NO:104、SEQ ID NO:106或SEQ ID NO:108的PtIP-96多肽以及氨基酸置换、缺失、插入、其片段以及它们的组合。

[0011] 提供了用于产生多肽以及使用那些多肽防治或杀灭鳞翅目、鞘翅目、线虫、真菌和/或双翅目害虫的方法。所述实施方案的转基因植物表达本文所公开的杀虫序列中的一者或多者。在各种实施方案中,所述转基因植物还包含具有昆虫抗性的一个或多个另外的基因,例如,用于防治鞘翅目、鳞翅目、半翅目或线虫害虫的一个或多个另外的基因。本领域技术人员应当理解,所述转基因植物可包含赋予所关注的农学性状的任何基因。

[0012] 还包括用于检测样品中的所述实施方案的核酸和多肽的方法。提供了用于在样

品中检测PtIP-96多肽的存在或检测编码PtIP-96多肽的多核苷酸 的存在的试剂盒。所述试剂盒可连同执行检测预期因子的方法所需的所有 试剂和对照样品以及使用说明一起提供。

[0013] 所述实施方案的组合物和方法可用于产生具有增强的害虫抗性或耐受 性的生物体。这些生物体和包含所述生物体的组合物是农业用途所需的。实施方案的组合物也可用于产生具有杀虫活性的改变或改善的蛋白质,或 可用于检测PtIP-96多肽的存在。

附图说明

[0014] 图1A-1K示出利用Vector NTI[®]程序组的ALIGNX[®]模块进行的如下 PtIP-96多肽的氨基酸序列比对:PtIP-96Aa (SEQ ID NO:9);PtIP-96Ab (SEQ ID NO:12);PtIP-96Ac (SEQ ID NO:14);PtIP-96Ad (SEQ ID NO:16);PtIP-96Ae (SEQ ID NO:18);PtIP-96Af (SEQ ID NO:20); PtIP-96Ag (SEQ ID NO:22);PtIP-96Ah (SEQ ID NO:24);PtIP-96Ca (SEQ ID NO:26);PtIP-96Ca (SEQ ID NO:28);PtIP-96Cc (SEQ ID NO:30);PtIP-96Cd (SEQ ID NO:32);PtIP-96Ce (SEQ ID NO:34); PtIP-96Cf (SEQ ID NO:36);PtIP-96Cg (SEQ ID NO:38); PtIP-96Ch (SEQ ID NO:40);PtIP-96Da (SEQ ID NO:42);PtIP-96Db (SEQ ID NO:44); PtIP-96Dc (SEQ ID NO:46);PtIP-96Dd (SEQ ID NO:52); PtIP-96De (SEQ ID NO:48); PtIP-96Df (SEQ ID NO:50);PtIP-96Ea (SEQ ID NO:7);PtIP-96Eb (SEQ ID NO:8);PtIP-96Ec (SEQ ID NO: 6);PtIP-96Ed (SEQ ID NO:54);PtIP-96Ee (SEQ ID NO:56);PtIP- 96Ef (SEQ ID NO:58);PtIP-96Eg (SEQ ID NO:60);PtIP-96Eh (SEQ ID NO:62);PtIP-96Ei (SEQ ID NO:64);PtIP-96Ej (SEQ ID NO: 66);PtIP-96Ek (SEQ ID NO:68);PtIP-96El (SEQ ID NO:70);PtIP- 96Em (SEQ ID NO:72);PtIP-96En (SEQ ID NO:74);PtIP-96Eo (SEQ ID NO:76);PtIP-96Ep (SEQ ID NO:78);PtIP-96Eq (SEQ ID NO:80);PtIP-96Er (SEQ ID NO:82); PtIP-96Es (SEQ ID NO:84);PtIP- 96Et (SEQ ID NO:86);PtIP-96Eu (SEQ ID NO:88); PtIP-96Ev (SEQ ID NO:90);PtIP-96Ha (SEQ ID NO:10);PtIP-96Hd (SEQ ID NO: 96); PtIP-96He (SEQ ID NO:98);PtIP-96Hf (SEQ ID NO:100);PtIP- 96Hg (SEQ ID NO:102); PtIP-96Hh (SEQ ID NO:104);PtIP-96Hi (SEQ ID NO:106);PtIP-96Hj (SEQ ID NO:108)。PtIP-96多肽同源物 之间的保守氨基酸位置被突出显示(A)。PtIP-96多肽同源物之间的非保守氨基酸差异被突出显示(A)。

[0015] 图2A-2B示出利用Vector NTI[®]程序组的ALIGNX[®]模块进行的如下 PtIP-96多肽的氨基酸序列比对:PtIP-96Aa (SEQ ID NO:9);PtIP-96Ab (SEQ ID NO:12);PtIP-96Ac (SEQ ID NO:14);PtIP-96Ad (SEQ ID NO:16);PtIP-96Ae (SEQ ID NO:18);PtIP-96Af (SEQ ID NO:20); PtIP-96Ag (SEQ ID NO:22);和PtIP-96Ah (SEQ ID NO:24)。PtIP-96 多肽同源物之间的氨基酸序列多样性被突出显示。

[0016] 图3A-3B示出利用Vector NTI[®]程序组的ALIGNX[®]模块进行的如下 PtIP-96多肽的氨基酸序列比对:PtIP-96Ca (SEQ ID NO:26);PtIP-96Ca (SEQ ID NO:28);PtIP-96Cc (SEQ ID NO:30);PtIP-96Cd (SEQ ID NO:32);PtIP-96Ce (SEQ ID NO:34);PtIP-96Cf (SEQ ID NO:36); PtIP-96Cg (SEQ ID NO:38);和PtIP-96Ch (SEQ ID NO:40)。PtIP-96多 肽同源

物之间的氨基酸序列多样性被突出显示。

[0017] 图4A-4D示出利用Vector NTI[®]程序组的ALIGNX[®]模块进行的如下 PtIP-96多肽的氨基酸序列比对:PtIP-96Ea (SEQ ID NO:7);PtIP-96Eb (SEQ ID NO:8);PtIP-96Ec (SEQ ID NO:6);PtIP-96Ed (SEQ ID NO: 54);PtIP-96Ee (SEQ ID NO:56);PtIP-96Ef (SEQ ID NO:58);PtIP- 96Eg (SEQ ID NO:60);PtIP-96Eh (SEQ ID NO:62);PtIP-96Ei (SEQ ID NO:64);PtIP-96Ej (SEQ ID NO:66);PtIP-96Ek (SEQ ID NO: 68);PtIP-96El (SEQ ID NO: 70);PtIP-96Em (SEQ ID NO:72);PtIP- 96En (SEQ ID NO:74);PtIP-96Er (SEQ ID NO:82);PtIP-96Es (SEQ ID NO:84);PtIP-96Et (SEQ ID NO:86);PtIP-96Eu (SEQ ID NO: 88);和PtIP-96Ev (SEQ ID NO:90)。PtIP-96多肽同源物之间的氨基酸 序列多样性被突出显示。

[0018] 图5示出利用Vector NTI[®]程序组的ALIGNX[®]模块进行的如下PtIP-96 多肽的氨基酸序列比对:PtIP-96Eo (SEQ ID NO:76);PtIP-96Ep (SEQ ID NO:78);和PtIP-96Eq (SEQ ID NO:80)。PtIP-96多肽同源物之间的 氨基酸序列多样性被突出显示。

[0019] 图6A-6B示出利用Vector NTI[®]程序组的ALIGNX[®]模块进行的如下 PtIP-96多肽的氨基酸序列比对:PtIP-96Ha (SEQ ID NO:10);PtIP-96Hb (SEQ ID NO:92);PtIP-96Hc (SEQ ID NO:94);PtIP-96Hd (SEQ ID NO:96);PtIP-96He (SEQ ID NO:98);PtIP-96Hf (SEQ ID NO:100); PtIP-96Hg (SEQ ID NO:102);PtIP-96Hh (SEQ ID NO:104);PtIP-96Hi (SEQ ID NO:106);和PtIP-96Hj (SEQ ID NO:108)。PtIP-96多肽同源 物之间的氨基酸序列多样性被突出显示。

[0020] 图7A-7B示出利用Vector NTI[®]程序组的ALIGNX[®]模块进行的如下 PtIP-96多肽的氨基酸序列比对:PtIP-96Da (SEQ ID NO:42);PtIP-96Db (SEQ ID NO:44);PtIP-96Dc (SEQ ID NO:46);PtIP-96Dd (SEQ ID NO:52);PtIP-96De (SEQ ID NO:48);和PtIP-96Df (SEQ ID NO: 50)。PtIP-96多肽同源物之间的氨基酸序列多样性被突出显示。

具体实施方式

[0021] 应当理解,本发明不限于所述的特定方法、方案、细胞系、属和试剂,因为这些可有所变化。还应当理解,本文所用的术语是仅出于描述特 定实施方案的目的,并非旨在限制本发明的范围。

[0022] 除非上下文另外明确规定,如本文所用的单数形式“一个”、“一 种”和“该”包括多个指代物。因此,例如,提及“一个细胞”包括多个 此类细胞,并且提及“该蛋白”包括提及一种或多种蛋白以及本领域技术 人员已知的其等同物,等等。除非另外明确指明,本文所用的所有技术和 科学术语均具有本发明所属领域的普通技术人员通常所理解的不同含义。

[0023] 本发明涉及用于防治害虫的组合物和方法。该方法涉及用编码PtIP-96 多肽的核酸序列转化生物体。具体地讲,所述实施方案的核酸序列可用于 制备具有杀虫活性的植物和微生物。因此,本发明提供了转化的细菌、植 物、植物细胞、植物组织和种子。所述组合物是细菌物种的杀虫核酸和蛋 白。核酸序列可用于构建表达载体以供后续转化进所关注的生物体中,用 作分离其它同源(或部分同源)基因的探针,以及用于通过本领域已知的方法诸如定点诱变、结构域交换或DNA改组产生改变的PtIP-96多肽。PtIP-96可用于防治或 杀灭鳞翅目、鞘翅目、双翅目、真菌、半翅目和线虫 害虫种群,以及用于产生具有杀虫活性

的组合物。所关注的昆虫害虫包括 但不限于鳞翅目物种,其包括但不限于:玉米穗虫(CEW)(谷实夜蛾 (*Helicoverpa zea*))、欧洲玉米螟(ECB)(玉米螟(*Ostrinia nubilalis*))、小菜蛾,例如美洲棉铃虫(*Helicoverpa zea* Boddie);大豆夜蛾,例如大豆尺夜蛾(*Pseudoplusia includens* Walker);以及黎豆毛虫,例如黎豆夜蛾(*Anticarsia gemmatalis* Hübner),以及鞘翅目物种,其包括但不限于西方玉米根虫(*Diabrotica virgifera*)-WCRW、南方玉米根虫(*Diabrotica undecimpunctata howardi*)-SCRW和北方玉米根虫(*Diabrotica barberi*)-NCRW。

[0024] 本文中所谓的所谓“杀虫毒素”或“杀虫蛋白”指对于一种或多种害虫(包括但不限于鳞翅目、双翅目、半翅目和鞘翅目或线虫门的成员)具有毒杀活性的毒素,或与此类蛋白同源的蛋白。杀虫蛋白已从生物体分离,所述生物体包括例如芽孢杆菌属物种、假单胞菌属物种、发光杆菌属物种(*Photobacterium* sp.)、致病杆菌属物种(*Xenorhabdus* sp.)、双酶梭菌(*Clostridium bifementans*)以及日本甲虫类芽孢杆菌(*Paenibacillus popilliae*)。杀虫蛋白包括但不限于:来自假单胞菌属物种的杀昆虫蛋白,例如PSEEN3174(Monalyisin; (2011) PLoS Pathogens 7:1-13);来自生防假单胞菌(*Pseudomonas protegens*)菌株CHA0和Pf-5(之前的荧光假单胞菌)的杀昆虫蛋白(Pechy-Tarr, (2008) Environmental Microbiology 10:2368-2386 (Pechy-Tarr, 2008年,《环境微生物学》,第10卷,第2368-2386页); GenBank登录号EU400157);来自台湾假单胞菌的杀昆虫蛋白(Liu等人, (2010) J. Agric. Food Chem., 58:12343-12349)以及来自类产碱假单胞菌(*Pseudomonas pseudoalcaligenes*)的杀昆虫蛋白(Zhang等人, (2009) Annals of Microbiology 59:45-50和Li等人, (2007) Plant Cell Tiss. Organ Cult. 89:159-168);来自发光杆菌属物种(*Photobacterium* sp.)和致病杆菌属物种(*Xenorhabdus* sp.)的杀昆虫蛋白(Hinchliffe等人, (2010) The Open Toxicology Journal, 3:101-118和Morgan等人, (2001) Applied and Envir. Micro. 67:2062-2069);美国专利No. 6,048,838和美国专利No. 6,379,946;美国专利公布US20140007292的PIP-1多肽;美国专利公布 US20140033361的AfIP-1A和/或AfIP-1B多肽;美国专利序列号13/839702的PHI-4多肽;PCT序列号PCT/US14/51063的PIP-47多肽、PCT序列号 PCT/US14/55128的PIP-72多肽、以及 δ -内毒素,包括但不限于 δ -内毒素基因中的Cry1、Cry2、Cry3、Cry4、Cry5、Cry6、Cry7、Cry8、Cry9、Cry10、Cry11、Cry12、Cry13、Cry14、Cry15、Cry16、Cry17、Cry18、Cry19、Cry20、Cry21、Cry22、Cry23、Cry24、Cry25、Cry26、Cry27、Cry 28、Cry 29、Cry 30、Cry31、Cry32、Cry33、Cry34、Cry35、Cry36、Cry37、Cry38、Cry39、Cry40、Cry41、Cry42、Cry43、Cry44、Cry45、Cry46、Cry47、Cry49、Cry50、Cry51、Cry52、Cry53、Cry 54、Cry55、Cry56、Cry57、Cry58、Cry59、Cry60、Cry61、Cry62、Cry63、Cry64、Cry65、Cry66、Cry67、Cry68、Cry69、Cry70、Cry71、和Cry 72类型以及苏云金芽孢杆菌溶细胞cyt1和cyt2基因。苏云金芽孢杆菌杀昆虫蛋白的这些类型的成员是本领域技术人员熟知的(参见, lifesci.sussex.ac.uk/home/Neil_Crickmore/Bt/(可使用“www”前缀在万维网上访问)的Crickmore等人,“*Bacillus thuringiensis* toxin nomenclature”(2011))。

[0025] δ -内毒素的示例还包括但不限于美国专利No. 5,880,275和7,858,849的Cry1A蛋白;美国专利No. 8,304,604、8.304,605和8,476,226的DIG-3或DIG-11毒素(cry蛋白诸如Cry1A、Cry3A的 α -螺旋1和/或 α -螺旋2变体的N末端缺失);美国专利申请序列号10/525,

318的Cry1B;美国专利No. 6,033,874的Cry1C;美国专利No.5,188,960和6,218,188的Cry1F;美国专利No.7,070,982、6,962,705和6,713,063的Cry1A/F嵌合体);Cry2蛋白,诸如美国专利No.7,064,249的Cry2Ab蛋白);Cry3A蛋白,包括但不限于通过融合至少两种不同Cry蛋白的可变区和保守区块的独特组合而形成的经工程改造的杂合杀昆虫蛋白(eHIP)(美国专利申请公布No. 2010/0017914);Cry4蛋白;Cry5蛋白;Cry6蛋白;美国专利No.7,329,736,7,449,552,7,803,943,7,476,781,7,105,332,7,378,499和7,462,760的Cry8蛋白;Cry9蛋白,诸如Cry9A、Cry9B、Cry9C、Cry9D、Cry9E和Cry9F家族的成员;Naimov等人,(2008)Applied and Environmental Microbiology74:7145-7151的Cry15蛋白;美国专利No.6,127,180,6,624,145和6,340,593的Cry22、Cry34Ab1蛋白;美国专利No.6,248,535,6,326,351,6,399,330,6,949,626,7,385,107和7,504,229的CryET33和cryET34蛋白;美国专利公布No.2006/0191034、2012/0278954和PCT公布No.WO 2012/139004的CryET33和CryET34同源物;美国专利No.6,083,499,6,548,291和6,340,593的Cry35Ab1蛋白;Cry46蛋白、Cry 51蛋白、Cry二元毒素;TIC901或相关毒素;美国专利申请公布No.2008/0295207的TIC807;PCT US 2006/033867的ET29、ET37、TIC809、TIC810、TIC812、TIC127、TIC128;美国专利No.8,236,757的AXMI-027、AXMI-036和AXMI-038;美国专利No.7,923,602的AXMI-031、AXMI-039、AXMI-040、AXMI-049;WO 2006/083891的AXMI-018、AXMI-020和AXMI-021;WO 2005/038032的AXMI-010;WO 2005/021585的AXMI-003;美国专利申请公布No.2004/0250311的AXMI-008;美国专利申请公布No.2004/0216186的AXMI-006;美国专利申请公布No.2004/0210965的AXMI-007;美国专利申请No.2004/0210964的AXMI-009;美国专利申请公布No.2004/0197917的AXMI-014;美国专利申请公布No.2004/0197916的AXMI-004;WO 2006/119457的AXMI-028和AXMI-029;WO 2004/074462的AXMI-007、AXMI-008、AXMI-008rf2、AXMI-009、AXMI-014和AXMI-004;美国专利No.8,084,416的AXMI-150;美国专利申请公布No.2011/0023184的AXMI-205;美国专利申请公布No.2011/0263488的AXMI-011、AXMI-012、AXMI-013、AXMI-015、AXMI-019、AXMI-044、AXMI-037、AXMI-043、AXMI-033、AXMI-034、AXMI-022、AXMI-023、AXMI-041、AXMI-063和AXMI-064;美国专利申请公布No.2010/0197592的AXMI-R1和相关蛋白;WO 2011/103248的AXMI221z、AXMI222z、AXMI223z、AXMI224z和AXMI225z;WO 2011/103247的AXMI218、AXMI219、AXMI220、AXMI226、AXMI227、AXMI228、AXMI229、AXMI230和AXMI231;美国专利No.8,334,431的AXMI-115、AXMI-113、AXMI-005、AXMI-163和AXMI-184;美国专利申请公布No.2010/0298211的AXMI-001、AXMI-002、AXMI-030、AXMI-035和AXMI-045;美国专利申请公布No.2009/0144852的AXMI-066和AXMI-076;美国专利No.8,318,900的AXMI128,AXMI130,AXMI131,AXMI133,AXMI140,AXMI141,AXMI142,AXMI143,AXMI144,AXMI146,AXMI148,AXMI149,AXMI152,AXMI153,AXMI154,AXMI155,AXMI156,AXMI157,AXMI158,AXMI162,AXMI165,AXMI166,AXMI167,AXMI168,AXMI169,AXMI170,AXMI171,AXMI172,AXMI173,AXMI174,AXMI175,AXMI176,AXMI177,AXMI178,AXMI179,AXMI180,AXMI181,AXMI182,AXMI185,AXMI186,AXMI187,AXMI188,AXMI189;和美国专利公布No.2010/0005543的AXMI079,AXMI080,AXMI081,AXMI082,AXMI091,AXMI092,AXMI096,AXMI097,AXMI098,AXMI099,AXMI100,AXMI101,AXMI102,AXMI103,AXMI104,AXMI107,AXMI108,AXMI109,AXMI110,AXMI111,AXMI112,AXMI114,AXMI116,AXMI117,AXMI118,AXMI119,AXMI120,

AXMI121, AXMI122, AXMI123, AXMI124, AXMI1257, AXMI1268, AXMI127, AXMI129, AXMI164, AXMI151, AXMI161, AXMI183, AXMI132, AXMI138, AXMI137, 美国专利No. 8, 319, 019的cry蛋白诸如具有经修饰的蛋白水解位点的Cry1A和Cry3A; 美国专利申请公布No. 2011/0064710的来自苏云金芽孢杆菌菌株VBTS 2528的Cry1Ac、Cry2Aa 和Cry1Ca毒素蛋白。Cry蛋白的杀昆虫活性是本领域技术人员熟知的(有关综述, 参见van Frankenhuyzen, (2009) J. Invert. Path. 101:1-16)。Cry蛋白作为转基因植物性状的用途是本领域技术人员熟知的, 并且Cry转基因植物(包括但不限于表达Cry1Ac、Cry1Ac+Cry2Ab、Cry1Ab、Cry1A.105、Cry1F、Cry1Fa2、Cry1F+Cry1Ac、Cry2Ab、Cry3A、mCry3A、Cry3Bb1、Cry34Ab1、Cry35Ab1、Vip3A、mCry3A、Cry9c和CBI-Bt的植物)已取得监管批准(参见, Sanahuja, (2011) Plant Biotech Journal 9:283-300 (Sanahuja, 2011年,《植物生物技术杂志》, 第9卷, 第283-300页)和cera-gmc.org/index.php?action=gm_crop_database(可使用“www”前缀在万维网上访问)的CERA. (2010) GM Crop Database Center for Environmental Risk Assessment (CERA), ILSI Research Foundation, Washington D.C. (CERA. (2010) 转基因作物数据库, 环境风险评估中心 (CERA), 国际生命科学学院研究基金, 华盛顿))。本领域技术人员熟知的不止一种杀虫蛋白也可在植物中表达, 比如Vip3Ab&Cry1Fa (US2012/0317682); Cry1BE&Cry1F (US2012/0311746); Cry1CA& Cry1AB (US2012/0311745); Cry1F&CryCa (US2012/0317681); Cry1DA&Cry1BE (US2012/0331590); Cry1DA&Cry1Fa (US2012/0331589); Cry1AB&Cry1BE (US2012/0324606); Cry1Fa& Cry2Aa和Cry1I&Cry1E (US2012/0324605); Cry34Ab/35Ab和Cry6Aa (US20130167269); Cry34Ab/VCry35Ab&Cry3Aa (US20130167268); 以及Cry3A和Cry1Ab或Vip3Aa (US20130116170)。杀虫蛋白还包括杀昆虫脂肪酶, 其包括美国专利No. 7, 491, 869的脂酰基水解酶和比如来自链霉菌属(*Streptomyces*)的胆固醇氧化酶(Purcell等人, (1993) Biochem Biophys Res Commun 15:1406-1413)。杀虫蛋白还包括美国专利No. 5, 877, 012, 6, 107, 279 6, 137, 033, 7, 244, 820, 7, 615, 686和8, 237, 020的VIP(植物性杀昆虫蛋白)毒素等等。其它VIP蛋白是本领域技术人员熟知的(参见, lifesci.sussex.ac.uk/home/Neil_Crickmore/Bt/vip.html(可使用“www”前缀在万维网上访问))。杀虫蛋白还包括毒素复合物(TC)蛋白, 可得自诸如致病杆菌属、发光杆菌属和类芽孢杆菌属(*Paenibacillus*)的生物体(参见, 美国专利No. 7, 491, 698和8, 084, 418)。一些TC蛋白具有“独立”杀昆虫活性, 而其它TC蛋白增强由相同给定生物体产生的独立毒素的活性。“独立”TC蛋白(来自例如发光杆菌属、致病杆菌属或类芽孢杆菌属)的毒性可通过源自不同属的来源生物体的一种或多种TC蛋白“增效剂”来增强。有三种主要类型的TC蛋白。如本文所提及的, A类蛋白(“蛋白A”)是独立毒素。B类蛋白(“蛋白B”)和C类蛋白(“蛋白C”)增强A类蛋白的毒性。A类蛋白的示例是TcbA、TcdA、XptA1和XptA2。B类蛋白的示例是TcaC、TcdB、XptB1Xb和XptC1Wi。C类蛋白的示例是TccC、XptC1Xb和XptB1Wi。杀虫蛋白还包括蜘蛛、蛇和蝎毒蛋白。蜘蛛毒肽的示例包括但不限于lycotoxin-1肽及其突变体(美国专利No. 8, 334, 366)。

[0026] 在一些方面, PtIP-96多肽包含从本文所公开的全长核酸序列推断出的氨基酸序列以及因使用替代的下游起始位点或因产生具有杀昆虫活性的较短蛋白的加工而短于全长序列的氨基酸序列。加工可在蛋白被表达的生物体中进行或在蛋白摄食后在害虫体内进行。

[0027] 因此,本文提供了赋予杀虫活性的新型的分离的或重组的核酸序列。还提供了PtIP-96多肽的氨基酸序列。由这些PtIP-96多肽基因翻译所得的蛋白允许细胞防治或杀灭对其摄食的害虫。

[0028] 核酸分子及其变体和片段

[0029] 一个方面涉及包含编码PtIP-96多肽或其生物活性部分的核酸序列的分离的或重组的核酸分子,以及足以用作鉴定编码具有序列同源性区域的蛋白的核酸分子的杂交探针的核酸分子。如本文所用,术语“核酸分子”是指DNA分子(例如,重组DNA、cDNA、基因组DNA、质体DNA、线粒体DNA)和RNA分子(例如,mRNA)以及使用核苷酸类似物产生的DNA或RNA的类似物。核酸分子可以是单链的或双链的,但优选的是双链DNA。

[0030] “分离的”核酸分子(或DNA)在本文用来指不再处于其天然环境中,例如处于体外的核酸序列(或DNA)。“重组的”核酸分子(或DNA)在本文用来指处于重组细菌或植物宿主细胞中的核酸序列(或DNA)。在一些实施方案中,“分离的”或“重组的”核酸不含在该核酸的来源生物体的基因组DNA中天然位于该核酸旁的序列(即位于该核酸的5'和3'端的序列)(优选蛋白质编码序列)。出于本发明的目的,“分离的”或“重组的”在用来指核酸分子时排除分离的染色体。例如,在各种实施方案中,编码PtIP-96多肽的重组核酸分子可含有少于约5kb、4kb、3kb、2kb、1kb、0.5kb或0.1kb的在该核酸的来源细胞的基因组DNA中天然位于该核酸分子的旁的核酸序列。

[0031] 可以设想编码PtIP-96多肽的分离的核酸分子与天然或基因组核酸序列相比在核酸序列中具有一个或多个改变。天然或基因组核酸序列的改变包括但不限于:因遗传密码的简并性而导致的核酸序列的改变;与天然或基因组序列相比,因氨基酸置换、插入、缺失和/或添加而导致的核酸序列中的改变;一个或多个内含子的移除;一个或多个上游或下游调控区的缺失;以及与基因组核酸序列相关联的5'和/或3'非翻译区的缺失。在一些实施方案中,编码PtIP-96多肽的核酸分子是非基因组序列。

[0032] 设想了编码PtIP-96多肽或相关蛋白的多种多核苷酸。此类多核苷酸在可操作地连接至合适的启动子、转录终止和/或多聚腺苷酸化序列时可用于在宿主细胞中产生PtIP-96多肽。此类多核苷酸也可用作分离编码PtIP-96多肽或相关蛋白的同源或基本上同源的多核苷酸的探针。

[0033] 编码PtIP-96多肽的多核苷酸

[0034] 编码PtIP-96多肽或相关蛋白的一种多核苷酸来源是蕨类或其它原生植物物种,该蕨类或其它原生植物物种包含SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:25;SEQ ID NO:27;SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:37、SEQ ID NO:39、SEQ ID NO:41、SEQ ID NO:43、SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47、SEQ ID NO:49、SEQ ID NO:51、SEQ ID NO:53、SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:57、SEQ ID NO:59、SEQ ID NO:61、SEQ ID NO:63、SEQ ID NO:65、SEQ ID NO:67、SEQ ID NO:69、SEQ ID NO:71、SEQ ID NO:73、SEQ ID NO:75、SEQ ID NO:77、SEQ ID NO:79、SEQ ID NO:81、SEQ ID NO:83、SEQ ID NO:85、SEQ ID NO:87、SEQ ID NO:89、SEQ ID NO:91、SEQ ID NO:93、SEQ ID NO:95、SEQ ID NO:97、SEQ ID NO:99、SEQ ID NO:101、SEQ ID NO:103、SEQ ID NO:105、SEQ ID NO:107 或SEQ ID NO:109的PtIP-96

多核苷酸,其编码SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:26;SEQ ID NO:28;SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:42、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:50、SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:70、SEQ ID NO:72、SEQ ID NO:74、SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:78、SEQ ID NO:80、SEQ ID NO:82、SEQ ID NO:84、SEQ ID NO:86、SEQ ID NO:88、SEQ ID NO:90、SEQ ID NO:92、SEQ ID NO:94、SEQ ID NO:96、SEQ ID NO:98、SEQ ID NO:100、SEQ ID NO:102、SEQ ID NO:104、SEQ ID NO:106或SEQ ID NO:108的PtIP-96多肽。SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:25;SEQ ID NO:27;SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:37、SEQ ID NO:39、SEQ ID NO:41、SEQ ID NO:43、SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47、SEQ ID NO:49、SEQ ID NO:51、SEQ ID NO:53、SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:57、SEQ ID NO:59、SEQ ID NO:61、SEQ ID NO:63、SEQ ID NO:65、SEQ ID NO:67、SEQ ID NO:69、SEQ ID NO:71、SEQ ID NO:73、SEQ ID NO:75、SEQ ID NO:77、SEQ ID NO:79、SEQ ID NO:81、SEQ ID NO:83、SEQ ID NO:85、SEQ ID NO:87、SEQ ID NO:89、SEQ ID NO:91、SEQ ID NO:93、SEQ ID NO:95、SEQ ID NO:97、SEQ ID NO:99、SEQ ID NO:101、SEQ ID NO:103、SEQ ID NO:105、SEQ ID NO:107或SEQ ID NO:109的多核苷酸可用来在包括但不限于如下的细菌宿主中表达PtIP-96多肽:农杆菌属、芽孢杆菌属、埃希氏菌属(*Escherichia*)、沙门氏菌属(*Salmonella*)、假单胞菌属和根瘤菌属细菌宿主细胞。多核苷酸也可用作分离编码PtIP-96多肽或相关蛋白的同源或基本上同源的多核苷酸的探针。此类探针可用来鉴定源于蕨类植物门(Pteridophyta)和石松门(Lycopodiophyta)物种的同源或基本上同源的多核苷酸。

[0035] 编码PtIP-96多肽的多核苷酸也可根据PtIP-96多肽序列从头合成。可通过使用遗传密码从PtIP-96多肽序列推断出多核苷酸基因的序列。计算机程序比如“BackTranslate”(GCGTM软件包,加利福尼亚州圣地亚哥的阿赛乐德公司(Accelrys, Inc.San Diego,Calif.))可用来将肽序列转换为编码该肽的相应核苷酸序列。可用来获得相应核苷酸编码序列的PtIP-96多肽序列的示例包括但不限于SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:26;SEQ ID NO:28;SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:42、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:50、SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:70、SEQ ID NO:72、SEQ ID NO:74、SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:78、SEQ ID NO:80、SEQ ID NO:82、SEQ ID NO:84、SEQ ID NO:86、SEQ ID NO:88、SEQ ID NO:90、SEQ ID NO:92、SEQ ID NO:94、SEQ ID NO:96、SEQ ID NO:98、SEQ ID NO:100、SEQ ID NO:102、SEQ ID NO:104、SEQ ID NO:106或SEQ ID NO:108的PtIP-96多肽。此外,本公开的合成PtIP-96多核苷酸序列可被设计成使得它们将

在植物中表达。美国专利No.5,500,365描述了用于合成植物基因以改善由该合成基因编码的蛋白的表达水平的方法。该方法涉及对外源转基因的结构基因序列进行修饰,使其被植物更有效地转录、加工、翻译和表达。在植物中充分表达的基因的特征包括消除可引起基因转录物的编码区中非期望的内含子剪接或多聚腺苷酸化的序列,同时基本上保留杀虫蛋白的毒性部分的氨基酸序列。用于获得单子叶植物中转基因的增强表达的类似方法在美国专利No.5,689,052中有所公开。

[0036] 编码PtIP-96多肽的核酸分子可为具有以SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:25;SEQ ID NO:27;SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:37、SEQ ID NO:39、SEQ ID NO:41、SEQ ID NO:43、SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47、SEQ ID NO:49、SEQ ID NO:51、SEQ ID NO:53、SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:57、SEQ ID NO:59、SEQ ID NO:61、SEQ ID NO:63、SEQ ID NO:65、SEQ ID NO:67、SEQ ID NO:69、SEQ ID NO:71、SEQ ID NO:73、SEQ ID NO:75、SEQ ID NO:77、SEQ ID NO:79、SEQ ID NO:81、SEQ ID NO:83、SEQ ID NO:85、SEQ ID NO:87、SEQ ID NO:89、SEQ ID NO:91、SEQ ID NO:93、SEQ ID NO:95、SEQ ID NO:97、SEQ ID NO:99、SEQ ID NO:101、SEQ ID NO:103、SEQ ID NO:105、SEQ ID NO:107 或 SEQ ID NO:109示出的序列的多核苷酸以及其变体、片段和互补序列。“互补序列”在本文中用来指与给定的核酸序列充分地互补使得其可杂交至该给定的核酸序列从而形成稳定双链体的核酸序列。“多核苷酸序列变体”在本文中用来指除了遗传密码简并之外编码相同多肽的核酸序列。

[0037] 编码PtIP-96多肽的核酸分子可为非基因组核酸序列。如本文所用,“非基因组核酸序列”或“非基因组核酸分子”或“非基因组多核苷酸”是指与天然或基因组核酸序列相比在核酸序列中具有一个或多个改变的核酸分子。在一些实施方案中,天然或基因组核酸分子的改变包括但不限于:因遗传密码的简并性而导致的核酸序列的改变;为在植物中表达而对核酸序列进行的密码子优化;与天然或基因组序列相比,为了引入至少一个氨基酸置换、插入、缺失和/或添加而发生的核酸序列中的改变;一个或多个与基因组核酸序列相关联的内含子的移除;一个或多个异源内含子的插入;一个或多个与基因组核酸序列相关联的上游或下游调控区的缺失;一个或多个异源上游或下游调控区的插入;与基因组核酸序列相关联的5'和/或3'非翻译区的缺失;异源5'和/或3'非翻译区的插入;以及多聚腺苷酸化位点的修饰。在一些实施方案中,所述非基因组核酸分子是cDNA。在一些实施方案中,所述非基因组核酸分子是合成核酸序列。

[0038] 在一些实施方案中,编码PtIP-96多肽的核酸分子是与如下核酸序列具有至少50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的非基因组核苷酸序列:SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:25;SEQ ID NO:27;SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:37、SEQ ID

NO:39、SEQ ID NO:41、SEQ ID NO: 43、SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47、SEQ ID NO:49、SEQ ID NO:51、SEQ ID NO:53、SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:57、SEQ ID NO:59、SEQ ID NO:61、SEQ ID NO:63、SEQ ID NO:65、SEQ ID NO:67、SEQ ID NO: 69、SEQ ID NO:71、SEQ ID NO: 73、SEQ ID NO:75、SEQ ID NO:77、SEQ ID NO:79、SEQ ID NO:81、SEQ ID NO:83、SEQ ID NO:85、SEQ ID NO:87、SEQ ID NO:89、SEQ ID NO:91、SEQ ID NO:93、SEQ ID NO: 95、SEQ ID NO:97、SEQ ID NO:99、SEQ ID NO:101、SEQ ID NO:103、SEQ ID NO:105、SEQ ID NO: 107或SEQ ID NO:109,其中PtIP-96多肽具有杀昆虫活性。

[0039] 在一些实施方案中,核酸分子编码这样的PtIP-96多肽,该PtIP-96多肽包含SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO: 26;SEQ ID NO:28;SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:42、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:50、SEQ ID NO: 52、SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:70、SEQ ID NO: 72、SEQ ID NO:74、SEQ ID NO:76、SEQ ID NO: 78、SEQ ID NO:80、SEQ ID NO:82、SEQ ID NO:84、SEQ ID NO:86、SEQ ID NO:88、SEQ ID NO:90、SEQ ID NO:92、SEQ ID NO:94、SEQ ID NO:96、SEQ ID NO:98、SEQ ID NO:100、SEQ ID NO:102、SEQ ID NO:104、SEQ ID NO:106或SEQ ID NO:108的氨基酸序列,其与SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:26;SEQ ID NO: 28;SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:42、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:50、SEQ ID NO:52、SEQ ID NO: 54、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:70、SEQ ID NO:72、SEQ ID NO:74、SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:78、SEQ ID NO: 80、SEQ ID NO:82、SEQ ID NO:84、SEQ ID NO:86、SEQ ID NO:88、SEQ ID NO:90、SEQ ID NO:92、SEQ ID NO:94、SEQ ID NO:96、SEQ ID NO:98、SEQ ID NO:100、SEQ ID NO:102、SEQ ID NO:104、SEQ ID NO:106或SEQ ID NO:108的相应位置处的天然氨基酸相比具有1,2,3,4,5, 6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,18,19,20,21,22,23,24, 25,26,27,28, 29,30,31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41,42,43,44,45,46,47,48,49, 50, 51,52,53,54,55,56,57,58,59,60,61,62,63,64,65,66,67,68,69,70个或更多个氨基酸置换。

[0040] 在一些实施方案中,编码PtIP-96多肽的核酸分子来源于蕨类植物门(Division Pteridophyta)的蕨类物种或石松植物门(Division Lycopodiophyta)的其它原生植物。如本文所用的蕨类的系统发育基于A.R.Smith等人, TAXON,55:705-731(2006)对现存蕨类的分类。基于A.R.Smith分类的共有系统发育示于图1。现存蕨类的其它系统发育分类为本领域技术人员所知。关于蕨类的系统发育的额外信息可见于mobot.org/MOBOT/research/APweb/ (其可使用前缀“www”访问)和基于三种质体基因的Schuettpelz E.和 Pryer K.M., TAXON 56:1037-1050(2007)。另外的蕨类及其它原生植物物种可见于homepages.caverock.net.nz/~bj/fern/list.htm(其可使用前缀“www”访问)。

[0041] 在一些实施方案中,编码PtIP-96多肽的核酸分子来源于松叶蕨纲 (Class Psilotopsida)的蕨类物种。在一些实施方案中,编码PtIP-96多肽的核酸分子来源于松叶蕨纲的松叶蕨目 (Order Psilotales)的蕨类物种。在一些实施方案中,编码PtIP-96多肽的核酸分子来源于松叶蕨纲的瓶尔小草目 (Order Ophioglossales)的蕨类物种。在一些实施方案中,编码PtIP-96多肽的核酸分子来源于松叶蕨纲的瓶尔小草目的松叶蕨科 (Family Psilotaceae)的蕨类物种。在一些实施方案中,编码PtIP-96多肽的核酸分子来源于松叶蕨纲的瓶尔小草目的瓶尔小草科 (Family Ophioglossaceae)的蕨类物种。在一些实施方案中,编码PtIP-96多肽的核酸分子来源于瓶尔小草属 (*Ophioglossum* L.)、阴地蕨属 (*Botrychium*)、蕨萁属 (*Botrypus*)、七指蕨属 (*Helminthostachys*)、带状瓶尔小草属 (*Ophioderma*)、*Cheiroglossa*、阳地蕨属 (*Sceptridium*)或仙指蕨属 (*Mankyua*)的蕨类物种。在一些实施方案中,编码PtIP-96多肽的核酸分子来源于瓶尔小草属的蕨类物种,选自但不限于:*Ophioglossum californicum*、*Ophioglossum coriaceum*、*Ophioglossum costatum*、球茎瓶尔小草 (*Ophioglossum crotalophoroides*)、*Ophioglossum engelmannii*、*Ophioglossum falcatum*、*Ophioglossum gomezianum*、*Ophioglossum gramineum*、*Ophioglossum kawamurae*、矮瓶尔小草 (*Ophioglossum lusitanicum*)、*Ophioglossum namegatae*、小叶瓶尔小草 (*Ophioglossum nudicaule*)、掌叶瓶尔小草 (*Ophioglossum palmatum*)、*Ophioglossum parvum*、尖头瓶尔小草 (*Ophioglossum pedunculatum*)、*Ophioglossum pendulum*、钝头瓶尔小草 (*Ophioglossum petiolatum*)、*Ophioglossum pusillum*、心叶瓶尔小草 (*Ophioglossum reticulatum*)、*Ophioglossum richardsiae*、狭叶瓶尔小草 (*Ophioglossum thermale*)和一叶草 (*Ophioglossum vulgatum*)。

[0042] 在一些实施方案中,编码PtIP-96多肽的核酸分子来源于水龙骨科 (Order Polypodiales)的水龙骨科 (Family Polypodiaceae)的凤梨属 (*Campyloneurum*)、槲蕨属 (*Drynaria*)、瓦韦属 (*Lepisorus*)、*Microgramma* 属、星蕨属 (*Microsorium*)、*Neurodium*属、*Niphidium*属、*Pecluma* M.G.属、水龙骨科 (*Phlebodium*)、瘤蕨属 (*Phymatosorus*)、鹿角蕨属 (*Platyserium*)、*Pleopeltis*属、水龙骨科 (*Polypodium* L)或线蕨属 (*Colysis*)的蕨类物种。

[0043] 在一些实施方案中,编码PtIP-96多肽的核酸分子来源于线蕨属的蕨类物种,选自但不限于:*Colysis ampla*、掌叶线蕨 (*Colysis digitata*)、异叶线蕨 (*Colysis diversifolia*)、*Colysis elegans*、椭圆线蕨 (*Colysis elliptica*)、曲边线蕨 (*Colysis flexiloba*)、断线蕨 (*Colysis hemionitidea*)、胃叶线蕨 (*Colysis hemitoma*)、矩圆线蕨 (*Colysis henryi*)、*Colysis insignis*、矛叶线蕨 (*Colysis intermedia*)、绿叶线蕨 (*Colysis leveillei*)、长柄线蕨 (*Colysis longipes*)、长梗线蕨 (*Colysis pedunculata*)、滇线蕨 (*Colysis pentaphylla*)、宽羽线蕨 (*Colysis pothifolia*)、*Colysis pteropus*、新店线蕨 (*Colysis shintenensis*)、*Colysis simplicifrons*、三裂线蕨 (*Colysis traphylla*)、褐叶线蕨 (*Colysis wrightii*)和新店线蕨 (*Colysis × shintenensis*)。

[0044] 在一些实施方案中,编码PtIP-96多肽的核酸分子来源于水龙骨科目的凤尾蕨科 (Family Pteridaceae)的铁线蕨属 (Genus *Adiantaceae*)的蕨类物种,选自但不限于:

Adiantum aethiopicum、铁线蕨 (*Adiantum aleuticum*)、毛足铁线蕨 (*Adiantum bonatianum*)、*Adiantum cajennense*、团羽铁线蕨 (*Adiantum capillus-junonis*)、无悔铁线蕨 (*Adiantum capillus-veneris*)、鞭叶铁线蕨 (*Adiantum caudatum*)、北江铁线蕨 (*Adiantum chienii*)、*Adiantum chilense*、楔叶铁线蕨 (*Adiantum cuneatum*)、*Adiantum cunninghamii*、白背铁线蕨 (*Adiantum davidii*)、长尾铁线蕨 (*Adiantum diaphanum*)、月芽铁线蕨 (*Adiantum edentulum*)、普通铁线蕨 (*Adiantum edgeworthii*)、*Adiantum excisum*、冯氏铁线蕨 (*Adiantum fengianum*)、长盖铁线蕨 (*Adiantum fimbriatum*)、扇叶铁线蕨 (*Adiantum flabellulatum*)、深山铁线蕨 (*Adiantum formosanum*)、美丽铁线蕨 (*Adiantum formosum*)、铜骨铁线蕨 (*Adiantum fulvum*)、白垩铁线蕨 (*Adiantum gravesii*)、毛叶铁线蕨 (*Adiantum hispidulum*)、圆柄铁线蕨 (*Adiantum induratum*)、加州铁线蕨 (*Adiantum jordanii*)、仙霞铁线蕨 (*Adiantum juxtapositum*)、*Adiantum latifolium*、白垩铁线蕨 (*Adiantum leveillei*)、粤铁线蕨 (*Adiantum lianxianense*)、假鞭叶铁线蕨 (*Adiantum malesianum*)、小铁线蕨 (*Adiantum mariesii*)、单盖铁线蕨 (*Adiantum monochlamys*)、灰背铁线蕨 (*Adiantum myriosorum*)、*Adiantum obliquum*、*Adiantum ogasawarense*、掌叶铁线蕨 (*Adiantum pedatum*)、*Adiantum pentadactylon*、银圆铁线蕨 (*Adiantum peruvianum*)、半月形铁线蕨 (*Adiantum philippense*)、*Adiantum princeps*、毛叶铁线蕨 (*Adiantum pubescens*)、楔叶铁线蕨 (*Adiantum raddianum*)、楔叶铁线蕨 (*Adiantum raddianum*)、荷叶铁线蕨 (*Adiantum reniforme*)、陇南铁线蕨 (*Adiantum roborowskii*)、*Adiantum serratodentatum*、苍山铁线蕨 (*Adiantum sinicum*)、翅柄铁线蕨 (*Adiantum soboliferum*)、*Adiantum subcordatum*、脆铁线蕨 (*Adiantum tenerum*)、*Adiantum terminatum*、*Adiantum tetraphyllum*、细叶铁线蕨 (*Adiantum venustum*)、*Adiantum viridescens*和*Adiantum viridimontanum*。

[0045] 在一些实施方案中,编码PtIP-96多肽的核酸分子来源于水龙骨科鳞毛蕨科 (Family Dryopteridaceae) 的耳蕨属 (Genus *Polystichum*) 的蕨类物种,选自但不限于: 刺耳叶蕨 (*Polystichum acanthophyllum*)、圣诞耳蕨 (*Polystichum acrostichoides*)、欧洲耳蕨 (*Polystichum aculeatum*)、尖齿耳蕨 (*Polystichum acutidens*)、尖头耳蕨 (*Polystichum acutipinnulum*)、角状耳蕨 (*Polystichum alcicorne*)、*Polystichum aleuticum*、*Polystichum andersonii*、小芽孢耳蕨 (*Polystichum atkinsonii*)、*Polystichum australiense*、薄叶耳蕨 (*Polystichum bakerianum*)、二尖耳蕨 (*Polystichum biaristatum*)、波密耳蕨 (*Polystichum bomiense*)、*Polystichum bonseyi*、喜马拉雅耳蕨 (*Polystichum brachypterum*)、布朗耳蕨 (*Polystichum braunii*)、喜马拉雅耳蕨 (*Polystichum brachypterum*)、*Polystichum calderonense*、*Polystichum californicum*、基芽耳蕨 (*Polystichum capillipes*)、栗鳞耳蕨 (*Polystichum castaneum*)、*Polystichum chilense*、拟角状耳蕨 (*Polystichum christii*)、陈氏耳蕨 (*Polystichum chunii*)、鞭叶耳蕨 (*Polystichum craspedosorum*)、圆片耳蕨 (*Polystichum cyclolobum*)、*Polystichum cystostegia*、对生耳蕨 (*Polystichum deltodon*)、圆顶耳蕨 (*Polystichum dielsii*)、分离耳蕨 (*Polystichum discretum*)、*Polystichum drepanum*、*Polystichum dudleyi*、杜氏耳蕨 (*Polystichum duthiei*)、*Polystichum echinatum*、蚀盖耳蕨 (*Polystichum erosum*)、尖顶耳蕨 (*Polystichum*

excellens)、灰绿耳蕨(*Polystichum eximium*)、镰叶耳蕨(*Polystichum falcatifolium*)、*Polystichum falcinellum*、*Polystichum fallax*、台湾耳蕨(*Polystichum formosanum*)、*Polystichum glandulosum*、工布耳蕨(*Polystichum Zongboense*)、大叶耳蕨(*Polystichum grandifrons*)、无盖耳蕨(*Polystichum gymnocarpium*)、*Polystichum haleakalense*、小戟叶耳蕨(*Polystichum hancockii*)、多翼耳蕨(*Polystichum hecatopteron*)、草叶耳蕨(*Polystichum herbaceum*)、*Polystichum imbricans*、*Polystichum incongruum*、*Polystichum kruckebergii*、*Polystichum kwakiutlii*、拉钦耳蕨(*Polystichum lachenense*)、亮叶耳蕨(*Polystichum lanceolatum*)、雷蒙耳蕨(*Polystichum lemmonii*)、柔软耳蕨(*Polystichum lentum*)、矛状耳蕨(*Polystichum lonchitis*)、长齿耳蕨(*Polystichum longidens*)、长鳞耳蕨(*Polystichum longipaleatum*)、长柄耳蕨(*Polystichum longipes*)、*Polystichum luctuosum*、*Polystichum macleae*、大盖耳蕨(*Polystichum macrochlaenum*)、黑鳞耳蕨(*Polystichum makinoi*)、马氏耳蕨(*Polystichum martini*)、前原耳蕨(*Polystichum mayebarae*)、狭鳞耳蕨(*Polystichum mediocre*)、*Polystichum medogense*、*Polystichum microchlamys*、*Polystichum mohrioides*、毛叶耳蕨(*Polystichum mollissimum*)、*Polystichum monticola*、*Polystichum moorei*、玉山耳蕨(*Polystichum morii*)、宝兴耳蕨(*Polystichum moupinense*)、黔中耳蕨(*Polystichum munitum*)、*Polystichum muricatum*、*Polystichum nakenense*、革叶耳蕨(*Polystichum neolobatum*)、尼泊尔耳蕨(*Polystichum nepalense*)、宁陕耳蕨(*Polystichum ningshenense*)、知本耳蕨(*Polystichum obliquum*)、峨眉耳蕨(*Polystichum omeiense*)、*Polystichum ordinatum*、藏东耳蕨(*Polystichum orientalitibeticum*)、短柄耳蕨(*Polystichum paramoupinense*)、尖叶耳蕨(*Polystichum parvipinnulum*)、乌鳞耳蕨(*Polystichum piceopaleaceum*)、棕鳞耳蕨(*Polystichum polyblepharum*)、芒刺耳蕨(*Polystichum prescottianum*)、锯叶耳蕨(*Polystichum prionolepis*)、*Polystichum proliferum*、拟栗鳞耳蕨(*Polystichum pseudocastaneum*)、假黑鳞耳蕨(*Polystichum pseudomakinoi*)、中缅耳蕨(*Polystichum punctiferum*)、*Polystichum pungens*、昌都耳蕨(*Polystichum qamdoense*)、倒鳞耳蕨(*Polystichum retrosopaleaceum*)、斜方耳蕨(*Polystichum rhombiforme*)、*Polystichum rhomboidea*、*Polystichum richardii*、阔鳞耳蕨(*Polystichum rigens*)、圆片耳蕨(*Polystichum rotundilobum*)、帚状耳蕨(*Polystichum scopulinum*)、半育耳蕨(*Polystichum semifertile*)、刺毛耳蕨(*Polystichum setiferum*)、*Polystichum setigerum*、陕西耳蕨(*Polystichum shensiense*)、*Polystichum silvaticum*、单羽耳蕨(*Polystichum simplicipinnum*)、中华耳蕨(*Polystichum sinense*)、密鳞耳蕨(*Polystichum squarrosum*)、芽胞耳蕨(*Polystichum stenophyllum*)、猫儿刺耳蕨(*Polystichum stimulans*)、秦岭耳蕨(*Polystichum submite*)、南亚耳蕨(*Polystichum tacticopterum*)、尾叶耳蕨(*Polystichum thomsoni*)、*Polystichum tibeticum*、*Polystichum transvaalense*、三叉耳蕨(*Polystichum tripterum*)、对马耳蕨(*Polystichum tsus-simense*)、*Polystichum vestitum*、细裂耳蕨(*Polystichum wattii*)、*Polystichum whiteleggei*、关山耳蕨(*Polystichum xiphophyllum*)、亚东耳蕨(*Polystichum yadongense*)和云南耳蕨(*Polystichum yunnanense*)。

[0046] 在一些实施方案中,编码PtIP-96多肽的核酸分子来源于水龙骨科的鳞毛蕨科的贯众蕨属(Genus *Cyrtomium*)的蕨类物种,选自但不限于:等基贯众(*Cyrtomium aequibasis*)、镰羽贯众(*Cyrtomium balansae*)、短楔贯众(*Cyrtomium brevicuneatum*)、钙生贯众(*Cyrtomium calcicola*)、刺齿贯众(*Cyrtomium caryotideum*)、尾头贯众(*Cyrtomium caudatum*)、密羽贯众(*Cyrtomium confertifolium*)、福建贯众(*Cyrtomium conforme*)、革叶贯众(*Cyrtomium coriaceum*)、等基贯众(*Cyrtomium cuneatum*)披针贯众、(*Cyrtomium devexiscapulae*)、*Cyrtomium dubium*、全缘贯众(*Cyrtomium falcatum*)、巫溪贯众(*Cyrtomium falcipinnum*)、国楣贯众(*Cyrtomium fengianum*)、贯众(*Cyrtomium fortunei*)、槐叶贯众(*Cyrtomium fraxinellum*)、学煜贯众(*Cyrtomium houi*)、无齿贯众(*Cyrtomium integrum*)、*Cyrtomium laetevirens*、宽镰贯众(*Cyrtomium latifalcatum*)、小羽贯众(*Cyrtomium lonchitoides*)、长柄贯众(*Cyrtomium longipes*)、大叶贯众(*Cyrtomium macrophyllum*)、大羽贯众(*Cyrtomium maximum*)、狭顶贯众(*Cyrtomium mediocre*)、硕羽贯众(*Cyrtomium megaphyllum*)、*Cyrtomium micropterum*、*Cyrtomium moupingense*、维西贯众(*Cyrtomium neocaryotideum*)、低头贯众(*Cyrtomium nephrolepioides*)、显脉贯众(*Cyrtomium nervosum*)、斜基贯众(*Cyrtomium obliquum*)、峨眉贯众(*Cyrtomium omeiense*)、卵羽贯众(*Cyrtomium ovale*)、假尾头贯众(*Cyrtomium pseudocaudipinnum*)、反曲贯众(*Cyrtomium recurvum*)、鳞毛贯众(*Cyrtomium retrosopaleaceum*)、柳羽贯众(*Cyrtomium salicipinnum*)、尖齿贯众(*Cyrtomium serratum*)、山东贯众(*Cyrtomium shandongense*)、同羽贯众(*Cyrtomium simile*)、中华贯众(*Cyrtomium sinicum*)、新宁贯众(*Cyrtomium sinningense*)、硕美贯众(*Cyrtomium spectabile*)、台湾贯众(*Cyrtomium taiwanianum*)、*Cyrtomium takusicola*、世纬贯众(*Cyrtomium tengii*)斜方贯众(*Cyrtomium trapezoideum*) 秦岭贯众(*Cyrtomium tsinglingense*)单行贯众(*Cyrtomium uniseriale*)线羽贯众(*Cyrtomium urophyllum*)、*Cyrtomium vittatum*、黄志贯众(*Cyrtomium wangianum*)阴山贯众(*Cyrtomium yangshanense*)德浚贯众(*Cyrtomium yuanum*) 和云南贯众(*Cyrtomium yunnanense*)。

[0047] 在一些实施方案中,编码PtIP-96多肽的核酸分子来源于水龙骨科的水龙骨科的鹿角蕨属(Genus *Platycterium*)的蕨类物种,选自但不限于:美洲鹿角蕨(*Platycterium andinum*)、圆盾鹿角蕨(*Platycterium alcicorne*)、二叉鹿角蕨(*Platycterium bifurcatum*)、鹿角蕨(*Platycterium coronarium*)、象耳鹿角蕨(*Platycterium elephantotis*)、肾形鹿角蕨(*Platycterium ellisii*)、壮丽鹿角蕨(*Platycterium grande*)、深绿鹿角蕨(*Platycterium hillii*)、何其美鹿角蕨(*Platycterium holttumii*)、马达加斯加鹿角蕨(*Platycterium madagascariense*)、四叉鹿角蕨(*Platycterium quadridichotomum*)、马来鹿角蕨(*Platycterium ridleyi*)、三角鹿角蕨(*Platycterium stemaria*)、*Platycterium superbum*、立叶鹿角蕨(*Platycterium veitchii*)、印度鹿角蕨(*Platycterium wallichii*)、女王鹿角蕨(*Platycterium wandae*)、女皇鹿角蕨(*Platycterium wilhelminae-regmae*)和长叶鹿角蕨(*Platycterium willinkii*)。

[0048] 在一些实施方案中,编码PtIP-96多肽的核酸分子来源于水龙骨科的水龙骨科的连珠蕨属(Genus *Aglaomorpha*)的蕨类物种,选自但不限于: *Aglaomorpha acuminata*、*Aglaomorpha brooksii*、*Aglaomorpha cornucopia*、崖姜蕨(*Aglaomorpha coronans*)、

Aglaomorpha drynarioides、*Aglaomorpha heraclea*、*Aglaomorpha hieronymi*、*Aglaomorpha latipinna*、连珠蕨 (*Aglaomorpha meyeniana*)、*Aglaomorpha nectarifera*、*Aglaomorpha novoguineensis*、*Aglaomorpha parkinsoni*、*Aglaomorpha pilosa*和 *Aglaomorpha splendens*。

[0049] 在一些实施方案中, 编码PtIP-96多肽的核酸分子来源于桫欏目 (Order Cyatheaales) 的桫欏科 (Family Cyatheaceae) 的桫欏属 (Genus Cyathea) 的桫欏亚属 (Subgenus Cyathea) 的蕨类物种, 选自但不限于: *Cyathea acutidens*、*Cyathea aemula*、*Cyathea alata*、*Cyathea albomarginata*、*Cyathea alphonsiana*、*Cyathea alstonii*、*Cyathea amazonica*、*Cyathea andina*、*Cyathea arborea*、*Cyathea armata*、*Cyathea ars*、*Cyathea aspera*、*Cyathea atahuallpa*、*Cyathea aterrima*、*Cyathea atrovirens*、澳大利亚桫欏 (*Cyathea australis*)、*Cyathea barringtonii*、*Cyathea* × *bernardii*、*Cyathea bettinae*、*Cyathea bicrenata*、*Cyathea bipinnata*、*Cyathea boliviana*、*Cyathea bormquena*、*Cyathea bradei*、*Cyathea brevistipes*、*Cyathea brunnescens*、*Cyathea* × *calolepis*、*Cyathea caracasana*、*Cyathea cicatricosa*、*Cyathea concordia*、*Cyathea conformis*、*Cyathea conjugata*、*Cyathea corallifera*、*Cyathea costaricensis*、*Cyathea cranhamii*、*Cyathea cyatheoides*、*Cyathea cyclodium*、*Cyathea cystolepis*、*Cyathea darienensis*、*Cyathea decomposita*、*Cyathea decorata*、*Cyathea decurrens*、*Cyathea delgadii*、*Cyathea demissa*、*Cyathea dichromatolepis*、*Cyathea dissimilis*、*Cyathea dissoluta*、*Cyathea divergens*、*Cyathea dombeyi*、*Cyathea dudleyi*、*Cyathea ebenina*、*Cyathea estelae*、*Cyathea falcata*、*Cyathea frigida*、*Cyathea fulva*、*Cyathea furfuracea*、*Cyathea gardneri*、*Cyathea gibbosa*、*Cyathea glauca*、*Cyathea gracilis*、*Cyathea halonata*、*Cyathea harrisii*、*Cyathea haughtii*、*Cyathea hemiepiphytica*、*Cyathea hirsuta*、*Cyathea hodgiana*、*Cyathea holdridgeana*、*Cyathea howeana*、*Cyathea impar*、*Cyathea intramarginalis*、*Cyathea jamaicensis*、*Cyathea kalbreyeri*、*Cyathea lasiosora*、*Cyathea latevagans*、*Cyathea lechleri*、*Cyathea leucofolis*、*Cyathea* × *lewisii*、*Cyathea lockwoodiana*、*Cyathea macrocarpa*、*Cyathea macrosora*、*Cyathea marginalis*、*Cyathea microdonta*、*Cyathea microphylla*、*Cyathea mucilagina*、*Cyathea multiflora*、*Cyathea multisegmenta*、*Cyathea myosuroides*、*Cyathea nanna*、*Cyathea nesiotica*、*Cyathea nigripes*、*Cyathea nodulifera*、*Cyathea notabilis*、*Cyathea onusta*、*Cyathea palaciosii*、*Cyathea paladensis*、*Cyathea pallescens*、*Cyathea parianensis*、*Cyathea parva*、*Cyathea parvula*、*Cyathea pauciflora*、*Cyathea petiolata*、*Cyathea phalaenolepis*、*Cyathea phalerata*、*Cyathea phegopteroides*、*Cyathea pilosissima*、*Cyathea pinnula*、*Cyathea platylepis*、*Cyathea poeppigii*、*Cyathea praecincta*、*Cyathea pseudonanna*、*Cyathea pubens*、*Cyathea punctata*、*Cyathea pungens*、*Cyathea robertsiana*、*Cyathea rufa*、*Cyathea ruiziana*、*Cyathea sagittifolia*、*Cyathea schiedeana*、*Cyathea schlimii*、*Cyathea senilis*、*Cyathea simplex*、*Cyathea sipapoensis*、*Cyathea speciosa*、*Cyathea squamulosa*、*Cyathea steyermarkii*、*Cyathea stipularis*、*Cyathea stokesii*、*Cyathea stolzei*、*Cyathea straminea*、*Cyathea subtropica*、*Cyathea suprastrigosa*、*Cyathea*

surinamensis、*Cyathea tenera*、*Cyathea tortuosa*、*Cyathea trichiata*、*Cyathea tryonorum*、*Cyathea ursina*、*Cyathea valdecrenata*、*Cyathea venezuelensis*、*Cyathea villosa*、*Cyathea weatherbyana*、*Cyathea wendlandii*、*Cyathea werffii*、*Cyathea williamsii*。

[0050] 在一些实施方案中,编码PtIP-96多肽的核酸分子来源于水龙骨科(Family Davalliaceae)的骨碎补属(Genus Davallia)的蕨类物种,选自但不限于:*Davallia angustata*、*Davallia assamica*、*Davallia brassii*、*Davallia brevipes*、加拿大骨碎补(*Davallia canariensis*)、*Davallia corniculata*、假脉骨碎补(*Davallia denticulata*)、*Davallia embolostegia*、*Davallia falcinella*、*Davallia graeffei*、杯状盖骨碎补(*Davallia griffithiana*)、*Davallia heterophylla*、*Davallia leptocarpa*、*Davallia parvula*、马来阴石蕨(*Davallia pectinata*)、*Davallia pentaphylla*、阴石蕨(*Davallia repens*)、*Davallia rouffaeriensis*、*Davallia seramensis*、*Davallia sessilifolia*、*Davallia sessilifolioides*、阔叶骨碎补(*Davallia solida*)、*Davallia speciosa*、*Davallia tasmanii*、海州骨碎补(*Davallia trichomanoides*)、*Davallia triphylla*、*Davallia undulata*、*Davallia wagneriana*和*Davallia yunnanensis*。

[0051] 在一些实施方案中,编码PtIP-96多肽的核酸分子来源于沙草蕨目(Order Schizaeales)的海金沙科(Family Lygodiaceae)的海金沙属(Genus Lygodium)的蕨类物种,选自但不限于:*Lygodium altum*、*Lygodium articulatum*、*Lygodium boivini* Kuhn、*Lygodium borneense* Alderw.、海南海金沙(*Lygodium circinnatum*)、*Lygodium colaniae*、海南海金沙(*Lygodium conforme*)、古巴海金沙(*Lygodium cubense*)、*Lygodium dimorphum*、曲轴海金沙(*Lygodium flexuosum*)、*Lygodium giganteum*、*Lygodium heterodoxum*、*Lygodium hians*、海金沙藤(*Lygodium japonicum*)、*Lygodium kerstenii*、*Lygodium lanceolatum*、掌叶海金沙(*Lygodium longifolium*)、*Lygodium merrillii*、小叶海金沙(*Lygodium microphyllum*)、*Lygodium oligostachyum*、掌羽海金沙(*Lygodium palmatum*)、*Lygodium pedicellatum*、羽裂海金沙(*Lygodium polystachyum*)、*Lygodium radiatum*、*Lygodium reticulatum*、柳叶海金沙(*Lygodium salicifolium*)、*Lygodium smithianum*、网脉海金沙(*Lygodium subareolatum*)、*Lygodium trifurcatum*、*Lygodium venustum*、*Lygodium versteegii*、*Lygodium volubile*、*Lygodium*×*fayae*、*Lygodium*×*lancetillanum*和云南海金沙(*Lygodium yunnanense*)。

[0052] 在一些实施方案中,编码PtIP-96多肽的核酸分子来源于水韭纲(Class Isoetopsida)或石松纲(Class Lycopodiopsida)的物种。

[0053] 在一些实施方案中,编码PtIP-96多肽的核酸分子来源于水韭纲的卷柏目(Order Selaginales)的物种。在一些实施方案中,编码PtIP-96多肽的核酸分子来源于水韭纲的卷柏目的卷柏科(Family Selaginellaceae)的物种。在一些实施方案中,编码PtIP-96多肽的核酸分子来源于卷柏属(Genus Selaginella)的石松物种。在一些实施方案中,编码PtIP-96多肽的核酸分子来源于卷柏属植物物种,选自但不限于:*Selaginella acanthonota*、细叶卷柏(*Selaginella apoda*)、*Selaginella arbuscula*、沙丘卷柏(*Selaginella arenicola*)、*Selaginella arizonica*、具刺卷柏(*Selaginella armata*)、*Selaginella asprella*、二形卷柏(*Selaginella biformis*)、*Selaginella bigelovii*、布

朗卷柏 (*Selaginella braunii*)、*Selaginella cinerascens*、*Selaginella cordifolia*、*Selaginella deflexa*、薄叶卷柏 (*Selaginella delicatula*)、*Selaginella densa*、*Selaginella douglasii*、佛罗里达卷柏 (*Selaginella eatonii*)、*Selaginella eclipses*、*Selaginella eremophila*、火焰卷柏 (*Selaginella erythropus*)、扇形卷柏 (*Selaginella flabellata*)、*Selaginella hansenii*、*Selaginella heterodonta*、小翠云草 (*Selaginella kraussiana*)、*Selaginella krugii*、*Selaginella laxifolia*、复活草 (*Selaginella lepidophylla*)、*Selaginella leucobryoides*、海湾卷柏 (*Selaginella ludoviciana*)、*Selaginella mutica*、*Selaginella oregana*、*Selaginella ovifolia*、*Selaginella pallescens*、*Selaginella peruviana*、毛卷柏 (*Selaginella pilifera*)、*Selaginella plana*、*Selaginella plumosa*、*Selaginella pulcherrima*、岩生卷柏 (*Selaginella rupestris*)、*Selaginella rupincola*、*Selaginella scopulorum*、欧洲卷柏 (*Selaginella selaginoides*)、西伯利亚卷柏 (*Selaginella sibirica*)、*Selaginella standleyi*、*Selaginella stellata*、*Selaginella subcaulescens*、*Selaginella substipitata*、*Selaginella tenella*、扭毛卷柏 (*Selaginella tortipila*)、*Selaginella uliginosa*、*Selaginella umbrosa*、翠云蕨 (*Selaginella uncmata*)、*Selaginella underwoodii*、*Selaginella utahensis*、*Selaginella victoriae*、*Selaginella viridissima*、*Selaginella wallacei*、*Selaginella watsonii*、*Selaginella weatherbiana*、藤卷柏 (*Selaginella willdenowii*)、*Selaginella wrightii*和 *Selaginella X neomexicana*。

[0054] 在一些实施方案中,编码PtIP-96多肽的核酸分子来源于石松纲的石松目 (Order Lycopodiales) 的石杉科 (Family Huperziaceae) 的石杉属 (Genus Huperzia) 的物种,选自但不限于:*Huperzia acerosa*、小杉叶石杉 (*Huperzia appressa*)、*Huperzia arctica*、*Huperzia attenuata*、*Huperzia australiana*、*Huperzia balansae*、*Huperzia billardieri*、*Huperzia brachiata*、*Huperzia bradeorum*、*Huperzia brevifolia*、*Huperzia campiana*、*Huperzia capellae*、*Huperzia capillaris*、覆叶石松 (*Huperzia carinata*)、*Huperzia chamaeleon*、*Huperzia compacta*、*Huperzia crassa*、*Huperzia cumingii*、*Huperzia cuneifolia*、*Huperzia curvifolia*、*Huperzia dacrydioides*、*Huperzia dentata*、*Huperzia dichaeoides*、*Huperzia dichotoma*、*Huperzia ericifolia*、*Huperzia eversa*、线石杉 (*Huperzia filiformis*)、*Huperziafoliacea*、福氏石松 (*Huperzia fordii*)、*Huperzia funiformis*、*Huperzia hastata*、*Huperzia heteroclita*、*Huperzia hippuridea*、*Huperzia hippuris*、*Huperzia hoffmannii*、*Huperzia holstii*、*Huperzia homocarpa*、*Huperzia horizontalis*、*Huperzia hystrix*、*Huperzia lancifolia*、*Huperzia lindenbergii*、*Huperzia linifolia*、*Huperzia lockyeri*、亮叶石杉 (*Huperzia lucidula*)、*Huperzia mannii*、*Huperzia megastachya*、*Huperzia mesoamericana*、闽浙马尾杉 (*Huperzia mingcheensis*)、*Huperzia mollicoma*、*Huperzia myrsmites*、*Huperzia nummularifolia*、*Huperzia nutans*、*Huperzia ophioglossoides*、*Huperzia pflanzii*、垂枝石松 (*Huperzia phlegmaria*)、*Huperzia phlegmarioides*、*Huperzia pithyodes*、*Huperzia pittieri*、*Huperzia polycarpus*、*Huperzia polydactyla*、*Huperzia porophila*、*Huperzia prolifera*、*Huperzia reflexa*、*Huperzia*

rosenstockiana、*Huperzia rufescens*、小垂枝石松 (*Huperzia salvinoides*)、*Huperzia sarmentosa*、小杉兰 (*Huperzia selago*)、蛇足石杉 (*Huperzia serrata*)、鳞叶石松 (*Huperzia sieboldii*)、杉叶石松 (*Huperzia squarrosa*)、*Huperzia subulata*、*Huperzia talamancana*、*Huperzia tauri*、*Huperzia taxifolia*、*Huperzia tenuis*、*Huperzia tetragona*、四角石松 (*Huperzia tetrasticha*)、*Huperzia tubulosa*、*Huperzia unguiculata*、*Huperzia varia*、*Huperzia verticillata*和*Huperzia wilson*。

[0055] 在一些实施方案中,编码PtIP-96多肽的核酸分子来源于石松纲的石松目的石松科(Family Lycopodiaceae)的石松属植物(Genus *Lycopodium*)物种,选自但不限于:高山扁枝石松 (*Lycopodium alpinum* L.)、多穗石松 (*Lycopodium annotinum* L.)、东北石松 (*Lycopodium clavatum* L.)、扁枝石松 (*Lycopodium complanatum* L.)、*Lycopodium dendroideum* Michx.、*Lycopodium digitatum*、*Lycopodium*×*habereri*、*Lycopodium hickeyi*、*Lycopodium*×*issleri*、*Lycopodium lagopus*、玉柏石松 (*Lycopodium obscurum* L.)、细穗石松 (*Lycopodium phlegmaria* L.)、杜松叶石松 (*Lycopodium sabinifolium*)、*Lycopodium sitchense*、三穗石松 (*Lycopodium tristachyum*)、*Lycopodium venustulum*、*Lycopodium venustulum* var.*venustulum*、*Lycopodium venustulum* var.*verticale*、*Lycopodium volubile*和*Lycopodium*×*zeilleri*。

[0056] 还提供了编码转录和/或翻译产物的核酸分子,所述转录和/或翻译产物随后被剪接而最终产生功能性PtIP-96多肽。剪接可在体外或体内完成,并且可涉及顺式或反式剪接。供剪接的底物可以是多核苷酸(例如,RNA转录物)或多肽。多核苷酸顺式剪接的示例是将插入编码序列中的内含子移除并且将两个旁侧外显子区剪接而产生PtIP-96多肽编码序列的情形。反式剪接的示例将是通过如下方式加密多核苷酸的情形:将编码序列分成两个或更多个片段,所述两个或更多个片段可单独地转录,然后剪接而形成全长杀虫编码序列。可引入构建体中的剪接增强子序列的使用可有利于多肽顺式或反式剪接方式的剪接(美国专利No.6,365,377和6,531,316)。因此,在一些实施方案中,所述多核苷酸不直接编码全长PtIP-96多肽,而是编码PtIP-96多肽的一个或多个片段。这些多核苷酸可用于通过涉及剪接的机制来表达功能性PtIP-96多肽,其中剪接可在多核苷酸(例如,内含子/外显子)和/或多肽(例如,内含肽/外显肽)水平发生。这可用于例如控制杀虫活性的表达,因为功能性杀虫多肽将仅在如下情况下表达:所有必需的片段在容许剪接过程的环境中表达从而产生功能性产物。又如,在多核苷酸中引入一个或多个插入序列可有利于与低同源性多核苷酸的重组;插入序列使用内含子或内含肽有利于移除间插序列,从而恢复所编码变体的功能。

[0057] 作为这些编码PtIP-96多肽的核酸序列的片段的核酸分子也被所述实施方案涵盖。如本文所用,“片段”是指编码PtIP-96多肽的核酸序列的一部分。核酸序列的片段可以编码PtIP-96多肽的生物活性部分,或其可以是在使用下文所公开的方法时可用作杂交探针或PCR引物的片段。作为编码PtIP-96多肽的核酸序列的片段的核酸分子包含至少约150、180、210、240、270、300、330或360个连续核苷酸或最多至存在于编码本文所公开的PtIP-96多肽的全长核酸序列中的核苷酸的数量,具体取决于预期应用。“连续核苷酸”在本文中用来指彼此紧邻的核苷酸残基。所述实施方案的核酸序列的片段将编码保留PtIP-96Aa多肽的生物活性并从而保留杀昆虫活性的蛋白片段。“保留杀昆虫活性”在本文中用

来指多肽,所述多肽具有至少约 10%、至少约30%、至少约50%、至少约70%、80%、90%、95%或更高的全长PtIP-96Aa多肽(SEQ ID NO:9)的杀昆虫活性。在一些实施方案中,杀昆虫活性是鳞翅目活性。在一个实施方案中,杀昆虫活性是对于鞘翅目物种而言的。在一些实施方案中,杀昆虫活性是对以下一种或多种昆虫害虫玉米根虫复合体而言的:西部玉米根虫即玉米幼芽根叶甲(*Diabrotica virgifera*);北方玉米根虫即长角叶甲(*D. barberi*);南方玉米根虫或十一星瓜叶甲;黄瓜十一星叶甲(*Diabrotica undecimpunctata howardi*)和墨西哥玉米根虫即西部玉米根虫(*D. virgifera zea*)。在一个实施方案中,杀昆虫活性是对于叶甲物种而言的。

[0058] 在一些实施方案中,编码PtIP-96多肽的核酸序列的编码蛋白生物活性部分的片段将编码至少约15,20,30,50,75,100,125个连续氨基酸或最多存在于所述实施方案的全长PtIP-96多肽中的氨基酸的总数。在一些实施方案中,片段是例如通过蛋白水解、起始密码子的插入、编码缺失氨基酸的密码子的缺失同时伴随终止密码子的插入或通过编码序列中终止密码子的插入,相对于SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:26;SEQ ID NO:28;SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:42、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:50、SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:70、SEQ ID NO:72、SEQ ID NO:74、SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:78、SEQ ID NO:80、SEQ ID NO:82、SEQ ID NO:84、SEQ ID NO:86、SEQ ID NO:88、SEQ ID NO:90、SEQ ID NO:92、SEQ ID NO:94、SEQ ID NO:96、SEQ ID NO:98、SEQ ID NO:100、SEQ ID NO:102、SEQ ID NO:104、SEQ ID NO:106或SEQ ID NO:108或其变体从N末端和/或C末端的至少约1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,18,19,20,21,22,23,24,25,26,27,28,29,30,31,32,33,34个或更多个氨基酸的N末端和/或C末端截短。

[0059] 在一些实施方案中,PtIP-96多肽由与SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:25;SEQ ID NO:27;SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:37、SEQ ID NO:39、SEQ ID NO:41、SEQ ID NO:43、SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47、SEQ ID NO:49、SEQ ID NO:51、SEQ ID NO:53、SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:57、SEQ ID NO:59、SEQ ID NO:61、SEQ ID NO:63、SEQ ID NO:65、SEQ ID NO:67、SEQ ID NO:69、SEQ ID NO:71、SEQ ID NO:73、SEQ ID NO:75、SEQ ID NO:77、SEQ ID NO:79、SEQ ID NO:81、SEQ ID NO:83、SEQ ID NO:85、SEQ ID NO:87、SEQ ID NO:89、SEQ ID NO:91、SEQ ID NO:93、SEQ ID NO:95、SEQ ID NO:97、SEQ ID NO:99、SEQ ID NO:101、SEQ ID NO:103、SEQ ID NO:105、SEQ ID NO:107 或SEQ ID NO:109的核酸序列充分同源的核酸序列编码。“充分同源”在本文中用来指使用本文所述的比对程序之一并采用标准参数与参考序列进行比较时氨基酸或核酸序列具有至少约50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高的序列同源性。本领域技术人员将会认识到,可通过考虑密码子简并性、氨基酸相似性、阅读框定位等等适当调整

这些值以确定两条核酸序列所编码的蛋白质的相应同源性。在一些实施方案中,序列同源性是针对编码PtIP-96多肽的多核苷酸的全长序列或针对PtIP-96多肽的全长序列而言的。

[0060] 在一些实施方案中,编码PtIP-96多肽的核酸选自SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO: 11、SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:25;SEQ ID NO:27;SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO: 37、SEQ ID NO:39、SEQ ID NO:41、SEQ ID NO:43、SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47、SEQ ID NO:49、SEQ ID NO:51、SEQ ID NO:53、SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:57、SEQ ID NO:59、SEQ ID NO:61、SEQ ID NO: 63、SEQ ID NO:65、SEQ ID NO:67、SEQ ID NO:69、SEQ ID NO:71、SEQ ID NO:73、SEQ ID NO:75、SEQ ID NO:77、SEQ ID NO:79、SEQ ID NO:81、SEQ ID NO:83、SEQ ID NO:85、SEQ ID NO:87、SEQ ID NO: 89、SEQ ID NO:91、SEQ ID NO:93、SEQ ID NO:95、SEQ ID NO:97、SEQ ID NO:99、SEQ ID NO:101、SEQ ID NO:103、SEQ ID NO:105、SEQ ID NO:107或SEQ ID NO:109中的任一项。

[0061] 在一些实施方案中,核酸编码这样的PtIP-96多肽,其相较于SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:26;SEQ ID NO: 28;SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:42、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:50、SEQ ID NO:52、SEQ ID NO: 54、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:70、SEQ ID NO:72、SEQ ID NO:74、SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:78、SEQ ID NO: 80、SEQ ID NO:82、SEQ ID NO:84、SEQ ID NO:86、SEQ ID NO:88、SEQ ID NO:90、SEQ ID NO:92、SEQ ID NO:94、SEQ ID NO:96、SEQ ID NO:98、SEQ ID NO:100、SEQ ID NO:102、SEQ ID NO:104、SEQ ID NO:106或SEQ ID NO:108具有至少约50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高的序列同一性。

[0062] 在一些实施方案中,序列同一性是使用采用全部默认参数的VectorNTI[®]程序组(加利福尼亚州卡尔斯巴德的英杰公司(Invitrogen Corporation, Carlsbad, Calif.))的ALIGNX[®]模块中的ClustalW算法来计算的。在一些实施方案中,序列同一性是使用采用全部默认参数的Vector NTI程序组(加利福尼亚州卡尔斯巴德的英杰公司(Invitrogen Corporation, Carlsbad, Calif.))的ALIGNX模块中的ClustalW算法跨越多肽的整个长度计算的。

[0063] 为了确定两条氨基酸序列或两条核酸序列的同一性百分比,对序列进行了最佳比较目的的比对。这两条序列之间的同一性百分比是序列所共有的相同位置的数量的函数(即,同一性百分比=相同位置的数量/位置(例如,重叠的位置)的总数×100)。在一个实施方案中,这两条序列长度相同。在另一个实施方案中,所述比较跨越参考序列整体(例如,跨越SEQ ID NO:1整体)。两条序列之间的同一性百分比可使用类似于下文所述的 那些的技术在允许或不允许空位的情况下确定。在计算同一性百分比中,通常对准确的匹配进

行计数。

[0064] 用于序列比较的数学算法的另一个非限制性示例是Needleman和 Wunsch, (1970) J.Mol.Biol.48 (3):443-453的算法,其使用GAP版本10软件 采用以下默认参数来测定序列同一性或相似性:核酸序列的同一性%和相似性%使用GAP权重50和长度权重3以及 nwsgapdna.cmpii打分矩阵;氨基酸序列的同一性%或相似性%使用GAP权重8和长度权重2以及 BLOSUM62打分程序。也可使用等同程序。“等同程序”在本文中用来指任何这样的序列比较程序,其对于任何两个所考虑的序列,相比于GAP版本10所产生的相应比对,能产生出具有相同的核苷酸残基匹配和相同的序列同一性百分比的比对。

[0065] 所述实施方案还涵盖编码PtIP-96多肽变体的核酸分子。PtIP-96多肽 编码核酸序列的“变体”包括编码本文公开的PtIP-96多肽但由于遗传密码的简并性而保守地差异的那些序列以及与上文所讨论充分相同的那些序列。天然存在的等位基因变体可用熟知的分子生物学技术进行鉴定,比如用下文所述的聚合酶链反应(PCR)和杂交技术来鉴定。变体核酸序列也包括合成而得的核酸序列,其例如通过使用定点诱变而产生,但仍然编码所公开的PtIP-96多肽,如下文所讨论。

[0066] 本公开提供编码任何本文所公开的PtIP-96多肽的分离的或重组的多核苷酸。本领域普通技术人员将易于理解,由于遗传密码的简并性,存在大量编码本公开PtIP-96多肽的核苷酸序列。

[0067] 技术人员还将理解,可通过核酸序列的突变引入变化,从而引起所编码的PtIP-96多肽的氨基酸序列的变化,而不改变蛋白的生物活性。因此,可通过将一个或多个核苷酸置换、添加和/或缺失引入本文所公开的相应核酸序列中来形成变体核酸分子,使得一个或多个氨基酸置换、添加或缺失被引入所编码的蛋白中。可通过标准技术,比如定点诱变和PCR介导的诱变来引入突变。此类变体核酸序列也被本发明涵盖。

[0068] 或者,可通过沿着全部或部分的编码序列随机地引入突变,比如通过饱和诱变来制得变体核酸序列,并且可筛查所得突变体赋予杀虫活性的能力以鉴定保留活性的突变体。诱变后,可以重组方式表达所编码的蛋白,并且可使用标准测定法技术确定该蛋白的活性。

[0069] 除如Ausubel、Berger和Sambrook所述的标准克隆方法以外,本发明的多核苷酸及其片段任选地用作多种重组和递归重组反应的底物,即,为了产生具有所需特性的额外杀虫多肽同源物及其片段。多种此类反应是已知的,包括发明人及其同事开发的那些。用于产生本文所列任何核酸的变体的方法包括将此类多核苷酸与第二(或更多)多核苷酸递归重组,从而形成变体多核苷酸的文库,所述方法也是本发明的实施方案,所产生的文库、包含所述文库的细胞以及由此类方法产生的任何重组多核苷酸也是如此。另外,此类方法任选地包括当此类递归重组在体外或体内完成时,基于杀虫活性从此类文库选择变体多核苷酸。

[0070] 多种多样性产生方案(包括核酸递归重组方案)可供使用并且已在本领域中充分描述。这些程序可单独和/或组合使用以产生核酸或核酸组的一个或多个变体,以及所编码的蛋白的变体。这些程序单独地和共同地提供产生多样化的核酸和核酸组(包括例如核酸文库)的稳固、广泛适用的方法,可用于例如核酸、蛋白、通路、细胞和/或生物体的工程改造或快速进化而具有新的和/或改善的特性。

[0071] 虽然为清楚起见在后续讨论过程中进行了区分和分类,但应当理解,这些技术通常不是互相排斥的。事实上,所述各种方法可单独或组合使用、并行或连续使用,以获得多样的序列变体。

[0072] 任何本文所述的多样性产生程序的结果可以是产生一条或多条核酸,可对所述一条或多条核酸进行选择或筛选而得到具有或赋予所需特性的核酸或者编码具有或赋予所需特性的蛋白的核酸。在通过本文的一种或多种方法或者可供技术人员使用的其它方法进行多样化后,可针对所需活性或特性例如杀虫活性或在所需pH下的此类活性等等,来选择产生的任何核酸。这可包括鉴定任何活性,所述活性可通过本领域的任何测定法以例如自动化或可自动化的格式进行检测,参见例如下文杀昆虫活性的筛查的讨论。多种相关(或甚至不相关)特性可由操作人员自行决定是连续地还是并行地评价。

[0073] 用于产生经修饰的核酸序列(例如编码具有杀虫活性的多肽或其片段的核酸序列)的多种多样性产生程序的描述可见于下列出版物及其中引用的参考文献:Soong等人,(2000)Nat Genet 25(4):436-439;Stemmer等人,(1999)Tumor Targeting 4:1-4;Ness等人,(1999)Nat Biotechnol 17:893-896;Chang等人,(1999)Nat Biotechnol 17:793-797;Minshull和Stemmer,(1999)Curr Opin Chem Biol 3:284-290;Christians等人,(1999)Nat Biotechnol 17:259-264;Cramer等人,(1998)Nature 391:288-291;Cramer等人,(1997)Nat Biotechnol 15:436-438;Zhang等人,(1997)PNAS USA 94:4504-4509;Patten等人,(1997)Curr Opin Biotechnol 8:724-733;Cramer等人,(1996)Nat Med 2:100-103;Cramer等人,(1996)Nat Biotechnol 14:315-319;Gates等人,(1996)J Mol Biol 255:373-386;Stemmer,(1996)“Sexual PCR and Assembly PCR”In:The Encyclopedia of Molecular Biology.VCH Publishers,New York.pp.447-457(Stemmer,1996年,“有性PCR和装配PCR”,载于:《分子生物学百科全书》,纽约VCH出版社,第447-457页);Cramer和Stemmer,(1995)BioTechniques 18:194-195;Stemmer等人,(1995)Gene, 164:49-53;Stemmer,(1995)Science 270:1510;Stemmer,(1995)Bio/Technology 13:549-553;Stemmer,(1994)Nature 370:389-391以及Stemmer,(1994)PNAS USA 91:10747-10751。

[0074] 产生多样性的突变方法包括例如定点诱变(Ling等人,(1997)Anal Biochem 254(2):157-178;Dale等人,(1996)Methods Mol Biol 57:369-374;Smith,(1985)Ann Rev Genet 19:423-462;Botstein和Shortle,(1985)Science 229:1193-1201;Carter,(1986)Biochem J 237:1-7和Kunkel,(1987)“The efficiency of oligonucleotide directed mutagenesis”,载于Nucleic Acids& Molecular Biology(Eckstein和Lilley编辑, Springer Verlag,Berlin);使用含尿嘧啶的模板进行的诱变(Kunkel,(1985)PNAS USA 82:488-492;Kunkel等人,(1987)Methods Enzymol 154:367-382和Bass等人,(1988)Science 242:240-245);寡核苷酸定点诱变(Zoller和Smith,(1983)Methods Enzymol 100:468-500;Zoller和Smith,(1987)Methods Enzymol 154:329-350(1987);Zoller和Smith,(1982)Nucleic Acids Res 10:6487-6500);硫代磷酸修饰的DNA诱变(Taylor等人,(1985)Nucl Acids Res 13:8749-8764;Taylor等人,(1985)Nucl Acids Res 13:8765-8787(1985);Nakamaye和Eckstein,(1986)Nucl Acids Res 14:9679-9698;Sayers等人,(1988)Nucl Acids Res 16:791-802和Sayers等人,(1988)Nucl Acids Res 16:803-814);使

用带空位的双螺旋DNA进行的诱变(Kramer等人,(1984)Nucl Acids Res 12:9441-9456; Kramer和Fritz,(1987)Methods Enzymol154:350-367; Kramer等人,(1988)Nucl Acids Res16:7207和Fritz等人,(1988)Nucl Acids Res16:6987-6999)。

[0075] 另外的合适方法包括点错配修复(Kramer等人,(1984)Cell38:879-887)、使用修复缺陷型宿主菌株进行的诱变(Carter等人,(1985)Nucl Acids Res13:4431-4443和Carter,(1987)Methods in Enzymol154:382-403)、缺失诱变(Eghtedarzadeh和Henikoff,(1986)Nucl Acids Res14:5115)、限制选择和限制纯化(Wells等人,(1986)Phil Trans R Soc Lond A 317:415-423)、通过全基因合成进行的诱变(Nambiar等人,(1984)Science 223:1299-1301;Sakamar和Khorana,(1988)Nucl Acids Res14:6361-6372; Wells等人,(1985)Gene 34:315-323和Grundström等人,(1985)Nucl Acids Res13:3305-3316)、双链断裂修复(Mandecki,(1986)PNAS USA,83:7177-7181和Arnold,(1993)Curr Opin Biotech4:450-455)。关于上述方法中许多方法的另外细节可见于Methods Enzymol Volume 154(《酶学方法》,第154卷),该文献也描述了各种诱变方法故障排除问题的有用对照。

[0076] 有关各种多样性产生方法的另外细节可见于下列美国专利、PCT公布和申请以及EPO公布:美国专利No.5,723,323、美国专利No.5,763,192、美国专利No.5,814,476、美国专利No.5,817,483、美国专利No.5,824,514、美国专利No.5,976,862、美国专利No.5,605,793、美国专利No.5,811,238、美国专利No.5,830,721、美国专利No.5,834,252、美国专利No.5,837,458、WO 1995/22625、WO 1996/33207、WO 1997/20078、WO 1997/35966、WO 1999/41402、WO 1999/41383、WO 1999/41369、WO 1999/41368、EP 752008、EP 0932670、WO 1999/23107、WO 1999/21979、WO 1998/31837、WO 1998/27230、WO 1998/27230、WO 2000/00632、WO 2000/09679、WO 1998/42832、WO 1999/29902、WO 1998/41653、WO 1998/41622、WO 1998/42727、WO 2000/18906、WO 2000/04190、WO 2000/42561、WO 2000/42559、WO 2000/42560、WO 2001/23401和PCT/US01/06775。

[0077] 本发明实施方案的核苷酸序列也可用于从蕨类植物门(DivisionPteridophyta)的蕨类物种或卷柏属(Genus Selaginella)的石松物种分离相应的序列。以此方式,诸如PCR、杂交等之类的方法可以用来基于这类序列与本文所述序列的序列同源性从而鉴定这类序列。本发明实施方案涵盖了基于序列与本文所述的完整序列或其片段的序列同一性而选择的序列。这类序列包括为所公开的序列的直系同源物的序列。术语“直系同源物”指衍生自共同祖先基因并且由于物种形成而存在于不同物种中的基因。当其核苷酸序列和/或其所编码的蛋白质序列如本文其它地方所定义的那样具有实质性的同一性时,存在于不同物种中的基因被认为是直系同源物。直系同源物的功能在各种物种中常常是高度保守的。

[0078] 在PCR方法中,可设计寡核苷酸引物用于PCR反应,以从提取自任何所关注生物体的cDNA或基因组DNA扩增相应的DNA序列。用于设计PCR引物和PCR克隆的方法是本领域公知的,并且公开于Sambrook等人,(1989)Molecular Cloning:A Laboratory Manual(第2版,Cold Spring Harbor Laboratory Press,Plainview,New York),下文称“Sambrook”。另外参见Innis等人编辑,(1990)PCR Protocols:A Guide to Methods and Applications(Academic Press,New York);Innis和Gelfand编辑,(1995)PCR

Strategies (Academic Press, New York); 以及 Innis 和 Gelfand 编辑, (1999) PCR Methods Manual (Academic Press, New York)。已知的 PCR 方法包括但不限于利用成对引物、巢式引物、单一特异引物、简并引物、基因特异性引物、载体特异性引物、部分错配引物等的方法。

[0079] 为从蕨类或苔藓收集物中鉴定出可能的 PtIP-96 多肽, 可利用针对 PtIP-96 多肽和/或 PtIP-96 多肽产生的抗体使用蛋白质印迹法和/或 ELISA 方法筛检蕨类或苔藓细胞裂解液。该类型的测定法可以高通量方式进行。可通过各种技术比如基于抗体的蛋白纯化和鉴定, 进一步分析阳性样品。生成抗体的方法是本领域熟知的, 如下文所讨论。

[0080] 另选地, 可使用基于质谱的蛋白鉴定方法, 用文献 (Scott Patterson, (1998), 10.22, 1-24, Current Protocol in Molecular Biology, 由 John Wiley & Son Inc 出版) 中的方案来鉴定 PtIP-96 多肽的同源物。具体而言, 使用基于 LC-MS/MS 的蛋白鉴定方法将给定细胞裂解物或富含所需分子量的样品 (从 PtIP-96 多肽的相关分子量条带的 SDS-PAGE 凝胶切离) 的 MS 数据与 PtIP-96 多肽 (SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 7、SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 9、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 12、SEQ ID NO: 14、SEQ ID NO: 16、SEQ ID NO: 18、SEQ ID NO: 20、SEQ ID NO: 22、SEQ ID NO: 24、SEQ ID NO: 26; SEQ ID NO: 28; SEQ ID NO: 30、SEQ ID NO: 32、SEQ ID NO: 34、SEQ ID NO: 36、SEQ ID NO: 38、SEQ ID NO: 40、SEQ ID NO: 42、SEQ ID NO: 44、SEQ ID NO: 46、SEQ ID NO: 48、SEQ ID NO: 50、SEQ ID NO: 52、SEQ ID NO: 54、SEQ ID NO: 56、SEQ ID NO: 58、SEQ ID NO: 60、SEQ ID NO: 62、SEQ ID NO: 64、SEQ ID NO: 66、SEQ ID NO: 68、SEQ ID NO: 70、SEQ ID NO: 72、SEQ ID NO: 74、SEQ ID NO: 76、SEQ ID NO: 78、SEQ ID NO: 80、SEQ ID NO: 82、SEQ ID NO: 84、SEQ ID NO: 86、SEQ ID NO: 88、SEQ ID NO: 90、SEQ ID NO: 92、SEQ ID NO: 94、SEQ ID NO: 96、SEQ ID NO: 98、SEQ ID NO: 100、SEQ ID NO: 102、SEQ ID NO: 104、SEQ ID NO: 106 或 SEQ ID NO: 108) 及其同源物的序列信息相关联。肽序列中的任何匹配均指示样品中有可能含有同源蛋白。可使用另外的技术 (蛋白纯化和分子生物学) 分离蛋白并鉴定同源物的序列。

[0081] 在杂交方法中, 可使用全部或部分的杀虫核酸序列筛选 cDNA 或基因组文库。此类 cDNA 和基因组文库的构建方法是本领域公知的并且公开于 Sambrook 和 Russell, (2001) (出处同上)。所谓的杂交探针可为基因组 DNA 片段、cDNA 片段、RNA 片段或其它寡核苷酸, 并且可由可检测的基团比如 ^{32}P 或任何其它可检测的标记物, 比如其它放射性同位素、荧光化合物、酶或酶辅因子进行标记。可通过标记基于本文所公开的已知 PtIP-96 多肽编码核酸序列的合成寡核苷酸, 来制备用于杂交的探针。另外还可使用在核酸序列或所编码的氨基酸序列中的保守核苷酸或氨基酸残基的基础上设计的简并引物。该探针通常包含这样的核酸序列区域: 该区域在严格条件下杂交于编码本发明 PtIP-96 多肽的核酸序列或其片段或变体的至少约 12、至少约 25、至少约 50、75、100、125、150、175 或 200 个连续核苷酸。制备用于杂交的探针的方法是本领域公知的并且公开于 Sambrook 和 Russell, (2001) (出处同上), 该文献以引用方式并入本文。

[0082] 例如, 编码本文所公开的 PtIP-96 多肽的整个核酸序列或者其一个或多个部分可用作能够特异性杂交于编码 PtIP-96 多肽样序列的相应核酸序列和信使 RNA 的探针。为实现在多种条件下的特异性杂交, 这类探针包括独特的序列, 并且优选地长为至少约 10 个核苷酸或长为至少约 20 个核苷酸。这种探针可用于通过 PCR 从选定的生物体扩增相应的杀虫序列。这项技术可用于从所需生物体分离另外的编码序列, 或者用作诊断测定法以确定编

码序列在生物体中的存在。杂交技术包括对平板接种的 (plated) DNA文库 (噬菌斑或菌落; 参见例如 Sambrook 等人, (1989) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (2d ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.) (Sambrook 等人, 1989年, 《分子克隆: 实验室手册》, 第 2 版, 冷泉港实验室出版社, 纽约冷泉港) 进行杂交筛选。

[0083] 这类序列的杂交可以在严格条件下进行。“严格条件”或“严格杂交条件”在本文中用来指探针与其靶序列杂交的程度比其与其它序列杂交的程度可检测地更高(例如比背景高至少2倍)的条件。严格条件是序列依赖性的,在不同的情况中将会不同。通过控制杂交和/或洗涤条件的严格性,可以鉴定与探针100%互补的靶序列(同源探测)。或者,可以调整严格性条件以允许序列中的一些错配,从而检测到较低程度的相似性(异源探测)。通常,探针长度小于约1000个核苷酸,优选地长度小于500个核苷酸。

[0084] 蛋白及其变体和片段

[0085] 在另一方面,PtIP-96多肽也被本公开涵盖。如本文可互换使用的“蕨类植物杀昆虫蛋白-96”、“PtIP-96多肽”和“PtIP-96蛋白”是指这样的多肽,其具有杀昆虫活性,包括但不限于对于鳞翅目和/或鞘翅目的一种或多种昆虫害虫的杀昆虫活性,并且其与SEQ ID NO:10的蛋白充分同源。设想了多种PtIP-96多肽。PtIP-96多肽或相关蛋白的来源是蕨类物种或其它原生植物,选自但不限于蕨类植物门的蕨类物种或卷柏属的石松物种。

[0086] “充分同源”在本文中用来指使用本文所述的比对程序之一并采用标准参数与参考序列进行比较时氨基酸序列具有至少约40%、45%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高的序列同源性。在一些实施方案中,序列同源性是针对PtIP-96多肽的全长序列而言的。在一些实施方案中,PtIP-96多肽相较于以下项具有至少约40%、45%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高的序列同一性:SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:26;SEQ ID NO:28;SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:42、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:50、SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:70、SEQ ID NO:72、SEQ ID NO:74、SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:78、SEQ ID NO:80、SEQ ID NO:82、SEQ ID NO:84、SEQ ID NO:86、SEQ ID NO:88、SEQ ID NO:90、SEQ ID NO:92、SEQ ID NO:94、SEQ ID NO:96、SEQ ID NO:98、SEQ ID NO:100、SEQ ID NO:102、SEQ ID NO:104、SEQ ID NO:106或SEQ ID NO:108。本领域技术人员将会认识到,可通过考虑氨基酸相似性等等适当调整这些值以确定蛋白质的相应同源性。在一些实施方案中,序列同一性是使使用采用全部默认参数的Vector NTI[®]程序组(加利福尼亚州卡尔斯巴德的英杰公司(Invitrogen Corporation, Carlsbad, Calif.))的ALIGNX[®]模块

中的 ClustalW算法来计算的。在一些实施方案中,序列同一性是使用采用全部默认参数的 Vector NTI[®] 程序组(加利福尼亚州卡尔斯巴德的英杰公司(Invitrogen Corporation, Carlsbad, Calif.))的 ALIGNX[®] 模块中的 ClustalW 算法跨越多肽的整个长度计算的。

[0087] 如本文所用,术语“蛋白”、“肽分子”或“多肽”包括包含五个或更多个氨基酸的任何分子。本领域熟知的是,蛋白、肽或多肽分子可进行修饰,包括翻译后修饰,比如但不限于二硫键形成、糖基化、磷酸化或寡聚化。因此,如本文所用,术语“蛋白”、“肽分子”或“多肽”包括通过任何生物或非生物过程修饰的任何蛋白。术语“氨基酸”是指所有天然存在的L-氨基酸。

[0088] “重组蛋白”在本文中用来指不再处于其天然环境中,例如处于体外或者处于重组细菌或植物宿主细胞中的蛋白。基本上不含细胞物质的PtIP-96多肽包括具有少于约30%、20%、10%或5%(以干重计)的非杀虫蛋白(本文中也称为“污染性蛋白”)的蛋白制备物。

[0089] “片段”或“生物活性部分”包括包含与PtIP-96多肽充分相同的氨基酸序列并且表现出杀昆虫活性的多肽片段。PtIP-96多肽的“片段”或“生物活性部分”包括包含与如SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:26;SEQ ID NO:28;SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:42、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:50、SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:70、SEQ ID NO:72、SEQ ID NO:74、SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:78、SEQ ID NO:80、SEQ ID NO:82、SEQ ID NO:84、SEQ ID NO:86、SEQ ID NO:88、SEQ ID NO:90、SEQ ID NO:92、SEQ ID NO:94、SEQ ID NO:96、SEQ ID NO:98、SEQ ID NO:100、SEQ ID NO:102、SEQ ID NO:104、SEQ ID NO:106或SEQ ID NO:108中所示的氨基酸序列充分相同的氨基酸序列的片段,其中PtIP-96多肽具有杀昆虫活性。此类生物活性部分可通过重组技术制备并且可评价其杀昆虫活性。在一些实施方案中,PtIP-96多肽片段是例如通过蛋白水解、通过起始密码子的插入、通过编码缺失氨基酸的密码子的缺失同时伴随起始密码子的插入和/或终止密码子的插入,相对于SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:26;SEQ ID NO:28;SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:42、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:50、SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:70、SEQ ID NO:72、SEQ ID NO:74、SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:78、SEQ ID NO:80、SEQ ID NO:82、SEQ ID NO:84、SEQ ID NO:86、SEQ ID NO:88、SEQ ID NO:90、SEQ ID NO:92、SEQ ID NO:94、SEQ ID NO:96、SEQ ID NO:98、SEQ ID NO:100、SEQ ID NO:102、SEQ ID NO:104、SEQ ID NO:106或SEQ ID NO:108从N末端和/或C末端的至少约1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,18,19,20,25,26,27,28,29,30,31,32,33,34个或更多

个氨基酸的N末端和/或 C末端截短。

[0090] 如本文所用,“变体”是指具有与亲本氨基酸序列至少约50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%相同的氨基酸序列的蛋白或多肽。

[0091] PtIP-96多肽

[0092] 在一些实施方案中,PtIP-96多肽包含与以下项的氨基酸序列具有至少 40%、45%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的氨基酸序列: SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:26;SEQ ID NO:28; SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:42、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:50、SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:70、SEQ ID NO:72、SEQ ID NO:74、SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:78、SEQ ID NO:80、SEQ ID NO:82、SEQ ID NO:84、SEQ ID NO:86、SEQ ID NO:88、SEQ ID NO:90、SEQ ID NO:92、SEQ ID NO:94、SEQ ID NO:96、SEQ ID NO:98、SEQ ID NO:100、SEQ ID NO:102、SEQ ID NO:104、SEQ ID NO:106或SEQ ID NO:108,其中PtIP-96多肽具有杀昆虫活性。

[0093] 在一些实施方案中,PtIP-96多肽包含与以下项的氨基酸序列具有至少 40%、45%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的氨基酸序列: SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:22或SEQ ID NO:24,其中PtIP-96多肽具有杀昆虫活性。

[0094] 在一些实施方案中,PtIP-96多肽包含与以下项的氨基酸序列具有至少 40%、45%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的氨基酸序列:SEQ ID NO:26;SEQ ID NO:28; SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:38或SEQ ID NO:40,其中PtIP-96多肽具有杀昆虫活性。

[0095] 在一些实施方案中,PtIP-96多肽包含与以下项的氨基酸序列具有至少 40%、45%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的氨基酸序列: SEQ ID NO:42、SEQ ID NO:44、

SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:50或SEQ ID NO:52,其中PtIP-96多肽具有杀昆虫活性。

[0096] 在一些实施方案中,PtIP-96多肽包含与以下项的氨基酸序列具有至少 40%、45%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的氨基酸序列: SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:70、SEQ ID NO:72、SEQ ID NO:74、SEQ ID NO:82、SEQ ID NO:84、SEQ ID NO:86、SEQ ID NO:88或SEQ ID NO:90,其中PtIP-96多肽具有杀昆虫活性。

[0097] 在一些实施方案中,PtIP-96多肽包含与以下项的氨基酸序列具有至少 40%、45%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的氨基酸序列: SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:78或SEQ ID NO:80,其中PtIP-96多肽具有杀昆虫活性。

[0098] 在一些实施方案中,PtIP-96多肽包含与以下项的氨基酸序列具有至少 40%、45%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的氨基酸序列: SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:70、SEQ ID NO:72、SEQ ID NO:74、SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:78、SEQ ID NO:80、SEQ ID NO:82、SEQ ID NO:84、SEQ ID NO:86、SEQ ID NO:88或SEQ ID NO:90,其中PtIP-96多肽具有杀昆虫活性。

[0099] 在一些实施方案中,PtIP-96多肽包含与以下项的氨基酸序列具有至少 40%、45%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的氨基酸序列: SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:92、SEQ ID NO:94、SEQ ID NO:96、SEQ ID NO:98、SEQ ID NO:100、SEQ ID NO:102、SEQ ID NO:104、SEQ ID NO:106或SEQ ID NO:108,其中PtIP-96多肽具有杀昆虫活性。

[0100] 在一些实施方案中,PtIP-96多肽包含这样的氨基酸序列,其在以下项的氨基酸序列的全长上具有至少约80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性:SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:26;SEQ ID NO:28;SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:38、

SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:42、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:50、SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:70、SEQ ID NO:72、SEQ ID NO:74、SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:78、SEQ ID NO:80、SEQ ID NO:82、SEQ ID NO:84、SEQ ID NO:86、SEQ ID NO:88、SEQ ID NO:90、SEQ ID NO:92、SEQ ID NO:94、SEQ ID NO:96、SEQ ID NO:98、SEQ ID NO:100、SEQ ID NO:102、SEQ ID NO:104、SEQ ID NO:106或SEQ ID NO:108。

[0101] 在一些实施方案中,PtIP-96多肽包含这样的氨基酸序列,其在以下项的氨基酸序列的全长上具有至少约80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性:SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:22或SEQ ID NO:24。

[0102] 在一些实施方案中,PtIP-96多肽包含这样的氨基酸序列,其在以下项的氨基酸序列的全长上具有至少约80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性:SEQ ID NO:26;SEQ ID NO:28;SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:38或SEQ ID NO:40。

[0103] 在一些实施方案中,PtIP-96多肽包含这样的氨基酸序列,其在以下项的氨基酸序列的全长上具有至少约80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性:SEQ ID NO:42、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:50或SEQ ID NO:52。

[0104] 在一些实施方案中,PtIP-96多肽包含这样的氨基酸序列,其在以下项的氨基酸序列的全长上具有至少约80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性:SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:70、SEQ ID NO:72、SEQ ID NO:74、SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:78、SEQ ID NO:80、SEQ ID NO:82、SEQ ID NO:84、SEQ ID NO:86、SEQ ID NO:88或SEQ ID NO:90。

[0105] 在一些实施方案中,PtIP-96多肽包含这样的氨基酸序列,其在以下项的氨基酸序列的全长上具有至少约80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性:SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:70、SEQ ID NO:72、SEQ ID NO:74、SEQ ID NO:82、SEQ ID NO:84、SEQ ID NO:86、SEQ ID NO:88或SEQ ID NO:90。

[0106] 在一些实施方案中,PtIP-96多肽包含这样的氨基酸序列,其在以下项的氨基酸序列的全长上具有至少约80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性:SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:78或SEQ ID NO:80。

[0107] 在一些实施方案中,PtIP-96多肽包含这样的氨基酸序列,其在以下项的氨基酸

序列的全长上具有至少约80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性:SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:92、SEQ ID NO: 94、SEQ ID NO:96、SEQ ID NO:98、SEQ ID NO:100、SEQ ID NO:102、SEQ ID NO:104、SEQ ID NO:106或SEQ ID NO:108。

[0108] 在一些实施方案中,PtIP-96多肽包含SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO: 22、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:26;SEQ ID NO:28;SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:42、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO: 48、SEQ ID NO:50、SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:70、SEQ ID NO:72、SEQ ID NO: 74、SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:78、SEQ ID NO:80、SEQ ID NO:82、SEQ ID NO:84、SEQ ID NO:86、SEQ ID NO:88、SEQ ID NO:90、SEQ ID NO:92、SEQ ID NO:94、SEQ ID NO:96、SEQ ID NO:98、SEQ ID NO: 100、SEQ ID NO:102、SEQ ID NO:104、SEQ ID NO:106或SEQ ID NO: 108的氨基酸序列,其与SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO: 24、SEQ ID NO:26;SEQ ID NO:28;SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:42、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:48、SEQ ID NO: 50、SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:70、SEQ ID NO:72、SEQ ID NO:74、SEQ ID NO: 76、SEQ ID NO:78、SEQ ID NO:80、SEQ ID NO:82、SEQ ID NO:84、SEQ ID NO:86、SEQ ID NO:88、SEQ ID NO:90、SEQ ID NO:92、SEQ ID NO:94、SEQ ID NO:96、SEQ ID NO:98、SEQ ID NO:100、SEQ ID NO:102、SEQ ID NO:104、SEQ ID NO:106或SEQ ID NO:108的多肽的相应位置处的天然氨基酸相比具有1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14, 15,16,17,18,19,20,21,22,23,24,25,26,27,28,29,30,31,32,33,34,35,36, 37,38,39,40,41,42,43,44,45,46,47,48,49,50,51,52,53,54,55,56,57,58, 59,60,61,62,63,64,65,66,67,68,69,70个或更多个氨基酸置换。

[0109] 在一些实施方案中,PtIP-96多肽包含SEQ ID NO:9、SEQ ID NO: 12、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:22或SEQ ID NO:24的氨基酸序列,其与9、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:22或SEQ ID NO:24的多肽的相应位置处的天然氨基酸相比具有1, 2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,18,19,20,21,22,23,24,25, 26,27,28,29,30,31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41,42,43,44,45,46,47, 48,49,50,51,52,53,54,55,56,57,58,59,60,61,62,63,64,65,66,67,68,69, 70个或更多个氨基酸置换。

[0110] 在一些实施方案中,PtIP-96多肽包含SEQ ID NO:26;SEQ ID NO: 28;SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:38或SEQ ID NO:40的氨基酸序列,其与SEQ ID NO:26; SEQ ID NO:28;SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:38或SEQ ID NO:40的多肽的相应位置处的天然氨基酸相比具有1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,18,19,20, 21,22,23,24,25,26,27,28,

29,30,31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41,42, 43,44,45,46,47,48,49,50,51,52,53, 54,55,56,57,58,59,60,61,62,63,64, 65,66,67,68,69,70个或更多个氨基酸置换。

[0111] 在一些实施方案中,PtIP-96多肽包含SEQ ID NO:42、SEQ ID NO: 44、SEQ ID NO: 46、SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:50或SEQ ID NO:52的 氨基酸序列,其与SEQ ID NO:42、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:50或SEQ ID NO:52的多肽的相应位置处的天然氨基酸相比具有1,2,3,4,5,6,7,8,9,10 11、12,13,14,15,16,17,18,19,20, 21,22,23,24,25,26,27,28,29,30,31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41,42, 43,44,45, 46,47,48,49,50,51,52,53,54,55,56,57,58,59,60,61,62,63,64, 65,66,67,68,69,70个或更多个氨基酸置换。

[0112] 在一些实施方案中,PtIP-96多肽包含SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、 SEQ ID NO: 54、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO: 70、SEQ ID NO:72、SEQ ID NO:74、SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:78、 SEQ ID NO:80、SEQ ID NO:82、SEQ ID NO:84、SEQ ID NO:86、SEQ ID NO:88或 SEQ ID NO:90的氨基酸序列,其与SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:54、SEQ ID NO: 56、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO: 60、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:68、 SEQ ID NO:70、SEQ ID NO:72、SEQ ID NO:74、SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:78、SEQ ID NO:80、SEQ ID NO:82、SEQ ID NO:84、SEQ ID NO: 86、SEQ ID NO:88或SEQ ID NO:90的多肽的相应位置处的天然氨基酸相 比具有1,2,3,4,5,6,7,8,9,1011、12,13,14,15,16, 17,18,19,20,21,22, 23,24,25,26,27,28,29,30,31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41, 42,43,44, 45,46,47,48,49,50,51,52,53,54,55,56,57,58,59,60,61,62,63,64,65,66, 67,68,69,70个或更多个氨基酸置换。

[0113] 在一些实施方案中,PtIP-96多肽包含SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、 SEQ ID NO: 54、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO: 70、SEQ ID NO:72、SEQ ID NO:74、SEQ ID NO:82、SEQ ID NO:84、 SEQ ID NO:86、SEQ ID NO:88或SEQ ID NO:90的氨基酸序列,其与 SEQ ID NO: 7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:60、SEQ ID NO: 62、SEQ ID NO:64、SEQ ID NO: 66、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:70、SEQ ID NO:72、SEQ ID NO:74、 SEQ ID NO:82、SEQ ID NO:84、SEQ ID NO:86、SEQ ID NO:88或SEQ ID NO:90的多肽的相应位置处的天然氨基酸相比具有1,2,3,4,5,6,7,8,9, 1011、12,13,14,15,16,17, 18,19,20,21,22,23,24,25,26,27,28,29,30,31, 32,33,34,35,36,37,38,39,40,41,42, 43,44,45,46,47,48,49,50,51,52,53, 54,55,56,57,58,59,60,61,62,63,64,65,66,67, 68,69,70个或更多个氨基酸置换。

[0114] 在一些实施方案中,PtIP-96多肽包含SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:78 或SEQ ID NO:80的氨基酸序列,其与SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:78或 SEQ ID NO:80的多肽的相应位置处的天然氨基酸相比具有1,2,3,4,5,6,7, 8,9,1011、12,13,14,15,16,17,18,19,20, 21,22,23,24,25,26,27,28,29, 30,31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41,42,43,44,45, 46,47,48,49,50,51, 52,53,54,55,56,57,58,59,60,61,62,63,64,65,66,67,68,69,70个或更多 个氨基酸置换。

[0115] 在一些实施方案中,PtIP-96多肽包含SEQ ID NO:10、SEQ ID NO: 92、SEQ ID NO:

94、SEQ ID NO:96、SEQ ID NO:98、SEQ ID NO:100、SEQ ID NO:102、SEQ ID NO:104、SEQ ID NO:106或SEQ ID NO:108的氨基酸序列,其与SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:92、SEQ ID NO:94、SEQ ID NO:96、SEQ ID NO:98、SEQ ID NO:100、SEQ ID NO:102、SEQ ID NO:104、SEQ ID NO:106或SEQ ID NO:108的多肽的相应位置处的天然氨基酸相比具有1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,18,19,20,21,22,23,24,25,26,27,28,29,30,31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41,42,43,44,45,46,47,48,49,50,51,52,53,54,55,56,57,58,59,60,61,62,63,64,65,66,67,68,69,70个或更多个氨基酸置换。

[0116] 在一些实施方案中,序列同一性是使用采用全部默认参数的VectorNTI[®]程序组(Invitrogen Corporation, Carlsbad, Calif.)的ALIGNX[®]模块中的ClustalW算法跨越多肽的整个长度计算的。

[0117] 在一些实施方案中,PtIP-96多肽包含SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:26;SEQ ID NO:28;SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:42、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:50、SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:70、SEQ ID NO:72、SEQ ID NO:74、SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:78、SEQ ID NO:80、SEQ ID NO:82、SEQ ID NO:84、SEQ ID NO:86、SEQ ID NO:88、SEQ ID NO:90、SEQ ID NO:92、SEQ ID NO:94、SEQ ID NO:96、SEQ ID NO:98、SEQ ID NO:100、SEQ ID NO:102、SEQ ID NO:104、SEQ ID NO:106或SEQ ID NO:108的氨基酸序列。

[0118] 在一些实施方案中,PtIP-96多肽包含SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:22或SEQ ID NO:24的氨基酸序列。

[0119] 在一些实施方案中,PtIP-96多肽包含SEQ ID NO:26;SEQ ID NO:28;SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:38或SEQ ID NO:40的氨基酸序列。

[0120] 在一些实施方案中,PtIP-96多肽包含SEQ ID NO:42、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:50或SEQ ID NO:52的氨基酸序列。

[0121] 在一些实施方案中,PtIP-96多肽包含SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:70、SEQ ID NO:72、SEQ ID NO:74、SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:78、SEQ ID NO:80、SEQ ID NO:82、SEQ ID NO:84、SEQ ID NO:86、SEQ ID NO:88或SEQ ID NO:90的氨基酸序列。

[0122] 在一些实施方案中,PtIP-96多肽包含SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:92、SEQ ID NO:94、SEQ ID NO:96、SEQ ID NO:98、SEQ ID NO:100、SEQ ID NO:102、SEQ ID NO:104、SEQ ID NO:106或SEQ ID NO:108的氨基酸序列。

[0123] 杀昆虫蛋白家族的系统发育、序列基序以及结构分析

[0124] 所用序列和结构分析方法由四个组成部分构成:系统发育树构建、蛋白质序列基

序发现、二级结构预测、以及蛋白质序列和二级结构的比对。有关各个组成部分的细节如下所示。

[0125] 1) 系统发育树构建

[0126] 可用软件MEGA5进行系统发育分析。对蛋白质序列进行ClustalW版本2分析(Larkin M.A等人(2007)Bioinformatics 23(21):2947-2948)以进行多个序列比对。然后以基于JTT矩阵的模型为基础,通过最大似然法推断进化史。获得具有最高对数似然比的树,按Newick格式输出,并进一步处理以按照其在树中出现的相同顺序提取序列ID。对于各个杀昆虫蛋白家族,可人工鉴定代表亚家族的几个进化枝。

[0127] 2) 蛋白质序列基序发现

[0128] 根据先前构建的系统发育树对蛋白质序列进行重新排序,并且馈送到基序分析工具MEME(Multiple EM for MOTIF Elicitation)(Bailey T.L.和 Elkan C., Proceedings of the Second International Conference on Intelligent Systems for Molecular Biology,第28-36页,AAAI Press, Menlo Park, California,1994.)来鉴定关键序列基序。如下设置MEME:最小位点数目 2,最小基序宽度5,和最大基序数目30。通过视觉观察来鉴定对各个亚家族独特的序列基序。基序跨越整个基因家族的分布可显示于HTML网页中。相对于各个基序的E-值排序对基序编号。

[0129] 3) 二级结构预测

[0130] 可将PSIPRED即高排序二级结构预测方法(Jones DT.(1999)J.Mol. Biol.292:195-202)安装于本地Linux服务器,并且用于蛋白质二级结构预测。工具采用基于PSI-BLAST输出的两个前馈神经网络来提供准确的结构预测。通过清除Uniref100中低复杂度的跨膜和卷曲螺旋区域来创建PSI-BLAST数据库。PSIPRED结果包含预测的二级结构(α 螺旋:H, β 链:E,以及卷曲:C)和给定蛋白质序列中各个氨基酸的对应置信度得分。

[0131] 4) 蛋白质序列和二级结构的比对

[0132] 开发定制的脚本以根据得自步骤1的所有蛋白质的多重蛋白质序列比对而产生有间隙的二级结构比对。将所有比对的蛋白质序列和结构汇总成单个FASTA文件,然后导入到MEGA中以显示和鉴定保守结构。

[0133] 在一些实施方案中,PtIP-96多肽具有改变的物理性质。如本文所用,术语“物理性质”是指适用于描述蛋白的物理化学特性的任何参数。如本文所用,“所关注的物理性质”和“所关注的性质”可互换使用,是指正研究和/或修饰的蛋白的物理性质。物理性质的示例包括但不限于蛋白表面上的净表面电荷和电荷分布、蛋白表面上的净疏水性和疏水残基分布、表面电荷密度、表面疏水性密度、表面可电离基团的总数、表面张力、蛋白大小及其在溶液中的分布、熔融温度、热容和第二维里系数。物理性质的示例还包括但不限于溶解度、折叠性、稳定性和消化性。在一些实施方案中,PtIP-96多肽具有增强的蛋白水解片段在昆虫肠道中的消化性。由模拟胃液来消化的模型是本领域技术人员已知的(Fuchs, R.L.and J.D.Astwood. Food Technology 50:83-88,1996;Astwood,J.D.等人,Nature Biotechnology 14:1269-1273,1996;Fu TJ等人,J.Agric Food Chem.50:7154-7160,2002)。

[0134] 在一些实施方案中,变体包括因诱变而导致氨基酸序列有差异的多肽。本发明所涵盖的变体蛋白具有生物活性,即它们继续具有天然蛋白质的所需生物活性(即杀虫活

性)。在某个实施方案中,变体将具有天然蛋白的至少约10%、至少约30%、至少约50%、至少约70%、至少约80%或更高的杀昆虫活性。在一些实施方案中,变体可具有相比于天然蛋白改善的活性。

[0135] 细菌基因常常在开放阅读框起点附近具有多个甲硫氨酸起始密码子。通常,在一个或多个这些起始密码子处的翻译起始将导致产生功能蛋白。这些起始密码子可包括ATG密码子。然而,细菌诸如芽孢杆菌物种也将密码子GTG识别为起始密码子,并且在GTG密码子处起始翻译的蛋白在第一位氨基酸处包含甲硫氨酸。在少数情况下,细菌系统中的翻译可在TTG密码子处起始,但在此情形下TTG编码甲硫氨酸。此外,通常不能先验确定这些密码子中的哪些是细菌中天然使用的。因此,应当理解,使用替代甲硫氨酸密码子之一也可导致产生杀虫蛋白。这些杀虫蛋白涵盖于本发明中并且可在本发明的方法中使用。应当理解,当在植物中表达时,为实现正确翻译,有必要将替代起始密码子更改为ATG。

[0136] 在另一个方面,Pt1P-96多肽可被表达为具有间插序列的前体蛋白,所述间插序列催化多步的翻译后蛋白剪接。蛋白剪接涉及从多肽切除间插序列,同时伴随旁侧序列的连接,从而产生新的多肽(Chong等人,(1996) *J. Biol. Chem.*, 271:22159-22168)。该间插序列或蛋白剪接元件称为内含肽,其通过如下三个协调一致的反应在N末端和C末端剪接连接点处催化其自身的切除:N末端半胱氨酸或丝氨酸的酰基重排;两个末端之间的酯交换反应以形成支链酯或硫酯中间体,以及肽键断裂同时伴随内含肽C末端天冬酰胺的环化,使内含肽得以释放(Evans等人,(2000) *J. Biol. Chem.*, 275:9091-9094)。蛋白剪接机制的阐明产生了多种基于内含肽的应用(Comb等人,美国专利No. 5,496,714;Comb等人,美国专利No. 5,834,247;Camarero和Muir,(1999) *J. Amer. Chem. Soc.* 121:5597-5598; Chong等人,(1997) *Gene* 192:271-281;Chong等人,(1998) *Nucleic Acids Res.* 26:5109-5115;Chong等人,(1998) *J. Biol. Chem.* 273:10567-10577; Cotton等人,(1999) *J. Am. Chem. Soc.* 121:1100-1101;Evans等人,(1999) *J. Biol. Chem.* 274:18359-18363;Evans等人,(1999) *J. Biol. Chem.* 274:3923-3926;Evans等人,(1998) *Protein Sci.* 7:2256-2264;Evans等人,(2000) *J. Biol. Chem.* 275:9091-9094;Iwai和Pluckthun,(1999) *FEBS Lett.* 459:166-172;Mathys等人,(1999) *Gene* 231:1-13;Mills等人,(1998) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95:3543-3548;Muir等人,(1998) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95:6705-6710;Otomo等人,(1999) *Biochemistry* 38:16040-16044;Otomo等人,(1999) *J. Biol. Mol. NMR* 14:105-114;Scott等人,(1999) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96:13638-13643;Severinov和Muir,(1998) *J. Biol. Chem.* 273:16205-16209;Shingledecker等人,(1998) *Gene* 207:187-195;Southworth等人,(1998) *EMBO J.* 17:918-926;Southworth等人,(1999) *Biotechniques* 27:110-120;Wood等人,(1999) *Nat. Biotechnol.* 17:889-892;Wu等人,(1998a) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95:9226-9231;Wu等人,(1998b) *Biochim Biophys Acta* 1387:422-432;Xu等人,(1999) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96:388-393;Yamazaki等人,(1998) *J. Am. Chem. Soc.*, 120:5591-5592)。有关内含肽在植物转基因中的应用,参见Yang等人(*Transgene Res* 15:583-593 (2006))和Evans等人(*Annu. Rev. Plant Biol.* 56:375-392 (2005))。

[0137] 在另一个方面,PtIP-96多肽可由两个单独的基因编码,其中前体蛋白的内含肽来自这两个基因,称为断裂型内含肽,并且前体的这两个部分通过肽键形成而连接在一

起。该肽键形成通过内含肽介导的反式剪接而实现。为此,包含这两个单独基因的第一和第二表达盒还编码能够介导蛋白反式剪接的内含肽。通过反式剪接,由第一和第二片段编码的蛋白和多肽可通过肽键形成而连接在一起。反式剪接内含肽可选自包括真核生物、古细菌和真细菌的不同生物体的核仁和细胞器基因组。可使用的内含肽在 neb.com/neb/inteins.html (可使用“www”前缀在万维网上访问) 处列出。编码内含肽的核苷酸序列可断裂成分别编码内含肽5'和3'部分的5'和3'部分。内含肽剪接不需要的序列部分(例如,归巢内切核酸酶结构域)可以缺失。内含肽编码序列断裂成使得5'和3'部分能够反式剪接。为了选择内含肽编码序列的合适断裂位点,可遵循Southworth等人,(1998)EMBO J. 17:918-926公布的考虑因素。在构建第一和第二表达盒中,将5'内含肽编码序列连接至编码PtIP-96多肽的N末端部分的第一片段的3'端,并且将3'内含肽编码序列连接至编码PtIP-96多肽的C末端部分的第二片段的5'端。

[0138] 一般来讲,可使用任何断裂型内含肽(包括任何天然存在的或人工断裂的断裂型内含肽)来设计反式剪接伴侣。已知几种天然存在的断裂型内含肽,例如集胞蓝细菌属种(*Synechocystis* sp.)PCC6803的DnaE基因的断裂型内含肽(参见Wu等人,(1998)Proc Natl Acad Sci USA.95(16):9226-31和Evans等人,(2000)J Biol Chem.275(13):9091-4)和点形念珠藻(*Nostoc punctiforme*)的DnaE基因的断裂型内含肽(参见Iwai等人,(2006)FEBS Lett.580(7):1853-8)。已在实验室人工断裂非断裂型内含肽以形成新断裂型内含肽,例如人工断裂Ssp DnaB内含肽(参见Wu等人,(1998)Biochim Biophys Acta.1387:422-32)和断裂Sce VMA内含肽(参见Brenzel等人,(2006)Biochemistry.45(6):1571-8)和人工断裂真菌微型内含肽(参见Elleuche等人,(2007)Biochem Biophys Res Commun.355(3):830-4)。还存储在编目已知内含肽的可用内含肽数据库(参见例如,在线获得的数据库:bioinformatics.weizmann.ac.il/~pietro/inteins/Inteinstable.html,其可使用“www”前缀在万维网上访问)。

[0139] 天然存在的非断裂型内含肽可具有内切核酸酶或其它酶活性,这些酶活性通常可在设计人工断裂的断裂型内含肽时被移除。此类微型内含肽或最小化的断裂型内含肽是本领域熟知的,并且长度通常少于200个氨基酸残基(参见Wu等人,(1998)Biochim Biophys Acta.1387:422-32)。合适的断裂型内含肽可具有添加至其结构的其它实现纯化的多肽元件,前提条件是此类元件不会抑制断裂型内含肽的剪接或者以允许其在剪接之前被移除的方式添加。已经报道了蛋白质剪接,其使用的蛋白质包含细菌内含肽样(BIL)结构域(参见Amitai等人,(2003)Mol Microbiol.47:61-73)和hedgehog(H0g)自动处理结构域(当称为Hog/内含肽亚家族或HINT家族时,后者与内含肽结合(参见Dassa等人,(2004)J Biol Chem.279:32001-7))和一些结构域例如这些也可用于制备人工断裂内含肽。具体地讲,可通过分子生物学方法修饰此类家族的非剪接成员以在此类相关物质中引入或恢复剪接活性。最近的研究证实,当使N末端断裂型内含肽组分与自然并非作为其“伴侣”存在的C末端断裂型内含肽组分反应时,可观察到剪接。例如,采用与“天然”剪接伴侣具有少至30%至50%同源性的伴侣时,观察到了剪接(参见Dassa等人,(2007)Biochemistry.46(1):322-30)。已表明,相异的断裂型内含肽伴侣的其它此类混合物彼此无反应(参见Brenzel等人,(2006)Biochemistry.45(6):1571-8)。然而,在相关领域技术人员能力范围内的是,使用常规方法且不必运用独创性技术就可确定具体的一对多肽是

否能够彼此相连而提供功能性内含肽。

[0140] 在另一个方面,PtIP-96多肽是环状排列的变体。在某些实施方案中,PtIP-96多肽是SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:26;SEQ ID NO:28;SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:42、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:50、SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:70、SEQ ID NO:72、SEQ ID NO:74、SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:78、SEQ ID NO:80、SEQ ID NO:82、SEQ ID NO:84、SEQ ID NO:86、SEQ ID NO:88、SEQ ID NO:90、SEQ ID NO:92、SEQ ID NO:94、SEQ ID NO:96、SEQ ID NO:98、SEQ ID NO:100、SEQ ID NO:102、SEQ ID NO:104、SEQ ID NO:106或SEQ ID NO:108的多肽的环状排列的变体。

[0141] 重组DNA方法的开发使得可以研究序列转座对蛋白折叠、结构和功能的影响。用于形成新序列的方法类似于天然存在的蛋白对的与其氨基酸序列的线性重构相关的方法(Cunningham等人,(1979)Proc.Natl.Acad.Sci. U.S.A.76:3218-3222;Teather和Erfle,(1990)J.Bacteriol.172:3837-3841;Schimming等人,(1992)Eur.J.Biochem.204:13-19;Yamiuchi和Minamikawa,(1991)FEBS Lett.260:127-130;MacGregor等人,(1996)FEBS Lett.378:263-266)。Goldenberg和Creighton(J.Mol.Biol.165:407-413,1983)描述了该类型重排首次体外应用于蛋白。在形成环状排列的变体中,在初始序列的内部位点(断点)处选择新的N末端,从该断点开始,该新序列具有与初始序列相同顺序的氨基酸,直到其到达处于或接近初始C末端的氨基酸。此时,该新序列直接地或通过序列的另外部分(接头)连接至处于或接近初始N末端的氨基酸,并且该新序列继续采用与初始序列相同的序列,直到其到达处于或接近初始序列断点位点N末端的氨基酸的点,该残基形成该链的新C末端。接头的氨基酸序列长度可根据经验选择或在结构信息指导下选择或通过使用这两种方法的组合选择。当没有可供使用的结构信息时,可使用如下设计来制备小系列的接头以用于测试,该设计的长度是变化的以跨越0至50的范围并且该设计的序列被选择为符合表面暴露(亲水性,Hopp和Woods,(1983)Mol.Immunol.20:483-489;Kyte和Doolittle,(1982)J.Mol.Biol.157:105-132;溶剂暴露的表面积,Lee和Richards,(1971)J.Mol.Biol.55:379-400)和采取所需构象而不扰乱杀虫多肽的构型的能力(构象柔性;Karplus和Schulz,(1985)Naturwissenschaften72:212-213)。假定每个残基平均平移2.0至3.8,这意味着要测试的长度将在0至30个残基之间,其中0至15个残基是优选的范围。此类经验系列的示例将是使用盒序列诸如重复n次(其中n为1、2、3或4)的Gly-Gly-Gly-Ser来构建接头。本领域技术人员将认识到,存在长度或组成有所差别且可用作接头的许多此类序列,首要考虑因素是它们既不能过长也不能太短(参阅Sandhu,(1992)Critical Rev.Biotech.12:437-462);如果它们太长,熵效应可能会破坏三维折叠的稳定性,并且也可能使折叠在动力学上不切实际,并且如果它们太短,它们可能会因为扭转或空间应变而破坏分子的稳定性。蛋白结构信息分析方面的技术人员将认识到,使用链末端之间的距离(限定为c- α 碳之间的距离)可用来限定要使用的序列的长度,或至少用来限制必须在接头经验选择中测试的可能性数量。他们还将认识到,有时情况是这样的:多肽链

的末端的位置在源自X射线衍射或核磁共振波谱数据的结构模型中不明确,并且当事实如此时,该情况将因此需要加以考虑以便正确估计所需接头的长度。从位置明确的 那些残基中选择序列中邻近链末端的两个残基,并且使用其c- α 碳之间的距离计算它们之间的接头的近似长度。然后使用计算的长度作为指导,选择 具有一定范围残基数量(使用每个残基2至3.8 \square 来计算)的接头。这些接头可由初始序列构成,可视需要缩短或延长,并且当延长时,可如上所述 将另外的残基选择为柔性和亲水的;或任选地可使用一系列接头替代初始序列,一个示例是上述的Gly-Gly-Gly-Ser盒方法;或任选地可使用初始序列和具有适当总长度的新序列的组合。能够折叠成生物活性状态的杀虫多肽的序列可通过从初始多肽链内适当选择开始(氨基末端)和结束(羧基末端)位置同时使用如上所述的接头序列来制备。使用下述指南从序列的 共同链段(称为断点区)内选择氨基末端和羧基末端。因此,通过从相同断点区内选择氨基末端和羧基末端,产生了新型氨基酸序列。在许多情况下,新末端的选择将使得羧基末端的初始位置紧接在氨基末端的初始位置之前。然而,本领域技术人员将认识到,在该区域内任何位置处选择末端都可起作用,并且这些将有效地引起新序列的氨基或羧基部分的缺失或添加。分子生物学的核心原则是,蛋白的一级氨基酸序列决定了折叠成表达其生物功能所需的三维结构。使用单一蛋白晶体的X射线衍射或蛋白溶液的核磁共振波谱获得并解读三维结构信息的方法是本领域技术人员已知的。与断点区鉴定相关的结构信息的示例包括蛋白二级结构的定位和类型(α 螺旋和3-10螺旋、平行和反平行 β 折叠、链反转和转角以及环;Kabsch和Sander, (1983) *Biopolymers* 22:2577-2637;氨基酸残基的溶剂暴露程度、残基彼此相互作用的程度和类型(Chothia, (1984) *Ann. Rev. Biochem.* 53:537-572)以及沿着多肽链的构象静态和动态分布(Alber和Mathews, (1987) *Methods Enzymol.* 154:511-533)。在一些情况下,已知关于残基溶剂暴露的另外信息;一个示例是有必要位于蛋白表面上的糖类的翻译后连接位点。当实验结构信息不可用或不可能获得时,也可利用多种方法分析一级氨基酸序列以预测蛋白三级和二级结构、溶剂可及性以及转角和环的出现。当直接结构方法不可行时,生物化学方法有时也可适用于经验地确定表面暴露。例如,在限制性蛋白水解后利用断链位点的鉴定以推断表面暴露(Gentile和Salvatore, (1993) *Eur. J. Biochem.* 218:603-621)。因此,使用实验得出的结构信息或预测方法(例如,Srinivisan和Rose, (1995) *Proteins: Struct., Funct. & Genetics* 22:81-99)检查亲本氨基酸序列以根据它们对于二级和三级结构的维持是否不可或缺而将区域分类。在已知涉及周期性二级结构(α 螺旋和3-10螺旋、平行和反平行 β 折叠)的区域内出现的序列是应当避开的区域。类似地,观察或预测到具有较低程度溶剂暴露的氨基酸序列的区域更可能是蛋白的所谓疏水核的部分,并且对于氨基末端和羧基末端的选择也应当避开。相比之下,已知或经预测在表面转角或环中的那些区域,特别是已知并非生物活性所需的那些区域,是多肽链末端定位的优选位点。基于上述标准所优选的氨基酸序列的连续链段被称为断点区。可基本上按照如下文献中所述的方法制备编码环状排列的PtIP-96多肽的多核苷酸,所述PtIP-96多肽具有包含将初始C末端和N末端分隔开的接头区的新N末端/C末端:Mullins等人, (1994) *J. Am. Chem. Soc.* 116:5529-5533。使用聚合酶链反应(PCR)扩增的多个步骤来重排编码蛋白一级氨基酸序列的DNA序列。可基于如下文献中所述的串联重复方法制备编码环状排列的PtIP-96多肽的多核苷酸,所述PtIP-96多肽具有包含将初始C末端和N末端分隔开的接头区的新N末端/C末端:

Horlick, et al., (1992) Protein Eng. 5:427-431 (Horlick等人, 1992年, 《蛋白质工程》, 第5卷, 第427-431 页)。使用串联重复的模板DNA进行新N末端/C末端基因的聚合酶链反应(PCR)扩增。

[0142] 在另一个方面, 提供了融合蛋白, 所述融合蛋白在其氨基酸序列内包含构成PtIP-96多肽的氨基酸序列, 所述PtIP-96多肽包括但不限于SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:26; SEQ ID NO:28; SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:42、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:50、SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:70、SEQ ID NO:72、SEQ ID NO:74、SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:78、SEQ ID NO:80、SEQ ID NO:82、SEQ ID NO:84、SEQ ID NO:86、SEQ ID NO:88、SEQ ID NO:90、SEQ ID NO:92、SEQ ID NO:94、SEQ ID NO:96、SEQ ID NO:98、SEQ ID NO:100、SEQ ID NO:102、SEQ ID NO:104、SEQ ID NO:106或SEQ ID NO:108的多肽及其活性片段。

[0143] 用于设计和构建融合蛋白(和编码其的多核苷酸)的方法是本领域技术人员已知的。编码PtIP-96多肽的多核苷酸可融合到信号序列, 所述信号序列将引导PtIP-96多肽定位于原核或真核细胞的特定区室和/或引导所述实施方案的PtIP-96多肽从原核或真核细胞分泌。例如, 在大肠杆菌中, 可能希望引导蛋白表达于周质空间。PtIP-96多肽可融合到其上以引导多肽表达于细菌周质空间的信号序列或蛋白(或其片段)的示例包括但不限于pe1B信号序列、麦芽糖结合蛋白(MBP)信号序列MBP、ompA信号序列、周质大肠杆菌不耐热肠毒素B亚基的信号序列以及碱性磷酸酶的信号序列。用于构建将引导蛋白的定位的融合蛋白的若干载体可商购获得, 诸如可购自新英格兰生物实验室(New England Biolabs)的pMAL系列载体(特别是pMAL-p系列)。在具体的实施方案中, PtIP-96多肽可融合到pe1B果胶裂解酶信号序列以增加此类多肽在革兰氏阴性细菌中表达和纯化的效率(参见, 美国专利No.5,576,195和No.5,846,818)。物质体转运肽/多肽融合体是本领域熟知的(参见, 美国专利No.7,193,133)。质外体转运肽诸如水稻或大麦 α -淀粉酶分泌信号也是本领域熟知的。质体转运肽通常融合到要靶向的多肽(例如, 融合伴侣)的N末端。在一个实施方案中, 融合蛋白基本上由质体转运肽和要靶向的PtIP-96多肽组成。在另一个实施方案中, 融合蛋白包含质体转运肽和要靶向的多肽。在此类实施方案中, 质体转运肽优选地位于融合蛋白的N末端。然而, 另外的氨基酸残基可处于质体转运肽的N末端, 前提条件是融合蛋白至少部分地靶向质体。在具体的实施方案中, 质体转运肽处于融合蛋白的N末端一半处、N末端三分之一处或N末端四分之一处。大多数或所有质体转运肽通常在插入质体中后从融合蛋白裂解。由于特定的细胞间状况或所使用的转运肽/融合伴侣的具体组合, 裂解的位置在植物物种之间、在不同植物发育期可略有差别。在一个实施方案中, 质体转运肽裂解是同源的, 使得裂解位点在融合蛋白群中是相同的。在另一个实施方案中, 质体转运肽裂解是非同源的, 使得裂解位点在融合蛋白群中相差1-10个氨基酸。质体转运肽可以若干方法之一重组地融合到第二蛋白。例如, 可将限制性内切核酸酶识别位点引入转运肽的核苷酸序列中对应于其C末端的位置处, 并且可将该位点或相容位点设计在要靶向的

蛋白的核苷酸序列中其N末端处。必须小心设计这些位点 以确保转运肽和第二蛋白的编码序列保持处于“框内”，从而允许所需融合蛋白的合成。在一些情况下，当引入新限制位点时，可能优选的是将第二蛋白的起始子甲硫氨酸密码子移除。两个亲本分子上限制性内切核酸酶 识别位点的引入及其后续通过重组DNA技术进行的连接可导致转运肽与第二蛋白之间添加一个或多个额外的氨基酸。只要转运肽裂解位点保持可触及并且第二蛋白的功能不会受到在其N末端处这些额外氨基酸的添加的影响，这通常不会影响靶向活性。或者，本领域技术人员可使用基因合成 (Stemmer等人, (1995) Gene 164:49-53) 或类似方法在转运肽与第二蛋白 (具有或不具有其起始子甲硫氨酸) 之间形成精确裂解位点。此外，转运肽融合体可有意地在裂解位点下游包含氨基酸。成熟蛋白N末端处的氨基酸可影响转运肽将蛋白靶向质体的能力和/或蛋白输入后裂解的效率。这可 取决于要靶向的蛋白。参见例如Comai等人, (1988) J. Biol. Chem. 263 (29) :15104-9。

[0144] 在一些实施方案中，提供了融合蛋白，所述融合蛋白包含通过氨基酸 接头连接在一起的PtIP-96多肽和杀昆虫多肽。在一些实施方案中，提供了 由选自如下的化学式表示的融合蛋白：

[0145] $R^1-L-R^2, R^2-L-R^1, R^1-R^2$ 或 R^2-R^1

[0146] 其中 R^1 为PtIP-96多肽， R^2 为目的蛋白质。 R^1 多肽直接地或通过接头(L)区 段融合到 R^2 多肽。术语“直接地”限定了多肽在无肽接头的情况下进行连 接的融合。因此，“L”表示 R^1 和 R^2 两者均框内融合到其上的化学键或多 肽区段，最常见的是，L为 R^1 和 R^2 通过酰胺键结合到其上的线性肽，所述 酰胺键将 R^1 的羧基末端连接到L的氨基末端并将L的羧基末端连接到 R^2 的氨基末端。所谓“框内融合”意指 R^1 与 R^2 的阅读框之间没有翻译终止或 中断。连接基团(L)通常为长度介于1与500个氨基酸之间的多肽。连接两 个分子的接头优选地被设计为(1)允许这两个分子独立于彼此折叠和发挥作 用，(2)没有倾向形成可干扰这两个蛋白的功能结构域的有序二级结构，(3) 具有极少可与功能蛋白结构域相互作用的疏水或带电特性，以及(4)提供 R^1 与 R^2 的位阻分离，使得 R^1 和 R^2 可同时与其在单个细胞上的相应受体相 互 作用。通常，柔性蛋白区中的表面氨基酸包括Gly、Asn和Ser。事实上， 包含Gly、Asn和Ser的氨基酸序列的任何排列预计都将满足接头序列的以 上标准。其它中性氨基酸诸如Thr和Ala也可在接头序列中使用。另外的氨 基酸也可包含在接头中，这是由于可在接头序列中添加独特的限制性位点 以有利于构建融合体。

[0147] 在一些实施方案中，接头包含选自下式的序列： $(Gly_3Ser)_n$ ， $(Gly_4Ser)_n$ ， $(Gly_5Ser)_n$ ， $(Gly_nSer)_n$ 或 $(AlaGlySer)_n$ ，其中n为整数。高度柔性 的接头的示例是存在于丝状噬菌体例如噬菌体M13或fd的pIII蛋白内 的富含(GlySer)的间隔区 (Schaller等人, 1975)。该区域提供了pIII表面 蛋白的两个结构域之间较长的柔性间隔区。还包括其中包含肽链内切酶识 别序列的接头。对于分离融合体的各个组分以确定它们在体外是否正 确折 叠并具有活性而言，此类裂解位点可能是有价值的。各种肽链内切酶的示 例包括但不限于纤溶酶、肠激酶、激肽释放酶、尿激酶、组织纤溶酶原激 活物、梭菌蛋白酶、凝乳酶、胶原酶、圆斑蝥蛇毒蛋白酶、脯氨酸后裂解 酶、V8蛋白酶、凝血酶和因子Xa。在一些实施方案中，接头来自于多基 因表达运载体(MGEV)，其由如美国专利申请公布No. US 2007/ 0277263中 所公开的液泡蛋白酶裂解。在其它实施方案中，来自重链免疫球蛋白 IgG、IgA、IgM、IgD或IgE的铰链区的连接肽区段提供所连接的多肽之间 的角度关系。尤其有用的是

半胱氨酸被替代为丝氨酸的那些铰链区。本发明的接头包含源自半胱氨酸已更换为丝氨酸的鼠IgG γ 2b铰链区的序列。融合蛋白不受到所采用的接头序列的形态、大小或数量的限制,并且接头的唯一要求是在功能上其不会不利地干扰融合体的各个分子的折叠和功能。

[0148] 在另一个方面,提供了嵌合PtIP-96多肽,所述PtIP-96多肽通过连接最初编码单独PtIP-96蛋白的PtIP-96基因的两个或更多个部分形成嵌合基因来产生。嵌合基因的翻译得到了具有源自每个初始多肽的区域、基序或结构域的单个嵌合PtIP-96多肽。在某些实施方案中,嵌合蛋白包含任何组合的SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:26; SEQ ID NO:28;SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:42、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:50、SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:70、SEQ ID NO:72、SEQ ID NO:74、SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:78、SEQ ID NO:80、SEQ ID NO:82、SEQ ID NO:84、SEQ ID NO:86、SEQ ID NO:88、SEQ ID NO:90、SEQ ID NO:92、SEQ ID NO:94、SEQ ID NO:96、SEQ ID NO:98、SEQ ID NO:100、SEQ ID NO:102、SEQ ID NO:104、SEQ ID NO:106或SEQ ID NO:108的PtIP-96多肽的部分、基序或结构域。

[0149] 已经认识到,可通过各种方法改变DNA序列,并且这些改变可导致DNA序列编码的蛋白具有与野生型(或天然)杀虫蛋白所编码的氨基酸序列不同的氨基酸序列。在一些实施方案中,PtIP-96多肽可以各种方式进行更改,所述方式包括一个或多个氨基酸的氨基酸置换、缺失、截短和插入,包括与SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:26;SEQ ID NO:28;SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:42、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:50、SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:70、SEQ ID NO:72、SEQ ID NO:74、SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:78、SEQ ID NO:80、SEQ ID NO:82、SEQ ID NO:84、SEQ ID NO:86、SEQ ID NO:88、SEQ ID NO:90、SEQ ID NO:92、SEQ ID NO:94、SEQ ID NO:96、SEQ ID NO:98、SEQ ID NO:100、SEQ ID NO:102、SEQ ID NO:104、SEQ ID NO:106或SEQ ID NO:108中任一项相比最多至2,3,4,5,6,7,8,9,10,15,20,25,30,35,40,45,50,55,60,65,70,75,80,85,90,100,105,110,115,120,125,130,135,140,145个或更多个氨基酸置换、缺失和/或插入或它们的组合。

[0150] 这类操纵的方法是本领域公知的。例如,PtIP-96多肽的氨基酸序列变体可通过在DNA中突变来制备。这也可通过若干形式的诱变之一和/或在定向进化中完成。在一些方面,氨基酸序列中编码的变化基本上不会影响蛋白的功能。这种变体将具有所需的杀虫活性。然而,应当理解,可通过对本发明组合物使用此类技术,使PtIP-96多肽赋予杀虫活性的能力提高。

[0151] 例如,可在一个或多个PtIP-非必需氨基酸残基处进行保守氨基酸置换。“非必

需”氨基酸残基是可从PtIP-96的野生型序列改变而不改变生物活性的残基。“保守氨基酸置换”是氨基酸残基被替代为具有类似侧链的氨基酸残基的氨基酸置换。具有类似侧链的氨基酸残基的家族已在本领域中定义。这些家族包括：具有碱性侧链的氨基酸（例如，赖氨酸、精氨酸、组氨酸）；酸性侧链（例如，天冬氨酸、谷氨酸）；极性、带负电的残基及其酰胺（例如，天冬氨酸、天冬酰胺、谷氨酸、谷氨酰胺）；不带电的极性侧链（例如，甘氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、丝氨酸、苏氨酸、酪氨酸、半胱氨酸）；较小脂族、非极性或非极性的残基（例如，丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、脯氨酸、苯丙氨酸、甲硫氨酸、色氨酸）；较大脂族、非极性的残基（例如，甲硫氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、缬氨酸、胱氨酸）； β -支化的侧链（例如，苏氨酸、缬氨酸、异亮氨酸）；芳族侧链（例如，酪氨酸、苯丙氨酸、色氨酸、组氨酸）；较大芳族侧链（例如，酪氨酸、苯丙氨酸、色氨酸）。

[0152] 氨基酸置换可在保留功能的非保守区中进行。一般来讲，此类置换不会对保守氨基酸残基或对位于保守基序内的氨基酸残基进行，其中此类残基是蛋白活性必需的。保守的且可能是蛋白活性必需的残基的示例包括例如在相似或相关毒素与所述实施方案的序列的比对中所含的所有蛋白之间相同的残基（例如，在同源蛋白的比对中相同的残基）。保守的但可允许保守氨基酸置换且仍然保留活性的残基的示例包括例如在相似或相关毒素与所述实施方案的序列的比对中所含的所有蛋白之间仅具有保守置换的残基（例如，在同源蛋白的比对中所含的所有蛋白之间仅具有保守置换的残基）。然而，本领域技术人员应当理解，功能性变体可能在保守残基中具有微小的保守性或非保守性改变。有关不会影响目的蛋白质的生物活性的适当氨基酸置换的指导可在以下文献所述的模型中找到：Dayhoff等人，(1978) Atlas of Protein Sequence and Structure (Nat'l. Biomed. Res. Found., Washington, D.C.)，将该文献以引用方式并入本文。

[0153] 在进行此类改变时，可考虑氨基酸的亲水性指数。亲水性氨基酸指数在为蛋白赋予相互作用的生物功能方面的重要性是本领域中普遍理解的（Kyte和Doolittle, (1982) J Mol Biol. 157 (1):105-32）。公认的是，氨基酸的相对亲水性特征促成了所得蛋白的二级结构，这继而限定了蛋白与其它分子例如酶、底物、受体、DNA、抗体、抗原等等的相互作用。

[0154] 本领域已知的是，某些氨基酸可被具有类似亲水性指数或评分的其它氨基酸置换，并且仍然产生具有类似生物活性的蛋白，即仍然获得生物功能方面等效的蛋白。基于其疏水性和带电特性为每个氨基酸指定了亲水性指数（Kyte和Doolittle, 同前）。这些是：异亮氨酸(+4.5)；缬氨酸(+4.2)；亮氨酸(+3.8)；苯丙氨酸(+2.8)；半胱氨酸/胱氨酸(+2.5)；甲硫氨酸(+1.9)；丙氨酸(+1.8)；甘氨酸(-0.4)；苏氨酸(-0.7)；丝氨酸(-0.8)；色氨酸(-0.9)；酪氨酸(-1.3)；脯氨酸(-1.6)；组氨酸(-3.2)；谷氨酸(-3.5)；谷氨酰胺(-3.5)；天冬氨酸(-3.5)；天冬酰胺(-3.5)；赖氨酸(-3.9)和精氨酸(-4.5)。在进行此类改变时，亲水性指数在+2内的氨基酸的置换是优选的，亲水性指数在+1内的那些是尤其优选的，并且亲水性指数在+0.5内的那些甚至更是尤其优选的。

[0155] 本领域中还应当理解，可基于亲水性有效地进行类似氨基酸的置换。美国专利No. 4,554,101陈述了如由其相邻氨基酸的亲水性决定的蛋白的最大局部平均亲水性与蛋白的生物性质相关联。

[0156] 如美国专利No. 4,554,101中详述，已为氨基酸残基指定下列亲水性值：精氨酸(+

3.0);赖氨酸(+3.0);天冬氨酸(+3.0.±0.1);谷氨酸(+3.0.± 0.1);丝氨酸(+0.3);天冬酰胺(+0.2);谷氨酰胺(+0.2);甘氨酸(0);苏氨酸(-0.4);脯氨酸(-0.5.±0.1);丙氨酸(-0.5);组氨酸(-0.5);半胱氨酸(-1.0);甲硫氨酸(-1.3);缬氨酸(-1.5);亮氨酸(-1.8);异亮氨酸(-1.8);酪氨酸(- 2.3);苯丙氨酸(-2.5);色氨酸(-3.4)。

[0157] 或者,可对许多蛋白的蛋白序列在氨基末端或羧基末端进行改变,而基本上不影响活性。这可包括通过现代分子方法引入的插入、缺失或改变,所述现代分子方法比如PCR,包括通过使PCR扩增中采用的寡核苷酸中包含氨基酸编码序列而改变或延长蛋白编码序列的PCR扩增。或者,所添加的蛋白序列可包括全部蛋白编码序列,比如本领域通常用于产生蛋白融合体的那些。此类融合蛋白通常用于(1)增加目的蛋白质的表达,(2)引入结合域、酶活性或表位以有利于蛋白纯化、蛋白检测或本领域已知的其它实验用途,(3)使蛋白的分泌或翻译靶向亚细胞细胞器,比如革兰氏阴性细菌的细胞周质间隙、植物的线粒体或叶绿体或者真核细胞的内质网,后者常常导致蛋白的糖基化。

[0158] 本发明的变体核苷酸和氨基酸序列还涵盖源自诱变和引起重组的程序(比如DNA改组)的序列。采用此类程序时,一个或多个不同PtIP-96多肽编码区可用于形成具有所需性质的新PtIP-96多肽。以此方式,从一组相关的多核苷酸序列产生重组多核苷酸的文库,所述相关的多核苷酸序列包含具有实质的序列同一性且可以在体外或体内同源重组的序列区域。例如,使用该方法,可将编码所关注结构域的序列基序在杀虫基因和其它已知的杀虫基因之间进行改组,以获得编码具有改善的所关注性质(比如提高的杀昆虫活性)的蛋白质的新基因。这种DNA改组的策略是本领域已知的。参见,例如,Stemmer(1994) Proc.Natl.Acad.Sci.USA 91:10747- 10751;Stemmer,(1994) Nature 370:389-391;Cramer等人,(1997) Nature Biotech.15:436-438;Moore等人,(1997) J.Mol.Biol.272:336-347;Zhang 等人,(1997) Proc.Natl.Acad.Sci.USA 94:4504-4509;Cramer等人,(1998) Nature 391:288-291;以及美国专利No.5,605,793和5,837,458。

[0159] 结构域交换或改组是用于产生改变的PtIP-96多肽的另一种机制。结构域可在PtIP-96多肽之间进行交换,从而产生具有改善的杀昆虫活性或目标谱的杂合或嵌合毒素。用于产生重组蛋白并测试其杀昆虫活性的方法是本领域熟知的(参见,例如Naimov等人,(2001) Appl.Environ.Microbiol. 67:5328-5330;de Maagd等人,(1996) Appl.Environ.Micrabiol.62:1537- 1543;Ge等人,(1991) J.Biol.Chem.266:17954-17958;Schnepf等人,(1990) J.Biol.Chem.265:20923-20930;Rang等人,(1999) Appl.Environ. Microbiol.65:2918-2925)。

[0160] PtIP-96同源物的比对(图1)允许鉴定该家族中天然同源物中高度保守的残基。

[0161] 组合物

[0162] 还涵盖了包含本公开PtIP-96多肽的组合物。在一些实施方案中,组合物包含SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO: 26;SEQ ID NO:28;SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:42、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:50、SEQ ID NO: 52、SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:70、SEQ ID NO:

72、SEQ ID NO:74、SEQ ID NO:76、SEQ ID NO: 78、SEQ ID NO:80、SEQ ID NO:82、SEQ ID NO:84、SEQ ID NO:86、SEQ ID NO:88、SEQ ID NO:90、SEQ ID NO:92、SEQ ID NO:94、SEQ ID NO:96、SEQ ID NO:98、SEQ ID NO:100、SEQ ID NO:102、SEQ ID NO:104、SEQ ID NO:106或SEQ ID NO:108的PtIP-96多肽。在一些实施方案中,组合物包含PtIP-96融合蛋白。

[0163] 抗体

[0164] 还涵盖针对实施方案的PtIP-96多肽或者针对其变体或片段的抗体。本发明的抗体包括多克隆和单克隆抗体以及它们的片断,所述片断保留了其与存在于昆虫肠道中的PtIP-96多肽结合的能力。抗体、单克隆抗体或其片段如果能够与分子发生特异性反应从而使该分子结合于该抗体、单克隆抗体或其片段,则被认为能够结合该分子。术语“抗体”(Ab)或“单克隆抗体”(Mab)意在包括能够结合半抗原的完整分子及其片段或结合区或结构域(比如,Fab和F(ab)₂片段)。此类片段通常由蛋白水解裂解(比如木瓜蛋白酶或胃蛋白酶)产生。或者,半抗原结合片段可通过应用重组DNA技术或通过合成化学产生。用于制备本发明抗体的方法是本领域公知的。例如参见Antibodies, A Laboratory Manual, Ed Harlow and David Lane (eds.) Cold Spring Harbor Laboratory, N.Y. (1988) (《抗体:实验室手册》, Ed Harlow和David Lane编辑,纽约冷泉港实验室,1988年)以及其中引用的参考文献。说明免疫学一般原理的标准参考著作包括:Klein, J. Immunology: The Science of Cell-Noncell Discrimination, John Wiley & Sons, N.Y. (1982); Dennett等人, Monoclonal Antibodies, Hybridoma: A New Dimension in Biological Analyses, Plenum Press, N.Y. (1980) 以及Campbell, “Monoclonal Antibody Technology,” 载于Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology, 第13卷, Burdon等人(编辑) Elsevier, Amsterdam (1984)。还可参见美国专利No. 4,196,265; 4,609,893; 4,713,325; 4,714,681; 4,716,111; 4,716,117和4,720,459。PtIP-96多肽抗体或其抗原结合部分可通过多种技术产生,包括常规的单克隆抗体方法,例如Kohler and Milstein, (1975) Nature 256:495 (Kohler和Milstein, 1975年,《自然》,第256卷,第495页)的标准体细胞杂交技术。也可采用用于产生单克隆抗体的其它技术,比如B淋巴细胞的病毒转化或致癌性转化。用于制备杂交瘤的动物系统是鼠系统。用于分离供融合用的免疫脾细胞的免疫方案和技术是本领域已知的。融合伴侣(例如,鼠骨髓瘤细胞)和融合程序也是已知的。本发明的抗体和单克隆抗体可通过将PtIP-96多肽用作抗原来制备。

[0165] 提供了用于检测PtIP-96多肽的存在或检测样品中编码PtIP-96多肽的核苷酸序列的存在的试剂盒。在一个实施方案中,该试剂盒提供了基于抗体的试剂以用于检测组织样品中PtIP-96多肽的存在。在另一个实施方案中,该试剂盒提供了可用于检测编码PtIP-96多肽的一个或多个多核苷酸的存在标记核酸探针。该试剂盒连同执行检测方法的适当试剂和对照以及试剂盒使用说明一起提供。

[0166] 受体鉴定和分离

[0167] 还涵盖针对实施方案的PtIP-96多肽或者针对其变体或片段的受体。用于鉴定受体的方法是本领域熟知的(参见, Hofmann等人, (1988) Eur. J. Biochem. 173:85-91; Gill等人, (1995) J. Biol. Chem. 272:77-27282), 可用于利用来自易感昆虫的刷状缘膜囊鉴定并分离识别PtIP-96多肽的受体。除了所引用的文献中列出的放射性标记方法以外, PtIP-96多肽还可用荧光染料和其它常见标签诸如链霉亲和素进行标记。易感昆虫诸如大豆尺蠖和

椿象的刷状缘膜囊(BBMV)可根据参考文献中列出的方案制备,并且在SDS-PAGE凝胶上分离,并印迹在合适的膜上。可将标记的PtIP-96多肽与BBMV的印迹膜一起温育,并用标记的报告基因鉴定标记的PtIP-96多肽。可通过N末端氨基酸气相测序或基于质谱的蛋白鉴定方法检测与PtIP-96多肽相互作用的蛋白条带的身份(Patterson, (1998) 10.22, 1-24, Current Protocol in Molecular Biology, 由John Wiley&Son Inc出版)。一旦已鉴定蛋白,就可从易感昆虫的基因组DNA或cDNA文库克隆相应基因,并且可直接用PtIP-96多肽测量结合亲和力。与PtIP-96多肽作用而表现杀昆虫活性的受体功能可通过RNAi类型的基因敲除方法完成验证(Rajagopal等人, (2002) J. Biol. Chem. 277:46849-46851)。

[0168] 核苷酸构建体、表达盒和载体

[0169] 本文中术语“核苷酸构建体”的使用无意于将所述实施方案局限于包含DNA的核苷酸构建体。本领域普通技术人员将认识到,核苷酸构建体,特别是由核糖核苷酸以及核糖核苷酸和脱氧核糖核苷酸的组合构成的多核苷酸和寡核苷酸,也可应用于本文公开的方法中。所述实施方案的核苷酸构建体、核酸和核苷酸序列另外涵盖这类构建体、分子和序列的所有互补形式。此外,所述实施方案的核苷酸构建体、核苷酸分子和核苷酸序列涵盖可在本发明实施方案的方法中采用以转化植物的所有核苷酸构建体、分子和序列,包括但不限于那些由脱氧核糖核苷酸、核糖核苷酸以及它们的组合所构成的核苷酸构建体、分子和序列。这种脱氧核糖核苷酸和核糖核苷酸既包括天然存在的分子,也包括合成的类似物。所述实施方案的核苷酸构建体、核酸和核苷酸序列还涵盖所有形式的核苷酸构建体,包括但不限于单链形式、双链形式、发夹结构、茎-环结构等。

[0170] 另一个实施方案涉及转化的生物体,如选自植物和昆虫细胞、细菌、酵母、杆状病毒、原生动物、线虫和藻类的生物体。转化的生物体包含所述实施方案的DNA分子、含所述DNA分子的表达盒或者含所述表达盒的载体,它们可稳定掺入到转化的生物体的基因组中。

[0171] 所述实施方案的序列在DNA构建体中提供以用于在所关注生物体中表达。该构建体将包括可操作地连接至本发明实施方案的序列的5'和3'调控序列。本文所用的术语“可操作地连接”指启动子与第二序列之间的功能性连接,其中启动子序列起始并介导与第二序列对应的DNA序列的转录。一般来讲,可操作地连接意指被连接的核酸序列是连续的,并且如果有必要连接两个蛋白质编码区的话,是在相同的阅读框内。该构建体可另外含有至少一个待共转化到该生物体中的额外基因。或者,所述额外基因可在多个DNA构建体上提供。

[0172] 这种DNA构建体提供有多个限制性位点,以使PtIP-96多肽基因序列的插入处于调控区的转录调控之下。DNA构建体可另外含有选择性标记基因。

[0173] 该DNA构建体在5'至3'转录方向上通常将包含:转录和翻译起始区(即,启动子)、本发明实施方案的DNA序列、和在充当宿主的生物体中具有功能的转录和翻译终止区(即终止区)。所述转录起始区(即启动子)相对于宿主生物体和/或相对于本发明实施方案的序列可以是天然的、类似的、外来的或者异源的。另外,该启动子可以是天然序列或另选地是合成序列。如本文所用的术语“外来的”表示启动子在引入该启动子的天然生物体中不存在。如果启动子相对于本发明实施方案的序列是“外来的”或者“异源的”,则意指该启动子不是所可操作地连接的本发明实施方案的序列的天然或天然存在的启动子。本文所用

的嵌合基因包含可操作地连接至转录起始区的编码序列,该转录起始区对于该编码序列是异源的。如果启动子是天然或自然的序列,则可操作地连接的序列的表达相比野生型表达被改变,这导致表型改变。

[0174] 在一些实施方案中,DNA构建体还可包含转录增强子序列。如本文所用,术语“增强子”是指这样的DNA序列,所述DNA序列可以刺激启动子活性,并且可以是启动子的固有元件或经插入以增强启动子的水平或组织特异性的异源元件。各种增强子是本领域已知的,包括例如,植物中具有基因表达增强性质的内含子(美国专利申请公布No.2009/0144863,泛素内含子(即,玉蜀黍泛素内含子1(参见例如,NCBI序列S94464))、omega增强子或omega prime增强子(Gallie等人,(1989)Molecular Biology of RNA,Cech编辑(Liss,New York)237-256和Gallie等人,(1987)Gene 60:217-25)、CaMV 35S增强子(参见例如,Benfey等人,(1990)EMBO J. 9:1685-96),并且也可使用美国专利No.7,803,992的增强子,各个文献以引入方式并入本文。上面关于转录增强子的列表并不意指是限制性的。任何适当的转录增强子都可用于所述实施方案。

[0175] 终止区对于转录起始区而言可以是天然的,对于可操作地连接的目的DNA序列而言可以是天然的,对于植物宿主而言可以是天然的,或者可以源自另一来源(即对于该启动子、目的序列、植物宿主或者它们的任何组合而言是外来的或异源的)。

[0176] 易得的终止区可获自根瘤农杆菌(*A. tumefaciens*)的Ti质粒,比如章鱼碱合酶和胭脂碱合酶终止区。另参见Guerineau等人,(1991)Mol.Gen. Genet.262:141-144; Proudfoot,(1991)Cell64:671-674;Sanfacon等人,(1991)Genes Dev.5:141-149;Mogen等人,(1990)Plant Cell2:1261-1272; Munroe等人,(1990)Gene 91:151-158;Ballas等人,(1989)Nucleic Acids Res.17:7891-7903以及Joshi等人,(1987)Nucleic Acid Res.15:9627-9639。

[0177] 如适当,可将核酸进行优化以提高其在宿主生物体中的表达。因此,如果该宿主生物体是植物,则可用植物偏好的密码子合成出合成的核酸以改进表达。有关宿主偏好的密码子用法的讨论,参见例如Campbell和Gowri,(1990)Plant Physiol.92:1-11。例如,尽管本发明实施方案的核酸序列在单子叶植物物种和双子叶植物物种两者中都可表达,但可对序列进行修饰以解决单子叶植物或双子叶植物的特定密码子偏好性和GC含量偏好性,因为这些偏好性已被证实是不同的(Murray等人,(1989)Nucleic Acids Res.17:477-498)。因此,特定氨基酸的玉蜀黍偏好密码子可由来自玉蜀黍的已知基因序列得出。关于来自玉蜀黍植物的28种基因的玉蜀黍密码子的用法在Murray等人(出处同上)的表4中列出。合成植物偏好基因的方法是本领域现成的。参见例如美国专利No.5,380,831和5,436,391以及Murray等人,(1989)Nucleic Acids Res.17:477-498以及Liu H等人,Mol Bio Rep 37:677-684,2010,其均以引用的方式并入本文。玉蜀黍(*Zea maize*)密码子用法表也可见于kazusa.or.jp/codon/cgi-bin/showcodon.cgi?species=4577(可使用www前缀访问)。

[0178] 大豆(*Glycine max*)密码子用法表在表4中示出并且也可见于kazusa.or.jp/codon/cgi-bin/showcodon.cgi?species=3847&aa=1&style=N(可使用www前缀访问)。

[0179] 在一些实施方案中,编码PtIP-96多肽的重组核酸分子具有玉蜀黍优化密码子。

[0180] 已知有另外的序列修饰能增强细胞宿主中的基因表达。这些包括消除以下序列:

编码假多聚腺苷酸化信号、外显子-内含子剪接位点信号的序列、转座子样重复序列以及其它得到充分表征的可能对基因表达有害的序列。可将序列的GC含量调整至给定细胞宿主的平均水平,这通过参考在宿主细胞中表达的已知基因计算得到。如本文所用的术语“宿主细胞”指含有载体并支持该表达载体的复制和/或表达的细胞。宿主细胞可以是原核细胞如大肠杆菌(*E. coli*)或者真核细胞如酵母、昆虫、两栖动物或者哺乳动物细胞,或者单子叶或者双子叶植物细胞。单子叶植物宿主细胞的一个示例是玉蜀黍宿主细胞。当可能时,修饰序列以避免可预见的发夹二级mRNA结构。

[0181] 表达盒可以另外含有5'前导序列。此类前导序列可以起到增强翻译的作用。翻译前导序列是本领域已知的,并包括:小核糖核酸病毒前导序列,例如EMCV前导序列(脑心肌炎5'非编码区)(Elroy-Stein等人,(1989)Proc.Natl.Acad.Sci.USA 86:6126-6130);马铃薯Y病毒组前导序列,例如,TEV前导序列(烟草蚀纹病毒)(Gallie等人,(1995)Gene 165(2):233-238)、MDMV前导序列(玉蜀黍矮花叶病毒)、人免疫球蛋白重链结合蛋白(BiP)(Macejak等人,(1991)Nature 353:90-94);来自苜蓿花叶病毒的外壳蛋白mRNA(AMV RNA 4)的非翻译前导序列(Jobling等人,(1987)Nature 325:622-625);烟草花叶病毒前导序列(TMV)(Gallie等人,(1989)载于Molecular Biology of RNA,Cech编辑(Liss,New York),第237-256页)以及玉蜀黍褪绿斑驳病毒前导序列(MCMV)(Lommel等人,(1991)Virology 81:382-385)。另参见Della-Cioppa等人(1987)Plant Physiol. 84:965-968。此类构建体也可包含“信号序列”或“前导序列”以有利于肽共翻译转运或翻译后转运到特定细胞内结构,诸如叶绿体(或其它质体)、内质网或高尔基体。

[0182] 如本文所用的“信号序列”是指已知或疑似引起跨越细胞膜的共翻译肽转运或翻译后肽转运的序列。在真核生物中,这通常涉及分泌到高尔基体中,产生一定程度的糖基化。细菌的杀昆虫毒素通常被合成为原毒素,其在靶标害虫的肠道中通过蛋白水解活化(Chang,(1987)Methods Enzymol. 153:507-516)。在一些实施方案中,信号序列位于天然序列内,或者可以来源于所述实施方案的序列。如本文所用的“前导序列”是指任意序列,当该序列被翻译时,其产生的氨基酸序列足以触发肽链共翻译转运到亚细胞细胞器。因此,这包括通过进入内质网、穿过液泡、质体(包括叶绿体)、线粒体等而靶向转运和/或糖基化的前导序列。靶向叶绿体类囊体内腔区室的细胞核编码蛋白质具有特征性的二连转运肽(bipartite transit peptide),其由基质靶向信号肽和内腔靶向信号肽构成。基质靶向信息位于该转运肽的氨基近端部分。内腔靶向信号肽位于该转运肽的羧基近端部分,其含有靶向内腔的所有信息。近年来高等植物叶绿体的蛋白质组学研究成功鉴定了许多细胞核编码的内腔蛋白质(Kieselbach等人,FEBS LETT 480:271-276,2000;Peltier等人,Plant Cell 12:319-341,2000;Bricker等人,Biochim.Biophys Acta 1503:350-356,2001),其内腔靶向信号肽存在依本发明使用的潜能。Kieselbach等人,Photosynthesis Research,78:249-264,2003报道了来自拟南芥(*Arabidopsis*)的约80种蛋白质以及菠菜和豌豆的同源蛋白质。具体地讲,在此以引用方式并入本说明书中的该出版物的表2公开了其登录号标识的来自叶绿体内腔的85种蛋白质(还可参见美国专利申请公布2009/09044298)。此外,近来发表的水稻基因组草图(Goff等人,Science 296:92-100,2002)是可根据本发明使用的内腔靶向信号肽的合适来源。

[0183] 合适的叶绿体转运肽(CTP)是本领域技术人员熟知的,也包括嵌合CTP,所述嵌合

CTP包含但不限于来自如下酶的CTP的N末端结构域、中央结构域或C末端结构域：水稻 (*Oryza sativa*) 1-脱氧-D-木酮糖-5-磷酸合酶、水稻过氧化物歧化酶、水稻可溶性淀粉合酶、水稻NADP依赖型苹果酸酶、水稻磷酸-2-脱氢-3-脱氧庚糖酸醛缩酶2、水稻L-抗坏血酸过氧化物酶5、水稻磷酸葡聚糖水二激酶、玉米 (*Zea Mays*) ssRUBISCO、玉米 β -葡萄糖苷酶、玉米苹果酸脱氢酶、玉米M型硫氧还蛋白(美国专利申请公布 2012/0304336)。

[0184] 要靶向叶绿体的PtIP-96多肽基因可优化用于在叶绿体中表达以考虑植物细胞核与该细胞器之间的密码子用法的差异。这样,可使用叶绿体偏好的密码子合成目的核酸。参见例如,美国专利No.5,380,831,其以引用方式并入本文。

[0185] 在制备表达盒时,可对多个DNA片段进行操纵,以提供处于正确取向的DNA序列,且适当时提供处于正确的阅读框的DNA序列。为此目的,可应用衔接子或接头将DNA片段连接在一起,或者可涉及其它的操纵以提供便利的限制性位点、移除多余的DNA、移除限制性位点等。出于这个目的,可能涉及体外诱变、引物修复、限制性酶切、退火、再置换(例如转换和颠换)。

[0186] 有多种启动子可用于本发明实施方案的实践中。可根据期望的结果来选择启动子。可将核酸与组成型启动子、组织优选的启动子、诱导型启动子或其它启动子进行组合,以在宿主生物体中表达。适用于植物宿主细胞的组成型启动子包括例如WO 1999/43838和美国专利No.6,072,050中公开的Rsyn7启动子和其它组成型启动子的核心启动子;核心CaMV 35S启动子(Odell等人,(1985) *Nature* 313:810-812);水稻肌动蛋白(McElroy等人,(1990) *Plant Cell* 2:163-171);遍在蛋白(Christensen等人,(1989) *Plant Mol. Biol.* 12:619-632以及Christensen等人,(1992) *Plant Mol. Biol.* 18:675-689);pEMU (Last等人,(1991) *Theor. Appl. Genet.* 81:581-588);MAS (Velten等人,(1984) *EMBO J.* 3:2723-2730);ALS启动子(美国专利No.5,659,026)等等。其它的组成型启动子包括例如以下专利讨论的那些:美国专利No.5,608,149;5,608,144;5,604,121;5,569,597;5,466,785;5,399,680;5,268,463;5,608,142和6,177,611。

[0187] 取决于所需的结果,从诱导型启动子表达基因可能是有利的。对于调控本发明实施方案的核苷酸序列在植物中的表达特别有意义的是损伤诱导型启动子。这种损伤诱导型启动子可响应昆虫取食所引起的损害,包括马铃薯蛋白酶抑制剂(pin II)基因(Ryan (1990) *Ann. Rev. Phytopath.* 28:425-449;Duan等人,(1996) *Nature Biotechnology* 14:494-498);wun1和wun2(美国专利No.5,428,148);win1和win2(Stanford等人,(1989) *Mol. Gen. Genet.* 215:200-208);系统素(McGurl等人,(1992) *Science* 225:1570-1573);WIP1(Rohmeier等人,(1993) *Plant Mol. Biol.* 22:783-792;Eckelkamp等人,(1993) *FEBS Letters* 323:73-76);MPI基因(Corderok等人,(1994) *Plant J.* 6(2):141-150)等等,这些文献以引用方式并入本文。

[0188] 另外,病原体诱导型启动子可在所述实施方案的方法和核苷酸构建体中使用。这种病原体诱导型启动子包括那些来自致病相关蛋白(PR蛋白)的在被病原体感染后被诱导的启动子;例如,PR蛋白、SAR蛋白、 β -1,3-葡聚糖酶、几丁质酶等。参见例如Redolfi等人,(1983) *Neth. J. Plant Pathol.* 89:245-254;Uknes等人,(1992) *Plant Cell* 4:645-656以及Van Loon,(1985) *Plant Mol. Virol.* 4:111-116。还可参见WO 1999/43819,该专利以引用的方式并入本文。

[0189] 在病原体感染位点处或附近局部表达的启动子值得关注。参见例如, Marineau等人, (1987) *Plant Mol. Biol.* 9:335-342; Matton等人, (1989) *Molecular Plant-Microbe Interactions* 2:325-331; Somsisch等人, (1986) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 83:2427-2430; Somsisch等人, (1988) *Mol. Gen. Genet.* 2:93-98以及Yang, (1996) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93:14972-14977。还可参见Chen等人, (1996) *Plant J.* 10:955-966; Zhang等人, (1994) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91:2507-2511; Warner等人, (1993) *Plant J.* 3:191-201; Siebertz等人, (1989) *Plant Cell* 1:961-968; 美国专利No. 5,750,386(线虫诱导型)以及其中引用的参考文献。特别值得关注的是玉蜀黍PRms基因的诱导型启动子,其表达由病原体串珠镰刀菌(*Fusarium moniliforme*)诱导(参见例如, Cordero等人(1992) *Physiol. Mol. Plant Path.* (《生理与分子植物病理学》) 41:189-200)。

[0190] 可通过施加外源化学调节剂将化学调控启动子用于调节基因在植物中的表达。取决于目标,启动子可以是化学诱导型启动子,其中施用化学物质可诱导基因表达,或者是化学阻抑型启动子,其中施用化学物质可抑制基因表达。化学诱导型启动子是本领域已知的,包括但不限于玉蜀黍In2-2启动子(其通过苯磺酰胺除草剂安全剂活化)、玉蜀黍GST启动子(其通过用作芽前除草剂的疏水性亲电化合物活化)和烟草PR-1a启动子(其通过水杨酸活化)。其它所关注的化学调控启动子包括(参见,例如,糖皮质激素诱导型启动子,载于Sчена等人, (1991) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88:10421-10425和McNellis等人, (1998) *Plant J.* 14(2):247-257)和四环素诱导型和四环素阻抑型启动子(参见,例如, Gatz等人, (1991) *Mol. Gen. Genet.* 227:229-237以及美国专利No. 5,814,618和5,789,156),这些文献和专利以引用的方式并入本文。

[0191] 组织优选的启动子可用来使增强的PtIP-96多肽表达靶向于特定的植物组织内。组织优选的启动子包括以下文献中描述的那些启动子: Yamamoto等人, (1997) *Plant J.* 12(2):255-265; Kawamata等人, (1997) *Plant Cell Physiol.* 38(7):792-803; Hansen等人, (1997) *Mol. Gen. Genet.* 254(3):337-343; Russell等人, (1997) *Transgenic Res.* 6(2):157-168; Rinehart等人, (1996) *Plant Physiol.* 112(3):1331-1341; Van Camp等人, (1996) *Plant Physiol.* 112(2):525-535; Canevascini等人, (1996) *Plant Physiol.* 112(2):513-524; Yamamoto等人, (1994) *Plant Cell Physiol.* 35(5):773-778; Lam, (1994) *Results Probl. Cell Differ.* 20:181-196; Orozco等人, (1993) *Plant Mol Biol.* 23(6):1129-1138; Matsuoka等人, (1993) *Proc Natl. Acad. Sci. USA* 90(20):9586-9590以及Guevara-Garcia等人, (1993) *Plant J.* 4(3):495-505。如有必要,可对此类启动子进行修饰,以便弱化表达。

[0192] 叶优选的启动子是本领域已知的。参见例如, Yamamoto等人, (1997) *Plant J.* 12(2):255-265; Kwon等人, (1994) *Plant Physiol.* 105:357-67; Yamamoto等人, (1994) *Plant Cell Physiol.* 35(5):773-778; Gotor等人, (1993) *Plant J.* 3:509-18; Orozco等人, (1993) *Plant Mol. Biol.* 23(6):1129-1138以及Matsuoka等人, (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90(20):9586-9590。

[0193] 根优选的启动子或者根特异性启动子是已知的,可选自许多可从文献得到的启动子,或者从各种相容的物种从头(*de novo*)分离。参见例如, Hire等人, (1992) *Plant Mol. Biol.* 20(2):207-218(大豆根特异性谷氨酰胺合成酶基因); Keller和Baumgartner,

(1991) *Plant Cell* 3(10):1051-1061 (法国 菜豆的GRP 1.8基因中的根特异性控制元件); Sanger等人, (1990) *Plant Mol. Biol.* 14(3):433-443 (根瘤农杆菌的甘露氨酸合酶(MAS)基因的根特异性启动子); 和Miao等人, (1991) *Plant Cell* 3(1):11-22 (编码胞质谷氨酰胺合成酶(GS)的全长cDNA克隆, 该酶在大豆的根和根瘤中表达)。另参见Bogusz等人(1990) *Plant Cell* 2(7):633-641, 其中描述了从来自固氮非豆科植物榆科山黄麻(*Parasponia andersonii*)和相关的非固氮非豆科植物鸡屎藤山麻黄(*Trema tomentosa*)的血红蛋白基因分离的两个根特异性启动子。将这些基因的启动子连接至 β -葡糖醛酸酶报告基因并引入非豆科植物烟草(*Nicotiana tabacum*)和豆科植物百脉根(*Lotus corniculatus*)二者中, 在这两种情况中根特异性启动子活性得以保持。Leach和Aoyagi(1991)描述了他们对毛根农杆菌(*Agrobacterium rhizogenes*)的高度表达的rolC和rolD根诱导基因的启动子的分析(参见*Plant Science (Limerick)* 79(1):69-76)。他们得出结论认为, 增强子和组织优选的DNA决定子在某些启动子中是分离的。Teeri等人(1989)使用与lacZ的基因融合表明, 编码章鱼碱合酶的农杆菌T-DNA基因在根尖的表皮中特别活跃, 且TR2'基因在完整植物中是根特异性的并且通过叶组织中的创伤刺激, 这是与杀昆虫或杀幼虫基因一起使用的特别理想的特性组合(参见*EMBO J.* 8(2):343-350)。融合到nptII(新霉素磷酸转移酶II)的TR1'基因显示了相似的特性。另外的根优选的启动子包括VfENOD-GRP3基因启动子(Kuster等人(1995) *Plant Mol. Biol.* 29(4):759-772); 以及rolB启动子(Capana等人(1994) *Plant Mol. Biol.* 25(4):681-691)。另参见美国专利No. 5,837,876; 5,750,386; 5,633,363; 5,459,252; 5,401,836; 5,110,732和5,023,179。拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)根优选的调控序列公开于US20130117883中。

[0194] “种子优选的”启动子包括“种子特异性”启动子(这种启动子在种子发育期间活跃, 例如种子贮藏蛋白的启动子)和“种子萌发”启动子(这种启动子在种子萌发期间活跃)。参见Thompson等人(1989) *BioEssays* 10:108, 该文献以引用方式并入本文。这类种子优选的启动子包括但不限于Cim1(细胞分裂素诱导信息); cZ19B1(玉蜀黍19kDa玉米醇溶蛋白); 以及milps(肌醇-1-磷酸合酶)(参见美国专利No. 6,225,529, 其以引用方式并入本文)。 γ -玉米醇溶蛋白基因启动子和G1b-1是胚乳特异性启动子。对于双子叶植物, 种子特异性启动子包括但不限于Kunitz胰蛋白酶抑制剂3(KTi3)(Jofuku和Goldberg, (1989) *Plant Cell* 1:1079-1093)、菜豆 β -菜豆素、油菜籽蛋白(napin)、 β -伴大豆球蛋白、大豆球蛋白1、大豆凝集素、十字花科蛋白等等。对于单子叶植物, 种子特异性启动子包括但不限于玉蜀黍15kDa玉米醇溶蛋白、22kDa玉米醇溶蛋白、27kDa玉米醇溶蛋白、g-玉米醇溶蛋白、waxy、shrunken 1、shrunken 2、球蛋白1等。还可参见W0 2000/12733, 其中公开了来自end1和end2基因的种子优选的启动子; 该专利以引用方式并入本文。在双子叶植物中, 种子特异性启动子包括但不限于来自拟南芥的种皮启动子pBAN; 以及来自拟南芥的早期种子启动子p26、p63和p63tr(美国专利No. 7,294,760和7,847,153)。在特定组织中具有“偏好”表达的启动子在该组织中表达的程度高于在至少一种其它植物组织中表达的程度。一些组织优选的启动子几乎专门在特定组织中表达。

[0195] 如果需要低水平表达, 则要使用弱启动子。一般来讲, 如本文所用的术语“弱启动子”指驱动编码序列以低水平表达的启动子。所谓“低水平表达”意指处于约1/1000个转录物至约1/100,000个转录物至约1/500,000个转录物的水平。作为另一种选择, 认识到术语

“弱启动子”还涵盖仅在少数细胞中而不在其它细胞中驱动表达从而造成总表达水平较低的启动子。如启动子驱动不可接受的高水平表达,则可缺失或者修饰启动子序列的一部分以降低表达水平。

[0196] 这种弱组成型启动子包括例如Rsyn7启动子的核心启动子(WO 1999/43838和美国专利No.6,072,050)、核心35S CaMV启动子等。其它的组成型启动子包括例如以下专利中公开的那些:美国专利No. 5,608,149;5,608,144;5,604,121;5,569,597;5,466,785;5,399,680; 5,268,463;5,608,142和6,177,611,所述专利以引用方式并入本文。

[0197] 上面关于启动子的列表并不意指是限制性的。任何适当的启动子都可用于所述实施方案。

[0198] 一般来讲,表达盒将包含用于选择转化细胞的选择性标记基因。选择性标记基因用于选择经转化的细胞或组织。标记基因包括编码抗生素抗性的基因,诸如那些编码新霉素磷酸转移酶II (NEO) 和潮霉素磷酸转移酶 (HPT) 的基因,以及赋予对除草化合物的抗性的基因,所述除草化合物例如草铵膦、溴苯腈、咪唑啉酮和2,4-二氯苯氧基乙酸(2,4-D)。合适的选择性标记基因的另外示例包括但不限于:编码对氯霉素的抗性的基因(Herrera Estrella等人,(1983)EMBO J.2:987-992);甲氨蝶呤(Herrera Estrella等人,(1983)Nature303:209-213和Meijer等人,(1991)Plant Mol. Biol.16:807-820);链霉素(Jones等人,(1987)Mol.Gen.Genet.210:86-91);壮观霉素(Bretagne-Sagnard等人,(1996)Transgenic Res.5:131-137);博来霉素(Hille等人,(1990)Plant Mol.Biol.7:171-176);磺酰胺(Guerineau等人(1990)Plant Mol.Biol.15:127-136);溴苯腈(Stalker等人,(1988)Science 242:419-423);草甘膦(Shaw等人,(1986)Science 233:478-481和美国专利申请序列号10/004,357和10/427,692);草丁膦(DeBlock等人,(1987)EMBO J.6:2513-2518)。主要参见:Yarranton (1992)Curr.Opin.Biotech.3:506-511; Christopherson等人,(1992)Proc.Natl. Acad.Sci.USA 89:6314-6318;Yao等人,(1992)Cell 71:63-72;Reznikoff,(1992)Mol.Microbiol.6:2419-2422;Barkley等人,(1980)载于The Operon, 第177-220页;Hu等人,(1987)Cell 48:555-566;Brown等人,(1987)Cell 49:603-612;Figge等人,(1988)Cell 52:713-722;Deuschle等人,(1989)Proc.Natl.Acad.Sci.USA 86:5400-5404;Fuerst等人,(1989)Proc.Natl. Acad.Sci.USA 86:2549-2553;Deuschle等人,(1990)Science 248:480-483;Gossen,(1993)德国海德堡大学(University of Heidelberg)博士论文;Reines等人,(1993)Proc.Natl.Acad.Sci.USA 90:1917-1921;Labow等人,(1990)Mol.Cell.Biol.10:3343-3356;Zambretti等人,(1992)Proc.Natl.Acad. Sci.USA 89:3952-3956;Baim等人,(1991)Proc.Natl.Acad.Sci.USA 88:5072-5076;Wyborski等人,(1991)Nucleic Acids Res.19:4647-4653;Hillenand-Wissman,(1989)Topics Mol.Struc.Biol.10:143-162;Degenkolb等人,(1991)Antimicrob.Agents Chemother.35:1591-1595;Kleinschmidt等人,(1988)Biochemistry 27:1094-1104;Bonin,(1993)德国海德堡大学(University of Heidelberg)博士论文;Gossen等人,(1992)Proc.Natl.Acad. Sci.USA 89:5547-5551;Oliva等人,(1992)Antimicrob.Agents Chemother. 36:913-919;Hlavka等人,(1985)Handbook of Experimental Pharmacology, 第78卷(Springer-Verlag,Berlin)以及Gill等人,(1988)Nature334:721-724。这些公开内容以引用的方式并入本文。

[0199] 以上选择性标记基因的列表并不意指是限制性的。任何选择性标记基因都可用于本发明实施方案。

[0200] 植物转化

[0201] 本发明实施方案的方法涉及将多肽或多核苷酸引入植物中。如本文所用,“引入”意指将多核苷酸或多肽提供给植物,使得该序列能够进入植物细胞的内部。本发明实施方案的方法不依赖于将多核苷酸或多肽引入植物中的具体方法,只要多核苷酸或多肽可进入植物的至少一个细胞的内部即可。将多核苷酸或多肽引入植物中的方法是本领域已知的,包括但不限于稳定转化方法、瞬时转化方法和病毒介导的方法。

[0202] 如本文所用,“稳定转化”意指被引入植物中的核苷酸构建体整合进植物的基因组中,并能够被其后代继承。如本文所用,“瞬时转化”意指将多核苷酸引入植物中但它没有整合进植物的基因组中,或者将多肽引入植物中。如本文所用,“植物”是指整株植物、植物器官(例如,叶、茎、根等)、种子、植物细胞、繁殖体、胚及其子代。植物细胞可为分化的或未分化的(例如,愈伤组织、悬浮培养细胞、原生质体、叶细胞、根细胞、韧皮部细胞和花粉)。

[0203] 转化方案以及将核苷酸序列引入植物中的方案,可以根据转化所指向的植物或者植物细胞的类型(即单子叶植物或者双子叶植物)变动。将核苷酸序列引入植物细胞中并随后插入植物基因组中的合适方法,包括微注射(Crossway等人,(1986) *Biotechniques* 4:320-334)、电穿孔(Riggs等人,(1986) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 83:5602-5606)、农杆菌介导的转化(美国专利5,563,055和5,981,840)、直接基因转移(Paszkowski等人,(1984) *EMBO J.* 3:2717-2722)以及弹道粒子加速法(参见例如美国专利 No. 4,945,050; 5,879,918; 5,886,244和5,932,782; Tomes等人,(1995),载于 *Plant Cell, Tissue, and Organ Culture: Fundamental Methods*, Gamborg和Phillips编辑(Springer-Verlag, Berlin)以及McCabe等人,(1988) *Biotechnology* 6:923-926)和Lecl转化(WO 00/28058)。关于马铃薯转化,参见Tu等人(1998) *Plant Molecular Biology* 37:829-838和Chong等人(2000) *Transgenic Research* 9:71-78。另外的转化程序可见于Weissinger等人,(1988) *Ann. Rev. Genet.* 22:421-477; Sanford等人,(1987) *Particulate Science and Technology* 5:27-37(洋葱); Christou等人,(1988) *Plant Physiol.* 87:671-674(大豆); McCabe等人,(1988) *Bio/Technology* 6:923-926(大豆); Finer和McMullen,(1991) *In Vitro Cell Dev. Biol.* 27P:175-182(大豆); Singh等人,(1998) *Theor. Appl. Genet.* 96:319-324(大豆); Datta等人,(1990) *Biotechnology* 8:736-740(水稻); Klein等人,(1988) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:4305-4309(玉蜀黍); Klein等人,(1988) *Biotechnology* 6:559-563(玉蜀黍); 美国专利5,240,855; 5,322,783和5,324,646; Klein等人,(1988) *Plant Physiol.* 91:440-444(玉蜀黍); Fromm等人,(1990) *Biotechnology* 8:833-839(玉蜀黍); Hooykaas-Van Slogteren等人,(1984) *Nature (London)* 311:763-764; 美国专利5,736,369(谷类); Bytebier等人,(1987) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 84:5345-5349(百合科); De Wet等人,(1985)载于 *The Experimental Manipulation of Ovule Tissues*, Chapman等人编辑,(Longman, New York),第197-209页(花粉); Kaeppler等人(1990) *Plant Cell Reports* 9:415-418和Kaeppler等人(1992) *Theor. Appl. Genet.* 84:560-566(晶须介导的转化); D' Halluin等人,(1992) *Plant Cell* 4:1495-1505(电穿孔); Li等人,(1993) *Plant Cell*

Reports 12:250-255和Christou和Ford(1995)Annals of Botany 75:407-413 (水稻); Osjoda等人,(1996)Nature Biotechnology 14:745-750(玉蜀黍, 经由根瘤农杆菌);将所有这些文献和专利以引用方式并入本文。

[0204] 在具体的实施方案中,所述实施方案的序列可用多种瞬时转化方法提供给植物。这种瞬时转化方法包括但不限于直接向植物中引入PtIP-96多核苷酸或其变体和片段,或者向植物中引入PtIP-96多肽转录物。这类方法包括(例如)显微注射法或粒子轰击法。参见例如Crossway等人,(1986)Mol Gen.Genet.202:179-185;Nomura等人,(1986)Plant Sci.44:53-58;Hepler 等人,(1994)Proc.Natl.Acad.Sci.91:2176-2180以及Hush等人,(1994)The Journal of Cell Science 107:775-784,所有这些文献都以引用方式并入本文。另选地,可使用本领域已知的技术将PtIP-96多肽多核苷酸瞬时转化到植物中。此类技术包括利用病毒载体系统,和将多核苷酸以避免DNA随后释放的方式沉淀。因此,从粒子结合的DNA可发生转录,但其释放出来而整合进基因组中的频率则大大降低。此类方法包括使用包被有聚乙基亚胺(PEI;Sigma#P3143)的粒子。

[0205] 用于在植物基因组中特定位置处靶向插入多核苷酸的方法是本领域已知的。在一个实施方案中,在期望的基因组位置处插入多核苷酸是使用位点特异性重组系统实现的。参见,例如,WO 1999/25821、WO 1999/25854、WO 1999/25840、WO 1999/25855和WO 1999/25853,上述专利以引用的方式并入本文。简而言之,可将本发明实施方案的多核苷酸包含在转移盒中,该转移盒旁侧是两个不相同的重组位点。将转移盒引入植物中,该植物基因组中稳定掺入有靶位点,其中所述靶位点旁侧是两个与该转移盒的所述位点相对应的不相同重组位点。提供适当的重组酶,将转移盒整合在该靶位点处。目的多核苷酸因此被整合在植物基因组中的特定染色体位置处。

[0206] 植物转化载体可由实现植物转化所需的一个或多个DNA载体构成。例如,本领域通常的做法是采用由不止一个连续DNA区段构成的植物转化载体。这些载体在本领域中常常称为“二元载体”。二元载体以及具有辅助质粒的载体最常用于农杆菌介导的转化,其中实现有效转化所需的DNA区段的大小和复杂性是相当大的,并且将功能分摊到单独的DNA分子上是有利的。二元载体通常包含质粒载体,该质粒载体含有T-DNA转移所必需的顺式作用序列(诸如左边界和右边界),经工程改造能够在植物细胞中表达的选择性标记,以及“目的基因”(经工程改造能够在期望产生转基因植物的植物细胞中表达的基因)。还存在于这种质粒载体上的是细菌复制所需的序列。顺式作用序列以允许有效转移入植物细胞中并在其中表达的方式排列。例如,选择性标记基因和杀虫基因位于左边界和右边界之间。通常第二质粒载体包含介导T-DNA从农杆菌转移到植物细胞的反式作用因子。按照本领域中所理解的,该质粒通常包含允许植物细胞被农杆菌感染并通过在边界序列处的切割以及vir介导的DNA转移来转移DNA的毒力功能(Vir基因)(Hellens和Mullineaux,(2000)Trends in Plant Science 5:446-451)。几类农杆菌菌株(例如LBA4404、GV3101、EHA101、EHA105等)可用于植物转化。该第二质粒载体不是通过诸如微喷射、微注射、电穿孔、聚乙二醇等等的其它方法转化植物所必需的。

[0207] 一般来讲,植物转化方法涉及将异源DNA转移到靶植物细胞(例如,不成熟的或成熟的胚、悬浮培养物、未分化的愈伤组织、原生质体等等)中,随后应用最大阈值水平的合适选择物(取决于选择性标记基因)从未转化细胞团块群中回收转化的植物细胞。在将

异源外来DNA整合进植物细胞中后,然后在培养基中应用最大阈值水平的合适选择物以杀死未转化的细胞,并通过定期转移至新鲜培养基来分离和增殖从该选择处理中存活的据推测已转化的细胞。通过连续传代和使用合适的选择物进行攻击,可鉴定和增殖用所述质粒载体转化的细胞。然后,分子和生物化学方法可用于证实整合到转基因植物的基因组中的目的异源基因的存在。

[0208] 通常将外植体转移至新鲜供应的相同培养基中并进行常规培养。随后,在放置于补充了最大阈值水平的选择剂的再生培养基上后,已转化的细胞被分化成苗。然后将所述苗转移到选择性生根培养基中,以恢复成生根的苗或小植株。然后将转基因小植株生长成成熟的植株并产生可育种子(例如,Hiei等人,(1994) *The Plant Journal* 6:271-282; Ishida等人,(1996) *Nature Biotechnology* 14:745-750)。通常将外植体转移至新鲜供应的相同培养基中并进行常规培养。产生转基因植物的技术和方法的一般描述可见于Ayres和Park,(1994) *Critical Reviews in Plant Science* 13:219-239以及Bommineni和Jauhar,(1997) *Maydica* 42:107-120。由于被转化的材料包含许多细胞;在任何一片受试目标愈伤组织或组织或细胞群中都存在转化的和未转化的细胞两者。杀死未转化细胞并允许转化细胞增殖的能力产生了经转化的植物培养物。通常,移除未转化细胞的能力是对快速恢复经转化的植物细胞并成功产生转基因植物的限制。

[0209] 可依据常规方式将已转化的细胞培育成植株。参见例如McCormick等人,(1986) *Plant Cell Reports* 5:81-84。然后可栽培这些植株并用同一转化株系或不同的株系进行授粉,并鉴定出具有所需表型特征的组成型或者诱导型表达的所得杂交种。可以培育两代或更多代以确保稳定保持和遗传所需表型特征的表达,然后收获种子以确保已经实现所需表型特征的表达。

[0210] 本发明实施方案的核苷酸序列可通过使植物与病毒或者病毒核酸接触而提供给植物。通常,这种方法涉及将目的核苷酸构建体掺入于病毒DNA或RNA分子内。应当认识到,实施方案的重组蛋白可最初作为病毒聚蛋白的一部分来合成,其以后可通过体内或体外蛋白水解加工而产生所需PtIP-96多肽。还应当认识到,这种包含实施方案的PtIP-96的氨基酸序列的至少一部分的病毒聚蛋白可具有所需的杀虫活性。这种病毒聚蛋白及其编码核苷酸序列为本发明实施方案所涵盖。给植物提供核苷酸构建体并在植物中产生所编码的蛋白质的方法(涉及病毒DNA或RNA分子)是本领域已知的。参见例如以下各号美国专利:5,889,191;5,889,190;5,866,785;5,589,367和5,316,931;这些专利以引用方式并入本文。

[0211] 转化叶绿体的方法是本领域已知的。参见例如Svab等人,(1990) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87:8526-8530;Svab和Maliga,(1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:913-917;Svab和Maliga,(1993) *EMBO J.* 12:601-606。该方法依赖于粒子枪输送含选择性标记的DNA以及通过同源重组将DNA靶向质体基因组。此外,质体转化可以通过细胞核编码和质体引导的RNA聚合酶的组织偏好表达来反式激活沉默的质体携带的转基因而完成。此类系统已经在McBride等人,(1994) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91:7301-7305)中报道。

[0212] 所述实施方案还涉及所述实施方案的转化植物的植物繁殖材料,包括但不限于种子、块茎、球茎、鳞茎、叶、以及根和苗的插条。

[0213] 本发明实施方案可用于转化任何植物物种,包括但不限于单子叶植物和双子叶

植物。所关注的植物的示例包括但不限于玉米 (*Zea mays*)、芸苔属物种 (*Brassica* sp.) (例如甘蓝型油菜 (*B. napus*)、芜菁 (*B. rapa*)、芥菜 (*B. juncea*)), 特别是可用作种子油来源的那些芸苔属物种; 苜蓿 (*Medicago sativa*)、水稻 (*Oryza sativa*)、黑麦 (*Secale cereale*)、高粱 (*Sorghum bicolor*, *Sorghum vulgare*)、粟 (例如珍珠粟 (*Pennisetum glaucum*)、黄米 (*Panicum miliaceum*)、谷子 (*Setaria italica*)、龙爪稷 (*Eleusine coracana*))、向日葵 (*Helianthus annuus*)、红花 (*Carthamus tinctorius*)、小麦 (*Triticum aestivum*)、大豆 (*Glycine max*)、烟草 (*Nicotiana tabacum*)、马铃薯 (*Solanum tuberosum*)、花生 (*Arachis hypogaea*)、棉花 (海岛棉 (*Gossypium barbadense*)、陆地棉 (*Gossypium hirsutum*))、甘薯 (*Ipomoea batatas*)、木薯 (*Manihot esculenta*)、咖啡 (*Coffea* spp.)、椰子 (*Cocos nucifera*)、菠萝 (*Ananas comosus*)、柑橘 (*Citrus* spp.)、可可 (*Theobroma cacao*)、茶 (*Camellia sinensis*)、香蕉 (*Musa* spp.)、鳄梨 (*Persea americana*)、无花果 (*Ficus casica*)、番石榴 (*Psidium guajava*)、芒果 (*Mangifera indica*)、橄榄 (*Olea europaea*)、木瓜 (*Carica papaya*)、腰果 (*Anacardium occidentale*)、澳洲坚果 (*Macadamia integrifolia*)、杏树 (*Prunus amygdalus*)、糖用甜菜 (*Beta vulgaris*)、甘蔗 (*Saccharum* spp.)、燕麦、大麦、蔬菜、观赏植物和针叶树。

[0214] 蔬菜包括番茄 (*Lycopersicon esculentum*)、莴苣 (例如 *Lactuca sativa*)、青豆 (*Phaseolus vulgaris*)、利马豆 (*Phaseolus limensis*)、豌豆 (香豌豆属 (*Lathyrus*) 物种) 和黄瓜属 (*Cucumis*) 的成员比如黄瓜 (*C. sativus*)、香瓜 (*C. cantalupensis*) 和甜瓜 (*C. melo*)。观赏植物包括杜鹃 (杜鹃花属 (*Rhododendron*) 物种)、八仙花 (*Macrophylla hydrangea*)、朱槿 (*Hibiscus rosasanensis*)、玫瑰 (蔷薇属 (*Rosa*) 物种)、郁金香 (郁金香属 (*Tulipa*) 物种)、水仙 (水仙属 (*Narcissus*) 物种)、矮牵牛 (*Petunia hybrida*)、康乃馨 (*Dianthus caryophyllus*)、一品红 (*Euphorbia pulcherrima*) 和菊花。可应用于实施所述实施方案的针叶树包括例如松树, 如火炬松 (*Pinus taeda*)、沼泽松 (*Pinus elliotii*)、美国黄松 (*Pinus ponderosa*)、黑松 (*Pinus contorta*) 和蒙特利松 (*Pinus radiata*); 花旗松 (*Pseudotsuga menziesii*); 西铁杉 (*Tsuga canadensis*); 北美云杉 (*Picea glauca*); 红杉 (*Sequoia sempervirens*); 枞树 (true firs) 诸如银枞 (*Abies amabilis*) 和胶枞 (*Abies balsamea*); 以及雪松诸如西方红雪松 (*Thuja plicata*) 和阿拉斯加黄雪松 (*Chamaecyparis nootkatensis*)。本发明实施方案的植物包括作物植物 (例如玉米、苜蓿、向日葵、芸苔属植物、大豆、棉花、红花、花生、高粱、小麦、粟、烟草等等), 例如玉米和大豆植物。

[0215] 草坪草包括但不限于: 早熟禾 (*Poa annua*) 一年生黑麦草 (*Lolium multiflorum*); 加拿大蓝草 (*Poa compressa*); 邱氏紫羊茅 (*Festuca rubra*); 细弱剪股颖 (*Agrostis tenuis*); 匍匐剪股颖 (*Agrostis palustris*); 光穗冰草 (*Agropyron desertorum*); 扁穗冰草 (*Agropyron cristatum*); 硬羊茅 (*Festuca longifolia*); 肯塔基蓝草 (*Poa pratensis*); 果园草 (*Dactylis glomerata*); 多年生黑麦草 (*Lolium perenne*); 紫羊茅 (*Festuca rubra*); 红顶草 (*Agrostis alba*); 粗茎蓝草 (*Poa trivialis*); 羊茅 (*Festuca ovina*); 无芒雀麦草 (*Bromus inermis*); 高羊茅 (*Festuca arundinacea*); 梯牧草 (*Phleum pratense*); 绒毛剪股颖 (*Agrostis canina*); 碱茅 (*Puccinellia distans*); 西方冰草 (*Agropyron smithii*); 百慕达草 (*Cynodon* spp.); 圣奥古斯丁草 (*Stenotaphrum secundatum*); 结缕草

(*Zoysia* spp.);美洲雀稗 (*Paspalum notatum*);地毯草 (*Axonopus affinis*);百足草 (*Eremochloa ophiuroides*);狼尾草 (*Pennisetum clandestinum*);海滨雀稗 (*Paspalum vaginatum*);蓝格兰马草 (*Bouteloua gracilis*);野牛草 (*Buchloe dactyloids*);垂穗草 (*Bouteloua curtipendula*)。

[0216] 所关注的植物包括谷物植物(提供所关注的种子)、油籽植物和豆科植物。所关注的种子包括谷物种子,如玉米、小麦、大麦、水稻、高粱、裸麦、粟等。油籽植物包括棉花、大豆、红花、向日葵、芸苔属植物、玉蜀黍、苜蓿、棕榈、椰子、亚麻、蓖麻、橄榄等。豆科植物包括豆类和豌豆。豆类包括瓜尔豆、槐豆、胡芦巴、大豆、四季豆、豇豆、绿豆、利马豆、蚕豆、小扁豆、鹰嘴豆等。

[0217] 植物转化的评估

[0218] 在将异源外来DNA引入植物细胞中以后,异源基因在植物基因组中的转化或整合通过各种方法如与整合基因有关的核酸、蛋白质和代谢物的分析来证实。

[0219] PCR分析是移种到土壤之前筛选早期转化细胞、组织或苗中掺入基因存在的快速方法(Sambrook and Russell, (2001) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY (Sambrook和Russell, 2001年,《分子克隆:实验室手册》,冷泉港实验室出版社,纽约冷泉港))。使用对目的基因或农杆菌属载体背景等具有特异性的寡核苷酸引物进行PCR。

[0220] 植物转化可以通过基因组DNA的DNA印迹分析来确定(Sambrook和Russell, (2001) (出处同上))。一般而言,从转化体提取总DNA,用适当的限制性酶消化,在琼脂糖凝胶中进行分级分离并且转移到硝酸纤维素膜或尼龙膜。然后根据标准技术(Sambrook和Russell, (2001) (出处同上)),可以用例如放射性标记的³²P靶DNA片段探测所述膜或“印迹”,以证实被引入的基因在植物基因组中的整合。

[0221] 在RNA印迹分析中,根据本领域常规使用的标准程序(Sambrook和Russell, (2001) (出处同上)),从转化体的特定组织分离RNA,所述RNA在甲醛琼脂糖凝胶中进行分级分离,并且印迹到尼龙滤膜上。然后通过本领域内已知的方法(Sambrook和Russell, (2001) (出处同上)),使所述滤膜与源自杀虫基因的放射性探针杂交,来检测由杀虫基因编码的RNA的表达。

[0222] 根据标准程序(Sambrook和Russell, (2001) (出处同上)),使用与存在于PtIP-96多肽上的一个或多个表位结合的抗体,可以对转基因植物进行蛋白质印迹、生化分析等,以证实由杀虫基因编码的蛋白质的存在。

[0223] 转基因植物中性状的堆叠

[0224] 转基因植物可包含本文所公开的一个或多个杀昆虫多核苷酸与一个或多个另外的多核苷酸的堆叠,从而导致多个多肽序列的产生或抑制。包含多核苷酸序列的堆叠的转基因植物可通过传统育种方法或通过遗传工程方法中的一者或两者来获得。这些方法包括但不限于培育各自包含目的多核苷酸的单独品系,用后续基因转化包含本文所公开的基因的转基因植物,以及将基因共转化进单个植物细胞中。如本文所用,术语“堆叠”包括具有存在于同一植物中的多种性状(即,两种性状均掺入核基因组中,一种性状掺入核基因组中且一种性状掺入质体的基因组中,或者两种性状均掺入质体的基因组中)。在一个非限制性示例中,“堆叠性状”包含序列彼此物理相邻的分子堆叠。本文所用的性状是指衍

生自特定序列或序列群组的表型。可使用包含多个基因的单个转化载体或单独地携带于多个载体上的基因进行基因的共转化。如果序列通过遗传转化植株来堆叠,则目的多核苷酸序列可在任何时间以任何顺序进行组合。可以用共转化方案将性状与目的多核苷酸同时引入,所述多核苷酸由转化盒的任何组合提供。例如,如果将要引入两条序列,则可将该两条序列包含在单独的转化盒中(反式)或包含在同一转化盒中(顺式)。可通过相同启动子或不同启动子驱动所述序列表达。在某些情况下,可期望引入会抑制目的多核苷酸的表达的转化盒。这可以与其它抑制盒或过表达盒的任何组合进行组合以在植物中生成所需的性状组合。还认识到,可使用位点特异性重组系统在所需的基因组位置堆叠多核苷酸序列。参见,例如,WO 1999/25821、WO 1999/25854、WO 1999/25840、WO 1999/25855和WO 1999/25853,上述专利以引用的方式并入本文。

[0225] 在一些实施方案中,编码单独的或与一种或多种另外的昆虫抗性性状堆叠的本文所公开的PtIP-96多肽的多核苷酸,可与一种或多种另外的投入性状(例如,除草剂抗性、真菌抗性、病毒抗性、胁迫耐受性、抗病性、雄性不育、茎秆强度等等)或产出性状(例如,增加的产量、改性淀粉、改善的油分布、平衡的氨基酸、高赖氨酸或甲硫氨酸、增强的消化性、改善的纤维质量、抗旱性等等)堆叠。因此,该多核苷酸实施方案可用于提供具有灵活地且成本有效地防治许多农业害虫的能力的改善的作物质量的完整农学方案。

[0226] 可用于堆叠的转基因包括但不限于:

[0227] 1.赋予对昆虫或病害的抗性并编码以下各方面的转基因:

[0228] (A) 植物抗病基因。植物防御往往由该植物中抗病基因(R)的产物与病原体中相应的无毒性(Avr)基因的产物之间的特异性相互作用活化。可用克隆的抗性基因转化植物品种,以工程构建出对特定的病原体株系有抗性的植物。参见例如Jones等人,(1994) Science 266:789(抵抗番茄叶霉菌(*Cladosporium fulvum*)的番茄Cf-9基因的克隆); Martin等人,(1993) Science 262:1432(抵抗丁香假单胞菌番茄致病变种(*Pseudomonas syringae* pv. tomato)的番茄Pto基因编码蛋白激酶); Mindrinos等人,(1994) Cell 78:1089(抵抗丁香假单胞菌(*Pseudomonas syringae*)的拟南芥RSP2基因)、McDowell和Woffenden,(2003) Trends Biotechnol. 21(4):178-83以及Toyoda等人,(2002) Transgenic Res. 11(6):567-82。抗病植物是与野生型植物相比更能抵抗病原体的植物。

[0229] (B) 编码苏云金芽孢杆菌蛋白、其衍生物或模拟其的合成多肽的基因。参见例如Geiser等人,(1986) Gene 48:109,其公开了Bt δ -内毒素基因的克隆和核苷酸序列。此外,编码 δ -内毒素基因的DNA分子可购自马里兰州洛克维尔市(Rockville, Md.)的美国模式培养物保藏所,例如ATCC登录号40098、67136、31995和31998。经遗传工程改造的苏云金芽孢杆菌转基因的其它非限制性示例在以下专利和专利申请中给出,并出于此目的据此以引用方式并入:美国专利5,188,960;5,689,052;5,880,275;5,986,177;6,023,013,6,060,594,6,063,597,6,077,824,6,620,988,6,642,030,6,713,259,6,893,826,7,105,332;7,179,965,7,208,474;7,227,056,7,288,643,7,323,556,7,329,736,7,449,552,7,468,278,7,510,878,7,521,235,7,544,862,7,605,304,7,696,412,7,629,504,7,705,216,7,772,465,7,790,846,7,858,849以及WO 1991/14778;WO 1999/31248;WO 2001/12731;WO 1999/24581和WO 1997/40162。

[0230] 也可堆叠编码杀虫蛋白的基因,包括但不限于:来自假单胞菌属物种的杀昆虫蛋

白,诸如PSEEN3174 (Monalysin, (2011) PLoS Pathogens, 7:1- 13);来自生防假单胞菌 (*Pseudomonas protegens*) 菌株CHA0和Pf-5 (之前的荧光假单胞菌) 的杀昆虫蛋白 (Pechy-Tarr, (2008) Environmental Microbiology 10:2368-2386:GenBank登录号EU400157);来自台湾假单胞菌 (*Pseudomonas Taiwanensis*) 的杀昆虫蛋白 (Liu等人, (2010) J. Agric. Food Chem. 58:12343-12349) 以及来自类产碱假单胞菌的杀昆虫蛋白 (Zhang等人, (2009) Annals of Microbiology 59:45-50以及Li等人, (2007) Plant Cell Tiss. Organ Cult. 89:159-168);来自发光杆菌属物种 (*Photobacterium* sp.) 和致病杆菌属物种 (*Xenorhabdus* sp.) 的杀昆虫蛋白 (Hinchliffe等人, (2010) The Open Toxinology Journal 3:101-118以及Morgan等人, (2001) Applied and Envir. Micro. 67:2062-2069)、美国专利No. 6,048,838和美国专利 No. 6,379,946;美国专利公布US20140007292的PIP-1多肽;美国专利公布 US20140033361的AfIP-1A和/或AfIP-1B多肽;美国专利序列号13/839702 的PHI-4多肽;PCT序列号PCT/US14/51063的PIP-47多肽、PCT序列号 PCT/US14/55128的PIP-72多肽、以及 δ -内毒素,包括但不限于 δ -内毒素基因中的Cry1、Cry2、Cry3、Cry4、Cry5、Cry6、Cry7、Cry8、Cry9、Cry10、Cry11、Cry12、Cry13、Cry14、Cry15、Cry16、Cry17、Cry18、Cry19、Cry20、Cry21、Cry22、Cry23、Cry24、Cry25、Cry26、Cry27、Cry 28、Cry 29、Cry 30、Cry31、Cry32、Cry33、Cry34、Cry35、Cry36、Cry37、Cry38、Cry39、Cry40、Cry41、Cry42、Cry43、Cry44、Cry45、Cry 46、Cry47、Cry49、Cry50、Cry51、Cry52、Cry53、Cry 54、Cry55、Cry56、Cry57、Cry58、Cry59、Cry60、Cry61、Cry62、Cry63、Cry64、Cry65、Cry66、Cry67、Cry68、Cry69、Cry70、Cry71和Cry 72类型以及苏云金芽孢杆菌溶细胞Cyt1和Cyt2基因。苏云金芽孢杆菌杀昆虫蛋白的这些类型的成员是本领域技术人员熟知的(参见, lifesci.sussex.ac.uk/home/Neil_Crickmore/Bt/(可使用“www”前缀在万维网上访问)的Crickmore等人,“*Bacillus thuringiensis* toxin nomenclature” (2011))。

[0231] δ -内毒素的示例还包括但不限于美国专利No. 5,880,275和7,858,849的Cry1A蛋白;美国专利No. 8,304,604和8,304,605的DIG-3或DIG-11毒素 (Cry蛋白诸如Cry1A的 α -螺旋1和/或 α -螺旋2变体的N末端缺失);美国专利申请序列号10/525,318的Cry1B;美国专利No. 6,033,874的Cry1C;美国专利No. 5,188,960, 6,218,188的Cry1F;美国专利No. 7,070,982, 6,962,705和6,713,063的Cry1A/F嵌合体);Cry2蛋白,比如美国专利No. 7,064,249的Cry2Ab蛋白);Cry3A蛋白,包括但不限于通过融合至少两种不同Cry蛋白的可变区和保守区块的独特组合而形成的经工程改造的杂合杀昆虫蛋白 (eHIP) (美国专利申请公布No. 2010/0017914);Cry4蛋白;Cry5蛋白;Cry6蛋白;美国专利No. 7,329,736, 7,449,552, 7,803,943, 7,476,781, 7,105,332, 7,378,499 and 7,462,760的Cry8蛋白;Cry9蛋白,比如Cry9A、Cry9B、Cry9C、Cry9D、Cry9E和Cry9F家族的成员;Naimov等人, (2008) Applied and Environmental Microbiology 74:7145-7151的Cry15蛋白;美国专利No. 6,127,180, 6,624,145 and 6,340,593的Cry22、Cry34Ab1蛋白;美国专利No. 6,248,535, 6,326,351, 6,399,330, 6,949,626, 7,385,107 and 7,504,229的CryET33和CryET34蛋白;美国专利公布No. 2006/0191034、2012/0278954和PCT公布No. WO 2012/139004的CryET33和CryET34同源物;美国专利No. 6,083,499, 6,548,291 and 6,340,593的Cry35Ab1蛋白;Cry46蛋白、Cry51蛋白、Cry二元毒素;TIC901或相关毒素;US 2008/0295207的TIC807;PCT US 2006/033867的ET29、ET37、TIC809、TIC810、TIC812、TIC127、TIC128;美国专利No. 8,236,757的

AXMI-027、AXMI-036和AXMI-038;US7,923,602的AXMI-031、AXMI-039、AXMI-040、AXMI-049;WO 2006/083891的AXMI-018、AXMI-020和AXMI-021;WO 2005/038032的AXMI-010;WO 2005/021585的AXMI-003;US 2004/0250311的AXMI-008;US 2004/0216186的AXMI-006;US 2004/0210965的AXMI-007;US 2004/0210964的AXMI-009;US 2004/0197917的AXMI-014;US 2004/0197916的AXMI-004;WO 2006/119457的AXMI-028和AXMI-029;WO 2004/074462的AXMI-007、AXMI-008、AXMI-0080rf2、AXMI-009、AXMI-014和AXMI-004;美国专利No.8,084,416的AXMI-150;US20110023184的AXMI-205;US 2011/0263488的AXMI-011、AXMI-012、AXMI-013、AXMI-015、AXMI-019、AXMI-044、AXMI-037、AXMI-043、AXMI-033、AXMI-034、AXMI-022、AXMI-023、AXMI-041、AXMI-063和AXMI-064;US 2010/0197592的AXMI-R1和相关蛋白;WO 2011/103248的AXMI221z、AXMI222z、AXMI223z、AXMI224z 和AXMI225z;WO11/103247的AXMI218、AXMI219、AXMI220、AXMI226、AXMI227、AXMI228、AXMI229、AXMI230和AXMI231;美国专利No.8,334,431的AXMI-115、AXMI-113、AXMI-005、AXMI-163和AXMI-184;US 2010/0298211的AXMI-001、AXMI-002、AXMI-030、AXMI-035和AXMI-045;US20090144852的AXMI-066和AXMI-076;美国专利No.8,318,900的AXMI128、AXMI130、AXMI131、AXMI133、AXMI140、AXMI141、AXMI142、AXMI143、AXMI144、AXMI146、AXMI148、AXMI149、AXMI152、AXMI153、AXMI154、AXMI155、AXMI156、AXMI157、AXMI158、AXMI162、AXMI165、AXMI166、AXMI167、AXMI168、AXMI169、AXMI170、AXMI171、AXMI172、AXMI173、AXMI174、AXMI175、AXMI176、AXMI177、AXMI178、AXMI179、AXMI180、AXMI181、AXMI182、AXMI185、AXMI186、AXMI187、AXMI188、AXMI189;US2010/0005543的AXMI079、AXMI080、AXMI081、AXMI082、AXMI091、AXMI092、AXMI096、AXMI097、AXMI098、AXMI099、AXMI100、AXMI101、AXMI102、AXMI103、AXMI104、AXMI107、AXMI108、AXMI109、AXMI110、AXMI111、AXMI112、AXMI114、AXMI116、AXMI117、AXMI118、AXMI119、AXMI120、AXMI121、AXMI122、AXMI123、AXMI124、AXMI1257、AXMI1268、AXMI127、AXMI129、AXMI164、AXMI151、AXMI161、AXMI183、AXMI132、AXMI138、AXMI137;和美国专利No.8,319,019的Cry蛋白,比如具有经修饰的蛋白水解位点的Cry1A和Cry3A;以及美国专利申请公布No.2011/0064710的来自苏云金芽孢杆菌菌株VBTS2528的Cry1Ac、Cry2Aa和Cry1Ca毒素蛋白。其它Cry蛋白是本领域技术人员熟知的(参见,lifesci.sussex.ac.uk/home/Neil_Crickmore/Bt/ (可使用“www”前缀在万维网上访问)的Crickmore等人,“Bacillus thuringiensis toxin nomenclature”(2011))。Cry蛋白的杀昆虫活性是本领域技术人员熟知的(有关综述,参见van Frankenhuyzen,(2009)J.Invert.Path. 101:1-16)。Cry蛋白作为转基因植物性状的用途是本领域技术人员熟知的,并且包括但不限于Cry1Ac、Cry1Ac+Cry2Ab、Cry1Ab、Cry1A.105、Cry1F、Cry1Fa2、Cry1F+Cry1Ac、Cry2Ab、Cry3A、mCry3A、Cry3Bb1、Cry34Ab1、Cry35Ab1、Vip3A、mCry3A、Cry9c和CBI-Bt的Cry转基因植物已取得监管批准(参见,Sanahuja,(2011)Plant Biotech Journal9:283-300 和cera-gmc.org/index.php?action=gm_crop_database(可使用“www”前缀在万维网上访问)的CERA(2010)GM Crop Database Center for Environmental Risk Assessment(CERA),ILSI Research Foundation, Washington D.C.(CERA(2010)转基因作物数据库,环境风险评估中心(CERA),国际生命科学学院研究基金,华盛顿特区))。本领域的技术人员熟知的多于一种杀虫蛋白也可在植物中表达,例如Vip3Ab&Cry1Fa (US2012/0317682)、Cry1BE&Cry1F

(US2012/0311746)、Cry1CA& Cry1AB(US2012/0311745)、Cry1F&CryCa(US2012/0317681)、Cry1DA&Cry1BE(US2012/0331590)、Cry1DA&Cry1Fa(US2012/0331589)、Cry1AB&Cry1BE(US2012/0324606)、和Cry1Fa &Cry2Aa、Cry1I或Cry1E(US2012/0324605)。杀虫蛋白还包括杀昆虫脂肪酶,其包括美国专利No.7,491,869的脂酰基水解酶和比如来自链霉菌属(*Streptomyces*)的胆固醇氧化酶(Purcell等人(1993) *Biochem Biophys Res Commun* 15:1406-1413)。杀虫蛋白还包括美国专利No5,877,012,6,107,279,6,137,033,7,244,820,7,615,686,和8,237,020的VIP(植物性杀昆虫蛋白)毒素等等。其它VIP蛋白是本领域技术人员熟知的(参见, lifesci.sussex.ac.uk/home/Neil_Crickmore/Bt/vip.html(可使用“www”前缀在万维网上访问))。杀虫蛋白还包括毒素复合物(TC)蛋白,可得自比如致病杆菌属、发光杆菌属和类芽孢杆菌属(*Paenibacillus*)的生物体(参见,美国专利No.7,491,698和8,084,418)。一些TC蛋白具有“独立”杀昆虫活性,而其它TC蛋白增强由相同给定生物体产生的独立毒素的活性。“独立”TC蛋白(来自例如发光杆菌属、致病杆菌属或类芽孢杆菌属)的毒性可通过源自不同属的来源生物体的一种或多种TC蛋白“增效剂”来增强。有三种主要类型的TC蛋白。如本文所提及的,A类蛋白(“蛋白A”)是独立毒素。B类蛋白(“蛋白B”)和C类蛋白(“蛋白C”)增强A类蛋白的毒性。A类蛋白的示例是TcbA、TcdA、XptA1和XptA2。B类蛋白的示例是TcaC、TcdB、XptB1Xb和XptC1Wi。C类蛋白的示例是TccC、XptC1Xb和XptB1Wi。杀虫蛋白还包括蜘蛛、蛇和蝎毒蛋白。蜘蛛毒肽的示例包括但不限于lycotoxin-1肽及其突变体(美国专利No.8,334,366)。

[0232] (C) 编码昆虫特异性激素或信息素,如蜕皮甾类和保幼激素,其变体、基于其的模拟物或者其拮抗剂或激动剂的多核苷酸。参见例如Hammock等人,(1990) *Nature* 344:458,其公开了以杆状病毒来表达克隆的保幼激素酯酶(保幼激素的灭活剂)。

[0233] (D) 编码昆虫特异性肽的多核苷酸,所述昆虫特异性肽在表达时会扰乱受影响害虫的生理机能。例如参见以下文献的公开内容:Regan,(1994) *J. Biol. Chem.* 269:9(表达克隆产生出编码昆虫利尿激素受体的DNA);Pratt等人,(1989) *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 163:1243(在太平洋折翅蠖(*Diploptera punctata*)中鉴定出咽侧体抑制素(allostatin));Chattopadhyay等人,(2004) *Critical Reviews in Microbiology* 30(1):33-54;Zjawiony,(2004) *J Nat Prod* 67(2):300-310;Carlini和Grossi-de-Sa,(2002) *Toxicon* 40(11):1515-1539;Ussuf等人,(2001) *Curr Sci.* 80(7):847-853以及Vasconcelos和Oliveira,(2004) *Toxicon* 44(4):385-403。还可参见授予Tomalski等人的美国专利No.5,266,317,其公开了编码昆虫特异性毒素的基因。

[0234] (E) 编码负责单萜烯、倍半萜烯、类固醇、异羟肟酸、苯丙素(phenylpropanoid)衍生物或者别的具有杀昆虫活性的非蛋白分子的超量积累的酶的多核苷酸。

[0235] (F) 编码参与生物活性分子的修饰(包括翻译后修饰)的酶的多核苷酸;例如糖醇解酶、蛋白水解酶、脂肪分解酶、核酸酶、环化酶、转氨酶、酯酶、水解酶、磷酸酶、激酶、磷酸化酶、聚合酶、弹性蛋白酶、几丁质酶和葡聚糖酶,无论是天然的还是合成的。参见以Scott等人的名义的PCT申请W0 1993/02197,其公开了愈创葡聚糖酶(callase)基因的核苷酸序列。含有几丁质酶编码序列的DNA分子可例如以登录号39637和67152从ATCC[®]获得。还可参见Kramer等人,(1993) *Insect Biochem. Molec. Biol.* 23:691,其教导了编码烟草钩虫几丁质酶的cDNA的核苷酸序列,以及Kawalleck等人,(1993) *Plant*

Molec.Biol.21:673,其提供了欧芹ubi4-2多聚泛素基因的核苷酸序列,以及美国专利No.6,563,020;7,145,060和7,087,810。

[0236] (G) 编码刺激信号转导的分子的多核苷酸。例如,参见Botella等人,(1994) Plant Molec.Biol.24:757,其公开了绿豆钙调蛋白cDNA克隆的核苷酸序列,以及Griess等人,(1994) Plant Physiol. 104:1467,其提供了玉蜀黍钙调蛋白cDNA克隆的核苷酸序列。

[0237] (H) 编码疏水力矩肽的多核苷酸。参见PCT申请W0 1995/16776和美国专利No.5,580,852(公开了螯抗菌肽的肽衍生物,其抑制真菌植物病原体),以及PCT申请W0 1995/18855和美国专利No. 5,607,914(教导了合成的抗微生物肽,其赋予抗病性)。

[0238] (I) 编码膜透性酶、通道离子载体或通道阻断剂的多核苷酸。例如参见,Jaynes等人,(1993) Plant Sci.89:43公开的杀菌肽- β 溶胞肽类似物的异源表达以使转基因烟草植物对青枯假单胞菌 (*Pseudomonas solanacearum*) 有抗性。

[0239] (J) 编码病毒侵入性蛋白或从中衍生的复合毒素的基因。例如,病毒外壳蛋白在转化的植物细胞中的积累,可赋予对该外壳蛋白基因衍生的病毒以及相关病毒所造成的病毒感染和/或病害发展的抗性。参见Beachy等人,(1990) Ann.Rev.Phytopathol.28:451。外壳蛋白介导的抗性已被赋予转化植物以抵抗苜蓿花叶病毒、黄瓜花叶病毒、烟草条斑病毒、马铃薯X病毒、马铃薯Y病毒、烟草蚀纹病毒、烟草脆裂病毒和烟草花叶病毒(同上)。

[0240] (K) 编码昆虫特异性抗体或从中衍生的免疫毒素的基因。因此,靶向昆虫肠道中的关键代谢功能的抗体将会灭活受影响的酶,从而杀死昆虫。Cf. Taylor等人,第497号摘要,SEVENTH INT'L SYMPOSIUM ON MOLECULAR PLANT-MICROBE INTERACTIONS (Edinburgh, Scotland,1994) (通过产生单链抗体片段对转基因烟草进行酶促灭活)。

[0241] (L) 编码病毒特异性抗体的基因。参见例如,Tavladoraki等人,(1993) Nature 366:469,其显示表达重组抗体基因的转基因植物免于病毒攻击。

[0242] (M) 编码在自然界由病原体或寄生物生成的发育阻滞蛋白的多核苷酸。因此,真菌内切 α -1,4-D-聚半乳糖醛酸酶通过溶解植物细胞壁同型 α -1,4-D-半乳糖醛酸酶而有利于真菌定植和植物营养物释放。See,Lamb等人,(1992) Bio/Technology 10:1436。Toubart等人,(1992) Plant J.2:367描述了编码菜豆内聚半乳糖醛酸酶抑制蛋白的基因的克隆和表征。

[0243] (N) 编码在自然界由植物生成的发育阻滞蛋白的多核苷酸。例如,Logemann等人,(1992) Bio/Technology10:305已表明表达大麦核糖体灭活基因的转基因植物对真菌病害的抗性提高。

[0244] (O) 参与系统获得性抗性(SAR)响应的基因和/或病程相关基因。Briggs,(1995) Current Biology5(2),Pieterse和Van Loon,(2004) Curr.Opin.Plant Bio.7(4):456-64以及Somssich,(2003) Cell 113(7):815-6。

[0245] (P) 抗真菌基因(Cornelissen和Melchers,(1993) Pl.Physiol.101:709-712和Parijs等人,(1991) Planta 183:258-264以及Bushnell等人,(1998) Can.J.of Plant Path.20(2):137-149。还可参见美国专利申请序列号09/950,933、11/619,645、11/657,710、11/748,994、11/774,121以及美国专利6,891,085和No.7,306,946。用于作为抵抗真菌病原体的植物防御反应的第一步而感知几丁质片段的LysM受体样激酶(US 2012/0110696)。

[0246] (Q) 解毒基因, 比如伏马菌素、白僵菌素、串珠镰刀菌素和玉米赤霉烯酮以及它们的结构相关衍生物的解毒基因。例如, 参见美国专利 No. 5, 716, 820; 5, 792, 931; 5, 798, 255; 5, 846, 812; 6, 083, 736; 6, 538, 177; 6, 388, 171 和 6, 812, 380。

[0247] (R) 编码胱抑素和半胱氨酸蛋白酶抑制剂的多核苷酸。参见美国专利 No. 7, 205, 453。

[0248] (S) 防御素基因。参见 WO 2003/000863 以及美国专利 No. 6, 911, 577; 6, 855, 865; 6, 777, 592 和 7, 238, 781。

[0249] (T) 赋予对线虫的抗性的基因。参见例如 PCT 申请 WO 1996/30517; PCT 申请 WO 1993/19181、WO 2003/033651 以及 Urwin 等人, (1998) *Planta* 204:472-479, Williamson, (1999) *Curr Opin Plant Bio.* 2 (4):327-31; 美国专利 No. 6, 284, 948 和 7, 301, 069 及 miR164 基因 (WO 2012/058266)。

[0250] (U) 赋予对疫霉根腐病的抗性的基因, 诸如 Rps 1、Rps 1-a、Rps 1-b、Rps 1-c、Rps 1-d、Rps 1-e、Rps 1-k、Rps 2、Rps 3-a、Rps 3-b、Rps 3-c、Rps 4、Rps 5、Rps 6、Rps 7 和其它 Rps 基因。参见例如, Shoemaker, et al., *Phytophthora Root Rot Resistance Gene Mapping in Soybean*, Plant Genome IV Conference, San Diego, Calif. (1995) (Shoemaker 等人, 大豆中的疫霉根腐病抗性基因作图, 第四届植物基因组大会, 加利福尼亚州圣地亚哥, 1995 年)。

[0251] (V) 赋予对褐茎腐病的抗性的基因, 比如美国专利 No. 5, 689, 035 中所述, 该专利出于此目的以引用方式并入。

[0252] (W) 赋予对炭疽菌 (*Colletotrichum*) 的抗性的基因, 诸如美国专利申请公布 US 2009/0035765 中所述, 该专利出于此目的以引用方式并入。这包括可用作单基因座转换的 Rcg 基因座。

[0253] 2. 赋予对除草剂的抗性的转基因, 例如以下除草剂:

[0254] (A) 编码对抑制生长点或分生组织的除草剂比如咪唑啉酮或磺酰脲的抗性的多核苷酸。这个类别的示例性基因编码突变的 ALS 酶和 AHAS 酶, 例如分别如 Lee 等人, (1988) *EMBO J.* 7:1241 和 Miki 等人, (1990) *Theor. Appl. Genet.* 80:449 所述。另参见美国专利 No. 5, 605, 011; 5, 013, 659; 5, 141, 870; 5, 767, 361; 5, 731, 180; 5, 304, 732; 4, 761, 373; 5, 331, 107; 5, 928, 937 和 5, 378, 824; 美国专利申请序列号 11/683, 737 以及国际专利公布 WO1996/33270。

[0255] (B) 编码对如下物质具有抗性的蛋白的多核苷酸: 草甘膦 (抗性分别由突变的 5-烯醇式丙酮酰-3-磷酸莽草酸合酶 (EPSP) 基因和 *aroA* 基因赋予) 和其它膦酰基化合物如草铵膦 (草丁膦乙酰转移酶 (PAT) 基因和吸水链霉菌 (*Streptomyces hygroscopicus*) 草丁膦乙酰转移酶 (*bar*) 基因) 和吡啶氧基或苯氧基丙酸 (propionic acid) 和环己酮 (cyclohexone) (ACC 酶抑制剂编码基因)。参见例如 Shah 等人的美国专利 No. 4, 940, 835, 其公开了 EPSPS 形式的能赋予草甘膦抗性的核苷酸序列。授予 Barry 等人的美国专利 No. 5, 627, 061 也描述了编码 EPSPS 酶的基因。另参见美国专利 No. 6, 566, 587; 6, 338, 961; 6, 248, 876; 6, 040, 497; 5, 804, 425; 5, 633, 435; 5, 145, 783; 4, 971, 908; 5, 312, 910; 5, 188, 642; 5, 094, 945, 4, 940, 835; 5, 866, 775; 6, 225, 114; 6, 130, 366; 5, 310, 667; 4, 535, 060; 4, 769, 061; 5, 633, 448; 5, 510, 471; Re. 36, 449; RE 37, 287E 和 5, 491, 288, 以及国际专利公

布EP 1173580;WO 2001/66704;EP 1173581和EP 1173582,这些专利出于此目的以引用方式并入本文。草甘膦抗性也被赋予给能表达编码草甘膦氧化还原酶的基因的植物,如美国专利No.5,776,760和5,463,175 中更完全地描述,这些专利出于此目的以引用方式并入本文。另外,可以通过过表达编码草甘膦N-乙酰转移酶的基因向植物赋予草甘膦抗性。参见例如以下各号美国专利:7,462,481;7,405,074 和美国专利申请公布No.US 2008/0234130。编码突变的aroA基因的DNA分子可以以ATCC[®]登录号39256获得,该突变基因的核苷酸序列在授予Comai的美国专利4,769,061中公开。授予 Kumada等人的EP申请No.0 333 033和授予Goodman等人的美国专利No.4,975,374公开了赋予对除草剂(比如L-草丁膦)的抗性的谷氨酰胺合成酶基因的核苷酸序列。草丁膦乙酰转移酶基因的核苷酸序列在授予Leemans等人的EP申请No.0 242 246和0 242 236;De Greef等人,(1989)Bio/Technology7:61中提供,其描述了表达编码草丁膦乙酰转移酶活性的嵌合bar基因的转基因植物的产生。另参见美国专利No.5,969,213;5,489,520; 5,550,318;5,874,265;5,919,675;5,561,236;5,648,477; 5,646,024;6,177,616以及5,879,903,这些专利出于此目的以引用方式并入本文。赋予对苯氧基丙酸和环己酮(诸如烯禾啉和氟吡甲禾灵)的抗性的示例性基因是Marshall等人,(1992)Theor. Appl.Genet.83:435。

[0256] (C) 编码对抑制光合作用的除草剂具有抗性的蛋白的多核苷酸,所述除草剂为诸如三嗪(psbA和gs+基因)和苯甲腈(腈水解酶基因)。Przibilla等人,(1991)Plant Cell 3:169描述了用编码突变的psbA基因的质粒转化衣藻(Chlamydomonas)。腈水解酶基因的核苷酸序列在授予Stalker的美国专利4,810,648中公开,含有这些基因的DNA分子可以以ATCC[®]登录号53435、67441和67442获得。Hayes等人,(1992)Biochem.J.285:173描述了编码谷胱甘肽S-转移酶的DNA的克隆和表达。

[0257] (D) 编码对乙酰羟酸合酶具有抗性的蛋白的多核苷酸,该乙酰羟酸合酶已被发现能使表达这种酶的植物抵抗多种类型的除草剂,其已被引入到多种植物中(参见例如Hattori等人,(1995)Mol Gen Genet.246:419)。赋予除草剂抗性的其它基因包括:编码大鼠细胞色素P4507A1和酵母NADPH-细胞色素P450氧化还原酶的嵌合蛋白的基因(Shiota等人,(1994)Plant Physiol106:17),编码谷胱甘肽还原酶和过氧化物歧化酶的基因(Aono等人,(1995)Plant Cell Physiol 36:1687),以及编码各种磷酸转移酶的基因(Datta等人,(1992)Plant Mol Biol 20:619)。

[0258] (E) 编码对靶向原卟啉原氧化酶(protox)的除草剂的抗性的多核苷酸,原卟啉原氧化酶是产生叶绿素所需的。protox酶充当多种除草化化合物的靶标。这些除草剂还抑制所存在的所有不同植物物种的生长,造成它们全部毁灭。能抵抗这些除草剂的含有改变的原卟啉原氧化酶活性的植物的开发在美国专利6,288,306;6,282,837和 5,767,373以及国际公开W02001/12825中有所描述。

[0259] (F) aad-1基因(最初来自鞘脂单胞菌(Sphingobium herbicidovorans)) 编码芳氧基链烷酸酯双加氧酶(AAD-1)蛋白。该性状赋予对2,4-二氯苯氧基乙酸和芳氧苯氧基丙酸酯(通常称为“fop”除草剂诸如 啶禾灵)除草剂的耐受性。在植物中实现除草剂耐受性的aad-1基因自身首次公开于W0 2005/107437(还可参见US 2009/0093366)。aad-12基因,源自代尔夫特食酸菌(Delftia acidovorans),其编码芳氧基链烷酸酯双加氧酶(AAD-12)蛋白,通过使若干具有芳氧基链烷酸酯部分的除草剂(包括苯氧基生长素(例如,2,4-D、

MCPA) 以及吡啶氧基生长素 (例如, 氟草烟、绿草定) 失活而赋予对 2,4-二氯苯氧基乙酸和吡啶氧基乙酸酯 除草剂的耐受性。

[0260] (G) 编码美国专利申请公布 2003/0135879 中公开的用于赋予麦草畏耐 受性的除草剂抗性麦草畏单加氧酶的多核苷酸;

[0261] (H) 编码美国专利 No. 4,810,648 中公开的用于赋予溴苯腈耐受性的溴 苯腈腈水解酶 (Bxn) 的多核苷酸分子;

[0262] (I) 编码 Misawa 等人, (1993) Plant J. 4:833-840 和 isawa 等人, (1994) Plant J. 6:481-489 中所述的用于实现哒草伏耐受性的八氢番茄红 素 (crt1) 的多核苷酸分子。

[0263] 3. 赋予或促成谷物特性改变的转基因

[0264] 所述特性例如:

[0265] (A) 脂肪酸改变, 例如, 通过以下方式改变:

[0266] (1) 减量调节硬脂酰-ACP 以提高植物的硬脂酸含量。参见 Knultzon 等人, (1992) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:2624 和 WO 1999/64579 (改变玉米中脂质分布的基因);

[0267] (2) 通过 FAD-2 基因修饰使油酸升高和/或通过 FAD-3 基因修饰 使亚麻酸减少 (参见美国专利 No. 6,063,947; 6,323,392; 6,372,965 和 WO 1993/11245)。

[0268] (3) 改变共轭亚麻酸或亚油酸含量, 参见 WO 2001/12800。

[0269] (4) 改变 LEC1、AGP、Dek1、Superall、mil ps、各种 Ipa 基因 (如 Ipa1、Ipa3、hpt 或 hgg1)。例如, 参见 WO 2002/42424、WO1998/22604、WO 2003/011015、WO 2002/057439、WO 2003/011015、美国专利 No. 6,423,886, 6,197,561, 6,825,397 以及美国专利申请公布 No. US 2003/0079247、US 2003/0204870 以及 Rivera-Madrid 等人, (1995) Proc. Natl. Acad. Sci. 92:5620-5624。

[0270] (5) 编码如下的基因: 产生长链多不饱和脂肪酸的 δ -8 去饱和酶 (美国专利 No. 8,058,571 和 8,338,152)、降低饱和脂肪的 δ -9 去饱和酶 (美国专利 No. 8,063,269)、改善 ω -3 脂肪酸 分布的报春花 Δ 6 去饱和酶。

[0271] (6) 与脂质和糖代谢调控相关的分离的核酸和蛋白质, 具体地 讲, 在产生转基因植物和调节种子贮藏化合物 (包括脂质、脂肪酸、淀粉或种子贮藏蛋白) 水平的方法中使用的以及在 调节植物种子大小、种子数量、种子重量、根长和叶片大小 的方法中使用的脂质代谢蛋白 (LMP) (EP2404499)。

[0272] (7) 改变高水平表达糖诱导 2 (HSI2) 蛋白在植物中的表达以提高 或降低 HSI2 在植物中的表达。提高 HSI2 的表达会增加油含 量, 而降低 HSI2 的表达会降低脱落酸敏感性和/或增强抗旱 性 (美国专利申请公布 No. 2012/0066794)。

[0273] (8) 细胞色素 b5 (Cb5) 单独表达或与 FAD2 一起表达以调节植物 种子中的油含量, 尤其是增加 ω -3 脂肪酸的水平并提高 ω -6 与 ω -3 脂肪酸的比率 (美国专利申请公布 No. 2011/0191904)。

[0274] (9) 编码用于调节糖代谢的 wrinkled1 样多肽的核酸分子 (美国 专利 No. 8,217,223)。

[0275] (B) 磷含量改变, 例如, 通过以下方式改变:

[0276] (1) 引入植酸酶编码基因将增强肌醇六磷酸的分解, 从而给转化 植物增加更多的游离磷酸盐。例如, 参见 Van Hartingsveldt 等人, (1993) Gene 127:87, 其公开了黑曲霉

(*Aspergillus niger*) 植酸酶基因的核苷酸序列。

[0277] (2) 调节降低肌醇六磷酸含量的基因。在玉蜀黍中,这例如可通过以下方式来实现:将与一种或多种等位基因如LPA等位基因(在以低水平植酸为特征的玉蜀黍突变株中鉴定到)相关的DNA进行克隆并再引入,如WO 2005/113778所述,和/或改变肌醇激酶活性,如WO 2002/059324、美国专利申请公布No.2003/0009011、WO 2003/027243、美国专利申请公布No.2003/0079247、WO 1999/05298、美国专利No. 6,197,561、美国专利No.6,291,224、美国专利No. 6,391,348、WO 2002/059324、美国专利申请公布No. 2003/0079247、WO 1998/45448、WO 1999/55882、WO 2001/04147中所述。

[0278] (C) 碳水化合物改变,例如通过改变能影响淀粉的分支模式的酶的基因来影响,或者通过改变能改变硫氧还蛋白比如NTR和/或TRX(参见美国专利No.6,531,648,其出于此目的以引用方式并入)和/或 γ 玉米醇溶蛋白敲除或突变体诸如cs27或TUSC27或en27(参见美国专利No.6,858,778以及美国专利申请公布No. 2005/0160488、美国专利申请公布No.2005/0204418,这些专利出于此目的以引用方式并入)的基因来影响。参见Shiroza等人,(1988)J.Bacteriol.170:810(变异链球菌(*Streptococcus mutant*)果糖基转移酶基因的核苷酸序列),Steinmetz等人,(1985)Mol. Gen.Genet.200:220(枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)果聚糖蔗糖酶基因的核苷酸序列),Pen等人,(1992)Bio/Technology 10:292(表达地衣芽孢杆菌(*Bacillus licheniformis*) α -淀粉酶的转基因植物的生产),Elliot等人,(1993)Plant Molec.Biol.21:515(番茄转化酶基因的核苷酸序列),Søgaard等人,(1993)J.Biol. Chem.268:22480(大麦 α -淀粉酶基因的定点诱变)以及Fisher等人,(1993)Plant Physiol.102:1045(玉蜀黍胚乳淀粉分支酶 II),WO 1999/10498(通过修饰UDP-D-木糖4-表异构酶、Fragile 1和2、Ref1、HCHL、C4H改善消化性和/或淀粉提取),美国专利No.6,232,529(通过改变淀粉水平(AGP)来生产高油种子的方法)。本文提到的脂肪酸修饰基因还可用来通过淀粉途径和油途径的相互关系影响淀粉含量和/或组成。

[0279] (D) 抗氧化物含量或组成改变,如生育酚或生育三烯醇的改变。例如,参见涉及抗氧化物水平操纵的美国专利No.6,787,683、美国专利申请公布No.2004/0034886和WO 2000/68393以及通过改变尿黑酸牻牛儿基牻牛儿基转移酶(hggt)的WO 2003/082899。

[0280] (E) 必需种子氨基酸改变。例如,参见美国专利No.6,127,600(提高种子中的必需氨基酸的积累的方法)、美国专利No.6,080,913(提高种子中的必需氨基酸的积累的二元方法)、美国专利No. 5,990,389(高赖氨酸)、WO 1999/40209(改变种子中的氨基酸组成)、WO 1999/29882(改变蛋白质的氨基酸含量的方法)、美国专利No.5,850,016(改变种子中的氨基酸组成)、WO 1998/20133(具有提高的水平的必需氨基酸的蛋白质)、美国专利No.5,885,802(高甲硫氨酸)、美国专利No.5,885,801(高苏氨酸)、美国专利No.6,664,445(植物氨基酸生物合成酶)、美国专利No.6,459,019(赖氨酸和苏氨酸提高)、美国专利No.6,441,274(植物色氨酸合酶 β 亚单位)、美国专利No.6,346,403(甲硫氨酸代谢酶)、美国专利No.5,939,599(高硫)、美国专利No.5,912,414(甲硫氨酸提高)、WO 1998/56935(植物氨基酸生物合成酶)、WO 1998/45458(具有更高百分比的必需氨基酸的工程改造的种子蛋白)、WO 1998/42831(赖氨酸提高)、美国专利No.5,633,436(含硫氨基酸含量提高)、美国专利No. 5,559,223(具有确定的结构、含有可编程的必需氨基酸水平的合成贮藏蛋白,用

来改进植物的营养价值)、WO 1996/01905(苏氨酸提高)、WO 1995/15392(赖氨酸提高)、美国专利申请公布No.2003/0163838、美国专利申请公布No.2003/0150014、美国专利申请公布No.2004/0068767、美国专利No.6,803,498、WO 2001/79516。

[0281] 4.控制雄性不育的基因:

[0282] 有几种方法可用来赋予遗传性雄性不育,比如基因组内单独位置处的赋予雄性不育的多个突变基因,如授予Brar等人的美国专利No.4,654,465和4,727,219中公开,以及染色体易位,如Patterson在美国专利No.3,861,709和3,710,511中所描述。除这些方法以外,Albertsen等人的美国专利No.5,432,068描述了核雄性不育的系统,其包括:鉴定对雄性能育性关键的基因;沉默这个对于雄性能育性关键的天然基因;从该必要的雄性能育性基因移除天然启动子并将其用诱导型启动子替代;将这个经遗传工程改造的基因插回植物中;从而产生雄性不育的植物,因为该诱导型启动子不“启动”而导致该雄性能育性基因不被转录。通过诱导(或“开启”)启动子,其继而允许赋予雄性能育性的基因被转录,来恢复能育性。

[0283] (A)在绒毡层特异性启动子的控制下和在施加化学物质N-Ac-PPT的情况下引入脱乙酰酶基因(WO 2001/29237)。

[0284] (B)引入各种雄蕊特异性启动子(WO 1992/13956、WO 1992/13957)。

[0285] (C)引入芽孢杆菌RNA酶(barnase)和芽孢杆菌RNA酶抑制剂(barstar)基因(Paul等人,(1992)PlantMol.Biol.19:611-622)。

[0286] 核雄性和雌性不育系统以及基因的另外的示例,另参见美国专利No.5,859,341;6,297,426;5,478,369;5,824,524;5,850,014和No.6,265,640,所有这些专利据此以引用方式并入。

[0287] 5.产生用于位点特异性DNA整合的位点的基因。

[0288] 这包括引入可用于FLP/FRT系统中的FRT位点和/或可用于Cre/Loxp系统中的Lox位点。例如,参见Lyznik等人,(2003)Plant Cell Rep 21:925-932和WO 1999/25821,所述文献据此以引用方式并入。其它可使用的系统包括噬菌体Mu的Gin重组酶(Maeser等人,1991年;Vicki Chandler,The Maize Handbook ch.118(Springer-Verlag 1994)(Vicki Chandler,《玉蜀黍手册》,第118章,(斯普林格出版社,1994年))、大肠杆菌的Pin重组酶(Enomoto等人,1983年)以及pSRi质粒的R/RS系统(Araki等人,1992年)。

[0289] 6.影响非生物胁迫抗性的基因

[0290] 包括但不限于开花、穗和种子发育、氮利用率增强、改变的氮响应度、抗旱性或耐旱性、抗寒性或耐寒性和抗盐性或耐盐性、以及胁迫下增加的产量。

[0291] (A)例如,参见:WO 2000/73475,其中通过改变苹果酸盐而改变水利用率;美国专利No.5,892,009,5,965,705,5,929,305,5,891,859,6,417,428,6,664,446,6,706,866,6,717,034,6,801,104、WO 2000/060089、WO 2001/026459、WO 2001/035725、WO 2001/034726、WO 2001/035727、WO 2001/036444、WO 2001/036597、WO 2001/036598、WO 2002/015675、WO 2002/017430、WO 2002/077185、WO 2002/079403、WO 2003/013227、WO 2003/013228、WO 2003/014327、WO 2004/031349、WO 2004/076638、WO 199809521。

[0292] (B)WO 199938977,其描述了能有效减轻严寒、高盐和干旱对植物的不利作用以及赋予植物表型以其它有利作用的基因,包括CBF基因和转录因子。

- [0293] (C) 美国专利申请公布No.2004/0148654和WO 2001/36596,其中植
- [0294] 物中的脱落酸被改变,导致植物表型改善,比如产量提高和/或对非生物胁迫的耐受性提高。
- [0295] (D) WO 2000/006341、WO 2004/090143、美国专利No.7,531,723和6,992,237,其中细胞分裂素表达经修饰,产生具有增强的胁迫耐受性(如耐旱性)和/或增加的产量的植物。还可参见WO 2002/02776、WO 2003/052063、JP 2002/281975、美国专利No.6,084,153、WO 2001/64898、美国专利No.6,177,275和美国专利No.6,107,547(增强氮利用和改变氮响应度)。
- [0296] (E) 有关乙烯改变,参见美国专利申请公布No.2004/0128719、美国专利申请公布No.2003/0166197和WO 2000/32761。
- [0297] (F) 有关植物转录因子或者非生物胁迫的转录调节剂,参见例如美国专利申请公布No.2004/0098764或美国专利申请公布No.2004/0078852。
- [0298] (G) 增加液泡焦磷酸酶的表达的基因,诸如实现产量增加的AVP1(美国专利No.8,058,515);编码HSFA4或HSFA5(A4或A5类的热休克因子)多肽、寡肽转运蛋白(OPT4样)多肽的核酸;plastochron2样(PLA2样)多肽或Wuschel相关的同源盒1样(WOX1样)多肽(美国专利申请公布No.US 2011/0283420)。
- [0299] (H) 编码聚(ADP-核糖)聚合酶(PARP)蛋白的多核苷酸的减量调节以调节程序性细胞死亡(美国专利No.8,058,510)使活力增强。
- [0300] (I) 编码用于赋予抗旱性的DTP21多肽的多核苷酸(美国专利申请公布No.US 2011/0277181)。
- [0301] (J) 编码用于调节发育、调节对胁迫的响应以及调节胁迫耐受性的ACC合成酶3(ACS3)蛋白的核苷酸序列(美国专利申请公布No.US 2010/0287669)。
- [0302] (K) 编码赋予耐旱性表型(DTP)以赋予抗旱性的蛋白的多核苷酸(WO 2012/058528)。
- [0303] (L) 用于赋予耐旱性和耐盐性的生育酚环化酶(TC)基因(美国专利申请公布No.2012/0272352)。
- [0304] (M) 实现胁迫耐受性的CAAX氨基末端家族蛋白(美国专利No.8,338,661)。
- [0305] (N) SAL1编码基因中的突变增强了胁迫耐受性,包括增强的抗旱性(美国专利申请公布No.2010/0257633)。
- [0306] (O) 编码选自如下的多肽的核酸序列的表达:GRF多肽、RAA1样多肽、SYR多肽、ARKL多肽和YTP多肽,增强了产量相关性状(美国专利申请公布No.2011/0061133)。
- [0307] (P) 调节编码III类海藻糖磷酸酶(TPP)多肽的核酸在植物中的表达,以增强植物中的产量相关性状,尤其是增加种子产量(美国专利申请公布No.2010/0024067)。
- [0308] 可将其它影响植物生长和农学性状(比如产量、开花、植物生长和/或植物结构)的基因和转录因子引入或基因渗入植物中,参见如WO 1997/49811(LHY)、WO 1998/56918(ESD4)、WO 1997/10339和美国专利No.6,573,430(TFL)、美国专利No.6,713,663(FT)、WO 1996/14414(CON)、WO 1996/38560、WO 2001/21822(VRN1)、WO 2000/44918(VRN2)、WO 1999/49064(GI)、WO 2000/46358(FR1)、WO 1997/29123、美国专利No.6,794,560、美国专利No.6,307,126(GAI)、WO 1999/09174(D8和Rht)以及WO 2004/076638和WO 2004/031349

(转录因子)。

[0309] 7. 赋予增加的产量的基因

[0310] (A) 由1-氨基环丙烷-1-羧酸脱氨酶样多肽 (ACCDP) 编码核酸所转化的转基因作物, 其中该核酸序列在作物中的表达导致与植物的野生型品种相比, 植物根生长增加和/或产量增加, 和/或对环境胁迫的耐受性增强 (美国专利No. 8, 097, 769)。

[0311] (B) 使用种子优选的启动子过表达玉蜀黍锌指蛋白基因 (Zm-ZFP1) 已显示出能增强植物生长, 增加籽粒数量和单株植物的总籽粒重量 (美国专利申请公布No. 2012/0079623)。

[0312] (C) 玉蜀黍侧生器官边界 (LOB) 结构域蛋白 (Zm-LOBDP1) 的组成性过表达已显示出能增加籽粒数量和单株植物的总籽粒重量 (美国专利申请公布No. 2012/0079622)。

[0313] (D) 通过调节编码VIM1 (甲基化变体1) 样多肽或VTC2样 (GDP-L-半乳糖磷酸化酶) 多肽或DUF1685多肽或ARF6样 (生长素响应因子) 多肽的核酸在植物中的表达来增强植物中的产量相关性 (WO 2012/038893)。

[0314] (E) 调节编码Ste20样多肽或其同源物的核酸在植物中的表达得到相对于对照植物具有增加的产量的植物 (EP 2431472)。

[0315] (F) 编码用于改变植物根构型的二磷酸核苷激酶 (NDK) 多肽及其同源物的基因 (美国专利申请公布No. 2009/0064373)。

[0316] 8. 赋予植物消化性的基因。

[0317] (A) 通过调节木聚糖合酶的表达来改变存在于植物细胞壁中的木聚糖的水平 (美国专利No. 8, 173, 866)。

[0318] 在一些实施方案中, 堆叠的性状可为得到监管批准的性状或事件, 包括但不限于为本领域技术人员所熟知并且可见于环境风险评估中心 (cera-gmc.org/?action=gm_crop_database, 可使用www前缀对其进行访问) 和国际农业生物技术应用服务组织 (International Service for the Acquisition of Agri-Biotech Applications) (isaaa.org/gmapprovaldatabase/default.asp, 可使用www前缀对其进行访问) 的得到监管批准的事件。

[0319] 基因沉默

[0320] 在一些实施方案中, 堆叠性状可为一种或多种目的多核苷酸的沉默形式, 从而造成对一种或多种靶标害虫多肽的抑制。在一些实施方案中, 所述沉默通过使用抑制DNA构建体而实现。

[0321] 在一些实施方案中, 一种或多种编码PtIP-96多肽或其片段或变体的多肽的多核苷酸可与如上文所述的编码具有杀昆虫活性或农学性状的一种或多种多肽的一种或多种多核苷酸堆叠, 并且任选地还可包含使如下文讨论的一种或多种靶多核苷酸发生基因沉默的一种或多种多核苷酸。

[0322] “抑制DNA构建体”是这样的重组DNA构建体, 其在转化或稳定整合到植物的基因组中时导致植物中靶基因的“沉默”。靶基因对于植物可为内源的或转基因的。如本文相对于靶基因所用的“沉默”一般是指对由靶基因表达的mRNA或蛋白/酶的水平 and/或酶活性或蛋白功能的水平的抑制。术语“抑制”包括降低、减少、下降、减小、抑制、消除和防止。“沉默”或“基因沉默”并无特定机制, 并且包括但不限于反义、共抑制、病毒抑制、发夹抑制、

茎-环抑制、基于RNAi的方法以及基于小RNA的方法。

[0323] 抑制DNA构建体可包含源自目的靶基因的区域,并且可包含目的靶基因的有义链(或反义链)的全部或部分核酸序列。根据将要采用的方法,该区域可与目的基因的全部或部分有义链(或反义链)100%相同或少于100%相同(例如,至少50%相同或51%与100%相同之间的任何整数)。

[0324] 抑制DNA构建体是本领域熟知的,易于在选择目的靶基因后进行构建,并且包括但不限于共抑制构建体、反义构建体、病毒抑制构建体、发夹抑制构建体、茎-环抑制构建体、产生双链RNA的构建体,以及更一般地, RNAi (RNA干扰) 构建体和小RNA构建体诸如 siRNA (短干扰 RNA) 构建体和 miRNA (微RNA) 构建体。

[0325] “反义抑制”是指产生能够抑制靶蛋白的表反义RNA转录物。

[0326] “反义RNA”是指与靶初级转录物或mRNA的全部或部分互补,并且能阻断靶分离核酸片段的表达的RNA转录物(美国专利No. 5,107,065)。反义RNA的互补性可存在于特定基因转录物的任何部分,即在5'非编码序列、3'非编码序列、内含子或者编码序列。

[0327] “共抑制”是指产生能够抑制靶蛋白的表反义RNA转录物。“有义”RNA是指包括该mRNA并且可在细胞内或者在体外被翻译成蛋白质的RNA转录物。此前,植物中的共抑制构建体的设计是通过聚焦与天然mRNA具有同源性的核酸序列在有义取向上的过表达,使得所有与过表达序列具有同源性的RNA减少(参见Vaucheret等人,(1998) Plant J. 16: 651-659和Gura,(2000) Nature 404:804-808)。

[0328] 另一种变型描述了植物病毒序列用于引导近端mRNA编码序列的抑制的用途(PCT公布WO 1998/36083)。

[0329] 最近的研究已描述了“发夹”结构的用途,所述“发夹”结构掺入了互补取向的全部或部分mRNA编码序列,从而使所表达的RNA产生可能的“茎-环”结构(PCT公布WO 1999/53050)。在这种情况下,茎由与相对于启动子在有义或反义取向上插入的目的基因相对应的多核苷酸形成,并且环由目的基因的在构建体中不具有互补序列的一些多核苷酸形成。这增加了恢复的转基因植物中共抑制或沉默的频率。有关发夹抑制的综述,参见Wesley等人,(2003) Methods in Molecular Biology, Plant Functional Genomics: Methods and Protocols 236:273-286。

[0330] 一种构建体也已经有效地用于抑制,该构建体的茎由至少30个来自待抑制的基因的核苷酸形成,而环由随机的核苷酸序列形成的(PCT公布WO 1999/61632)。

[0331] 多聚T和多聚A序列用于建立茎-环结构中的茎的用途也有所描述(PCT公布WO 2002/00894)。

[0332] 又一种变型包括,使用合成的重复序列来促进茎-环结构中的茎的形成。已经证实,用这样的重组DNA片段制备的转基因生物体具有降低水平的蛋白,该蛋白由形成环的核苷酸片段编码,如PCT公布WO 2002/00904所述。

[0333] RNA干扰是指由短干扰RNA (siRNA) 介导的动物中序列特异性的转录后基因沉默的过程(Fire等人,(1998) Nature 391:806)。植物中的相应过程通常称作转录后基因沉默(PTGS)或RNA沉默,而在真菌中也称作压制(quelling)。转录后基因沉默的过程被认为是用于阻止外来基因的表达的进化上保守的细胞防御机制,并且通常由不同的植物区系和门共有(Fire等人,(1999) Trends Genet. 15:358)。这种防止外来基因表达的保护可能是

响应于双链RNA (dsRNA) 的生成而逐渐形成,所述双链RNA源自病毒感染,或源自通过特异性破坏病毒基因组RNA的同源单链RNA的细胞反应 而将转座子元件随机整合到宿主基因组中。dsRNA在细胞中的存在会通过 有待充分表征的机制触发RNAi响应。

[0334] 长dsRNA在细胞中的存在会刺激称作切丁酶 (dicer) 的核糖核酸酶III酶 的活性。切丁酶参与了将dsRNA加工成为称作短干扰RNA (siRNA) 的 dsRNA短片段的过程 (Berstein 等人, (2001) Nature 409:363)。由切丁酶 的作用得到的短干扰RNA的长度通常是约21至约23个核苷酸,并且包含 约19碱基对的双链体 (Elbashir等人, (2001) Genes Dev. 15:188)。切丁酶 也涉及从参与翻译控制的保守结构的前体RNA中切除21-核苷酸和22-核苷酸的小时序RNA (stRNA) (Hutvagner等人, (2001) Science 293:834)。RNAi反应也表征了通常称作RNA诱导的沉默复合物 (RISC) 的内切核酸酶 复合物,其介导与siRNA双链体的反义链具有序列互补性的单链RNA的裂解。靶RNA的裂解发生在与siRNA双链体的反义链互补的区域的中间 (Elbashir等人, (2001) Genes Dev. 15:188)。另外, RNA干扰也可以涉及 小RNA (例如, miRNA) 介导的基因沉默,据推测是通过调控染色质结构 的细胞机制,从而阻止靶基因序列的转录 (参见例如, Allshire, (2002) Science 297:1818-1819; Volpe等人, (2002) Science 297:1833-1837; Jenuwein, (2002) Science 297:2215-2218和Hall等人, (2002) Science 297:2232-2237)。这样,本公开的miRNA分子可用于通过与RNA转录物 的相互作用或通过与特定基因序列的相互作用而介导基因沉默,其中这样 的相互作用导致在转录或转录后层面的基因沉默。

[0335] 还提供了使由沉默元件产生的RNAi增加的方法和组合物。在此类实 施方案中,所述方法和组合物采用第一多核苷酸和第二多核苷酸,所述第 一多核苷酸包含可操作地连接至在植物细胞中有活性的启动子的靶标害虫 序列沉默元件;所述第二多核苷酸包含可操作地连接至在植物细胞中有活 性的启动子的抑制增强元件,所述抑制增强元件包含靶标害虫序列或其活 性变体或片段。沉默元件与抑制增强元件的联合表达使得由沉默元件 产生的抑制性RNA的扩增较仅单独使用沉默元件表达可实现的扩增有所增加。除增强特 定RNAi物质本身的扩增之外,所述方法和组合物还允许产生不 同种群的RNAi物质,其可增强干扰靶基因表达的效力。因此,当在植物 细胞中结合沉默元件表达抑制增强元件时,所述方法和组合物可允许整个 植物系统性产生RNAi;与仅单独使用沉默元件构建体观察到的 相比产生更 大量的RNAi;并且改善将RNAi载入植物的韧皮部中,因而通过RNAi方 法对 进食韧皮部的昆虫提供更好的防治。因此,各种方法和组合物提供了 将抑制性RNA递送至 靶生物体的改善方法。参见例如美国专利申请公布 2009/0188008。

[0336] 如本文所用,“抑制增强元件”包含多核苷酸,所述多核苷酸包含待 抑制的靶序列或其活性片段或变体。已认识到,抑制增强元件无需与靶序 列相同,相反,抑制增强元件可以包含靶序列的变体,只要抑制增强元件 与靶序列具有足够的序列同一性,从而允许与仅使用沉默元件表达可实现 的相比,由沉默元件产生的RNAi的水平提高。类似地,抑制增强 元件可 包含靶序列的片段,其中片段具有足够长度从而允许与仅使用沉默元件表 达可实现 的相比,由沉默元件产生的RNAi的水平提高。

[0337] 已认识到,可采用来自相同靶序列或来自不同靶序列或来自相同靶序 列的不同 区域的多个抑制增强元件。例如,所采用的抑制增强元件可以包 含源自靶序列的不同区域 的靶序列片段 (即,源自3'UTR、编码序列、内 含子和/或5'UTR)。此外,如本文别处所述,抑

制增强元件可被包含在表达盒中,并且在具体的实施方案中,抑制增强元件是在相同或不同的DNA载体或构建体上作为沉默元件。抑制增强元件可以可操作地连接至本文公开的启动子。已认识到,抑制增强元件可以组成型表达,或者,它可以通过使用在本文别处讨论的各种诱导型、或组织优选的或发育调控的启动子以阶段特异性的方式产生。

[0338] 在具体的实施方案中,采用沉默元件和抑制增强元件两者时,RNAi的系统性产生贯穿整个植物。在另一个实施方案中,与单独使用沉默元件构建体表达所观察到的相比,本公开的植物或植物部分改善了将RNAi载入植物的韧皮部中,因而通过RNAi方法对进食韧皮部的昆虫提供更好的防治。在具体的实施方案中,本公开的植物、植物部分和植物细胞的特征还可以是,允许能增强干扰靶基因表达效力的多样性的RNAi物质的产生。

[0339] 在具体的实施方案中,与沉默元件单独表达时所实现的水平相比,沉默元件和抑制增强元件的联合表达增加了植物细胞、植物、植物部分、植物组织或韧皮部的抑制性RNA的浓度。

[0340] 如本文所用,“抑制性RNA水平增加”包括,与合适的对照植物相比,在具有联合表达的植物中产生的RNAi的水平任何统计学上显著的增加。例如,植物、植物部分或植物细胞中RNAi水平增加可包括,与合适的对照相比,植物、植物部分、植物细胞或韧皮部中的RNAi水平增加至少约1%、约1%-5%、约5%-10%、约10%-20%、约20%-30%、约30%-40%、约40%-50%、约50%-60%、约60%-70%、约70%-80%、约80%-90%、约90%-100%或更高。在其它实施方案中,植物、植物部分、植物细胞或韧皮部中的RNAi水平增加可包括,与合适的对照物相比,植物、植物部分、植物细胞或韧皮部中的RNAi水平增加至少约1倍、约1倍-5倍、约5倍-10倍、约10倍-20倍、约20倍-30倍、约30倍-40倍、约40倍-50倍、约50倍-60倍、约60倍-70倍、约70倍-80倍、约80倍-90倍、约90倍-100倍或更高。用于防治椿象和草盲蝽的沉默元件与抑制增强元件的联合表达的示例可见于美国专利申请公布2011/0301223和美国专利申请公布2009/0192117。

[0341] 一些实施方案涉及通过干扰核糖核酸(RNA)分子来减量调节昆虫害虫物种中靶基因的表达。PCT公布WO 2007/074405描述了抑制无脊椎害虫(包括科罗拉多马铃薯甲虫)中的靶基因的表达的方法。PCT公布WO 2005/110068描述了作为防治昆虫侵染的一种方式而抑制无脊椎害虫(尤其包括西方玉米根虫)中的靶基因的表达的方法。此外,PCT公布WO 2009/091864描述了用于抑制来自昆虫害虫物种(包括来自草盲蝽属的害虫)的靶基因的组合物和方法。核酸分子,包括用于靶向空泡型ATP酶H亚基的RNAi,可用于防治鞘翅目害虫种群和侵染,如美国专利申请公布2012/0198586中所述。PCT公开WO 2012/055982描述了抑制或减量调节靶基因的表达的核糖核酸(RNA或双链RNA),该靶基因编码:昆虫核糖体蛋白,例如核糖体蛋白L19、核糖体蛋白L40或核糖体蛋白S27A;昆虫蛋白酶体亚基,比如Rpn6蛋白、Pros 25、Rpn2蛋白、蛋白酶体 β 1亚基蛋白或Pros β 2蛋白;COPI囊泡的昆虫 β -外被体、COPI囊泡的 γ -外被体、COPI囊泡的 β' -外被体蛋白或 ζ -外被体;昆虫四次跨膜蛋白2A(Tetraspanine 2A)蛋白,其是推定的跨膜结构域蛋白;属于肌动蛋白家族的昆虫蛋白,诸如肌动蛋白5C;昆虫泛素-5E蛋白;昆虫Sec23蛋白,其是参与胞内蛋白质转运的GTP酶激活物;昆虫皱缩蛋白(crinkled protein),其是参与肌动活动(motor activity)的非常规肌球蛋白;昆虫歪脖蛋白,其参与细胞核选择性mRNA剪接的调控;昆虫空泡型H⁺-ATP酶G亚基蛋白以及昆虫Tbp-1,比如Tat结合蛋白。美国专利申请公布2012/029750、US

20120297501和2012/0322660描述了干扰核糖核酸(RNA或双链RNA)，其在被昆虫害虫物种摄入后起减量调节所述昆虫害虫中靶基因的表达的作 用,其中所述RNA包含至少一个沉默元件,其中所述沉默元件为双链 RNA区域,所述双链RNA区域包含退火的互补链,其中的一条链包含与 靶基因内的靶核苷酸序列至少部分互补的核苷酸序列或由其组成。美国专 利申请公开2012/0164205描述了干扰双链核糖核酸以抑制无脊椎害虫的潜 在靶标,包括: Chd3同源序列、 β 微管蛋白同源序列、40kDa V-ATP酶同 源序列、EF1 α 同源序列、26S蛋白酶体亚基p28同源序列、保幼激素环氧化 物水解酶同源序列、依赖溶胀的氯通道蛋白同源序 列、葡萄糖-6-磷酸1- 脱氢酶蛋白同源序列、Act42A蛋白同源序列、ADP-核糖基化因子1同 源序 列、转录因子Iib蛋白同源序列、几丁质酶同源序列、泛素缀合酶同源序 列、甘油醛-3-磷酸脱氢酶同源序列、泛素B同源序列、保幼激素酯酶同源 物、以及 α 微管蛋白同源序列。

[0342] 杀虫防治的用途

[0343] 将包含所述实施方案的核酸序列或其变体的菌株用于杀虫剂控制或用 于将其它生物体工程改造为杀虫剂的一般方法在本领域中是已知的。参见 例如美国专利No.5,039,523和EP 0480762A2。

[0344] 可选择已知会占领一种或者多种所关注作物的“植物圈”(叶面、叶 圈、根际和/或根面)的微生物宿主。选择这些微生物以便能够在特定环境 中成功地与野生型微生物竞争,提供表达PtIP-96多肽的基因的 稳定维持和 表达,并且理想的是,提供对该杀虫剂的改善保护使其不受环境降解和失 活。

[0345] 或者,通过将异源基因引入细胞宿主中来产生PtIP-96多肽。异源基因 的表达直接或间接导致该杀虫剂的胞内产生和维持。然后将这些细胞在当 将细胞施用于靶标害虫的环境时能延长该产生的毒素在细胞中的活性的条 件下进行处理。所得的产物保持该毒素的毒性。然后可按照常规技术配制 这些天然封装的PtIP-96多肽以便施用于靶标害虫的 寄生环境,例如土壤、水和植物的叶。参见例如EPA 0192319,以及其中引用的参考文献。

[0346] 杀虫组合物

[0347] 在一些实施方案中,活性成分可以组合物的形式施用,并且可以同时 或相继地与其它化合物一起施用于待处理的作物区域或植物。这些化合物 可以是肥料、除草剂、冷冻保护剂、表面活性剂、洗涤剂、杀虫皂、休眠 油、聚合物和/或定时释放或可生物降解的载体 制剂,其允许在单次施用所 述制剂后对靶区域进行长期给药。它们还可以是选择性除草 剂、化学杀昆 虫剂、杀病毒剂、杀微生物剂、杀变形虫剂、杀虫剂、杀真菌剂、杀细菌 剂、杀线虫剂、杀软体动物剂或几种这些制剂的混合物,如果需要,还与 其它农业上可接受的载 体、表面活性剂或在配制领域中通常使用的促进施 用的助剂一起使用。合适的载体和助剂 可以是固体或者液体,并对应于通 常用于配制技术中的物质,例如天然或者再生的矿 物质、溶剂、分散剂、湿润剂、增粘剂、粘合剂或者肥料。同样地,可将所述制剂制备成可食用的 “诱饵”或塑造成害虫“陷阱”,以允许靶标害虫摄食或摄取所述杀虫 制剂。

[0348] 施用活性成分或农业化学组合物(包含至少一种由细菌菌株产生的 PtIP-96多 肽)的方法包括叶面施用、种子包衣和土壤施用。施用次数和施 用率取决于相应害虫侵染 的强度。

[0349] 可以将组合物配制成粉剂、散剂、小丸剂、颗粒剂、喷雾剂、乳剂、胶体剂、溶液剂 等,并且可以通过常规方法,例如包含所述多肽的细胞培 养物的干燥、冻干、均质化、提取、

过滤、离心、沉淀或浓缩来制备所述 组合物。在包含至少一种此类杀虫多肽的所有这些组合物中,所述多肽可 以约1重量%到约99重量%的浓度存在。

[0350] 可通过本发明的方法在给定区域内杀死鳞翅目、双翅目、异翅目、线 虫、半翅目或鞘翅目害虫或减少其数目,或者可将本发明的方法预防性地 应用于环境区域以防止被易感害虫侵染。优选地,害虫摄取杀虫有效量的 多肽,或与杀虫有效量的多肽接触。如本文所用,“杀虫有效量”是指这 样的杀虫剂的量,所述量能够引起至少一只害虫死亡,或者明显减少害虫 生长、取食或正常的生理发育。该量将随下列因素而变化:例如,待防治 的特定的靶标害虫,待处理的特定的环境、地点、植物、作物或农业场 所,环境条件,以及施用杀虫有效的多肽组合物的方法、速率、浓度、稳 定性和数量。所述制剂还可以随气候条件、环境考虑和/或施用频率和/或害 虫侵染的严重程度而变化。

[0351] 可通过将细菌细胞、晶体和/或孢子悬浮液或者分离的蛋白质组分与所 需的农业上可接受的载体配制在一起来制备所述的杀虫剂组合物。在施用 前,可以合适的方法例如冻干、冷冻干燥、干燥,或者在水性载体、介质 或合适稀释剂例如盐水或其它的缓冲液中配制所述组合物。配制的组合物 可以为粉尘或颗粒材料的形式,或者在油(植物或矿物油)中的 悬浮液的 形式,或者水或油/水乳剂的形式,或者作为可润湿的粉剂,或者与适合于 农业应用的任何其它载体材料相组合。合适的农业载体可以是固体或液 体,并且是本领域熟知的。术语“农业上可接受的载体”包括通常用于杀 虫剂配制技术的所有助剂、惰性组分、分散剂、表面活性剂、增粘剂、粘 合剂等;这些对于杀虫剂配制领域的技术人员来说是熟知的。所述制剂可 以与一种或多种固体或液体助剂相混合,并且可以通过多种方法来制备, 例如通过使用常规配制技术将杀虫组合物与合适的助剂一起均匀地混合、 共混和/或研磨。合适的制剂和施用方法描述于美国专利No.6,468,523中, 其以引用方式并入本文。还可以用一种或多种化学组合物来处理植物,这 些化学组合物包括一种或多种除草剂、杀昆虫剂或杀真菌剂。示例性的化 学组合物包括:果实/蔬菜类除草剂:莠去津、除草定、敌草隆、草甘膦、 利谷隆、嗉草酮、西玛津、氟乐灵、吡氟禾草灵、草铵膦、氯吡嘧磺隆 (Gowan公司)、百草枯、炔苯酰草胺、烯禾啶、氟丙嘧草酯、氯吡嘧磺 隆、三嗪茚草胺(Indaziflam);果实/蔬菜类杀昆虫剂:涕灭威、转苏云金芽 孢杆菌(*Bacillus thuriangiensis*)、甲萘威、克百威、毒死蜱、氯氰菊酯、溴 氰菊酯、二嗪磷、马拉硫磷、阿维菌素、氟氯氰菊酯/ β -氟氯氰菊 酯、高效 氰戊菊酯、 λ -三氟氯氰菊酯、灭螨醌、联苯肼酯、甲氧虫酰胺、双苯氟 脲、环虫酰 肼、噻虫啉、呋虫胺、啉啉酯、啉啉酰胺、噻虫胺、螺螨酯、 γ - 三氟氯氰菊酯、螺甲螨酯、多杀 菌素、氯虫酰胺、氰虫酰胺、乙基多杀菌 素(Spinoteram)、杀铃脲、螺虫乙酯、吡虫啉、氟虫 双酰胺、硫双威、氰氟 虫脒、氟啉虫酰胺、丁氟螨酯、腈吡啉酯(Cyanopyrafen)、吡虫啉、可 尼 丁、噻虫嗪、乙基多杀菌素、硫双威、氟啉虫酰胺、甲硫威、因灭汀-苯甲 酸盐、茚虫威、噻 啉啉(Forthiazate)、苯线磷、硫线磷、吡丙醚、苯丁锡氧 化物、噻螨酮(Hexthiazox)、灭多 威、4-[[(6-氯吡啶-3-基) 甲基] (2,2-二氟乙基) 氨基] 呋喃-2 (5H) -酮;果实/蔬菜类杀真 菌剂:多菌灵、百菌清、EBDC、硫、甲基硫菌灵、啉菌酯、霜脲氰、氟啉胺、三乙膦酸、异菌脲、 醚菌 酯、甲霜灵/精甲霜灵、肟菌酯、噻唑菌胺、丙森锌、肟菌酯、环酰菌胺、富马酸恶咪唑、 赛座灭、咪唑菌酮、苯酰菌胺、啉菌酯、吡啉醚菌酯、环氟菌胺、啉酰菌胺;谷类除草剂:异 丙隆、溴苯腈、碘苯腈、苯氧基 类、氯磺隆、炔草酯、禾草灵、氟虫腈、精恶唑禾草灵、双氟磺 草胺、氟 草烟、甲磺隆、醚苯磺隆、氟酮磺隆、碘甲磺隆、丙苯磺隆、氟吡酰草 胺、甲基二磺

隆、氟丁酰草胺、唑啉草酯、酰嘧磺隆、噻磺隆、苯磺隆、氟啶嘧磺隆、磺酰磺隆、磺酰草吡啶、甲氧磺草胺、氟噻草胺、三甲苯草酮、吡咯磺隆(Pyroxasulfon);谷类杀真菌剂:多菌灵、百菌清、嘧菌酯、环唑醇、嘧菌环胺、丁苯吗啉、氟环唑、醚菌酯、啶氧灵、戊唑醇、肟菌酯、硅氟唑、啶氧菌酯、吡唑醚菌酯、醚菌胺、丙硫菌唑、氟嘧菌酯;谷类杀昆虫剂:乐果、 λ -氟氯氰菊酯、溴氰菊酯、 α -氯氰菊酯、 β -氟氯氰菊酯、联苯菊酯、吡虫啉、噻虫胺、噻虫嗪、噻虫啉、啉虫脒、呋虫胺、毒死蜱、甲胺磷、乙酰甲胺磷(Oxidemethon-methyl)、抗蚜威、甲硫威;玉蜀黍除草剂:莠去津、甲草胺、溴苯腈、乙草胺、麦草畏、二氯吡啶酸、(S-)二甲吩草胺、草铵膦、草甘膦、异恶唑草酮、(S-)异丙甲草胺、甲基磺草酮、烟嘧磺隆、氟嘧磺隆、砒嘧磺隆、磺草酮、甲酰胺磺隆、苯吡唑草酮、环磺酮、嘧啶肟草醚、噻酮磺隆、氟噻草胺、吡咯磺隆;玉蜀黍杀昆虫剂:克百威、毒死蜱、联苯菊酯、氟虫腈、吡虫啉、 λ -氯氟氰菊酯、七氟菊酯、特丁磷、噻虫嗪、噻虫胺、螺甲螨酯、氟虫酰胺、杀铃脲、氯虫酰胺、溴氰菊酯、硫双威、 β -氟氯氰菊酯、氯氟菊酯、联苯菊酯、虱螨脲、杀铃脲(Triflumoron)、七氟菊酯、啉丙磷、乙虫腈、氟虫酰胺、噻虫啉、啉虫脒、呋虫胺、阿维菌素、甲硫威、螺螨酯、螺虫乙酯;玉蜀黍杀真菌剂:种衣酯、福美双、丙硫菌唑、戊唑醇、肟菌酯;水稻除草剂:丁草胺、敌稗、四唑嘧磺隆、苄嘧磺隆、氰氟草酯、杀草隆、四唑酰草胺、咪唑磺隆、苯噻草胺、去稗安、吡嘧磺隆、稗草丹、二氯喹啉酸、禾草丹、茚草酮、氟噻草胺、四唑酰草胺、氯吡嘧磺隆、恶嗪草酮、苯并双环酮、环酯草醚、五氟磺草胺、双草醚、丙炔恶草酮、乙氧嘧磺隆、丙草胺、甲基磺草酮、特糠酯酮、恶草酮(Oxadiazone)、精恶唑禾草灵、吡丙醚;水稻杀昆虫剂:二嗪磷、杀螟硫磷、仲丁威、久效磷、丙硫克百威、噻嗪酮、呋虫胺、氟虫腈、吡虫啉、异丙威、噻虫啉、环虫酰胺、噻虫啉、呋虫胺、噻虫胺、乙虫腈、氟虫双酰胺、氯虫酰胺、溴氰菊酯、啉虫脒、噻虫嗪、氟虫酰胺、多杀菌素、乙基多杀菌素、因灭汀-苯甲酸盐、氯氟菊酯、毒死蜱、杀螟丹、甲胺磷、醚菊酯、三唑磷、4-[[(6-氯吡啶-3-基) 甲基] (2,2-二氟乙基) 氨基] 呋喃-2 (5H) -酮、克百威、丙硫克百威;水稻杀真菌剂:甲基硫菌灵、嘧菌酯、环丙酰菌胺、敌瘟磷、嘧菌胺、异稻瘟净、稻瘟灵、戊菌隆、噻菌灵、咯嗪酮、三环唑、肟菌酯、双氯氰菌胺、氰菌胺、硅氟唑、噻酰菌胺;棉花除草剂:敌草隆、氟草隆、MSMA、乙氧氟草醚、扑草净、氟乐灵、唑草酮、烯草酮、丁基吡氟禾草灵、草甘膦、氟草敏、二甲戊灵、嘧草硫醚、三氟啶磺隆、得杀草、草铵膦、丙炔氟草胺、噻苯隆;棉花杀昆虫剂:乙酰甲胺磷、涕灭威、毒死蜱、氯氟菊酯、溴氰菊酯、马拉硫磷、久效磷、阿维菌素、啉虫脒、因灭汀-苯甲酸盐、吡虫啉、茚虫威、 λ -氟氯氰菊酯、多杀菌素、硫双威、 γ -氟氯氰菊酯、螺甲螨酯、啉虫丙醚、氟啶虫酰胺、氟虫双酰胺、杀铃脲、氯虫酰胺、 β -氟氯氰菊酯、螺虫乙酯、噻虫胺、噻虫嗪、噻虫啉、呋虫胺、氟虫双酰胺、氟虫酰胺、多杀菌素、乙基多杀菌素、 γ -氟氯氰菊酯、4-[[(6-氯吡啶-3-基) 甲基] (2,2-二氟乙基) 氨基] 呋喃-2 (5H) -酮、硫双威、阿维菌素、氟啶虫酰胺、啉虫丙醚、螺甲螨酯、氟啶虫胺腈、丙溴磷、三唑磷、硫丹;棉花杀真菌剂:土菌灵、甲霜灵、五氯硝基苯;大豆除草剂:甲草胺、灭草松、氟乐灵、氯嘧磺隆、氯酯磺草胺、精恶唑禾草灵、氟磺胺草醚、吡氟禾草灵、草甘膦、甲氧咪草烟、灭草嗪、咪草烟、(S-)异丙甲草胺、噻草酮、二甲戊灵、得杀草、草铵膦;大豆杀昆虫剂: λ -氟氯氰菊酯、灭多威、对硫磷、硫双威(Thiocarb)、吡虫啉、噻虫胺、噻虫嗪、噻虫啉、啉虫脒、呋虫胺、氟虫酰胺、氯虫酰胺、氟虫酰胺、多杀菌素、乙基多杀菌素、因灭汀-苯甲酸盐、氟虫腈、乙虫腈、溴氰菊酯、 β -氟氯氰菊酯、 γ 和 λ 氟氯氰菊酯、4-[[(6-氯吡啶-3-基) 甲基] (2,2-二氟乙基) 氨基] 呋喃-2 (5H) -酮、螺虫乙酯、螺螨酯、杀铃脲、氟啶虫酰胺、硫双威、 β -

氟氯氰菊酯;大豆杀真菌剂:嘧菌酯、环唑醇、氟环唑、粉唑醇、吡唑醚菌酯、戊唑醇、肟菌酯、丙硫菌唑、四氟醚唑;甜菜除草剂:氯草敏、甜菜安、甜菜味、甜菜宁、野麦畏、二氯吡啶酸、吡氟禾草灵、环草定、苯嗪草酮、喹草酸、噻草酮、氟胺磺隆、得杀草、喹禾灵;甜菜杀昆虫剂:吡虫啉、噻虫胺、噻虫嗪、噻虫啉、啶虫脒、呋虫胺、溴氰菊酯、β-氟氯氰菊酯、γ/λ氯氟氰菊酯、4-[[(6-氯吡啶-3-基) 甲基] (2,2-二氟乙基) 氨基] 呋喃-2 (5H) -酮、七氟菊酯、氯虫酰胺、氰虫酰胺、氟虫腈、克百威;卡诺拉油菜除草剂:二氯吡啶酸、禾草灵、吡氟禾草灵、草铵膦、草甘膦、吡草胺、氟乐灵胺苯磺隆、喹草酸、喹禾灵、烯草酮、得杀草;卡诺拉油菜杀真菌剂:嘧菌酯、多菌灵、咯菌腈、异菌脲、咪鲜胺、乙烯菌核利;卡诺拉油菜杀昆虫剂:克百威、有机磷酸酯类、除虫菊酯、噻虫啉、溴氰菊酯、吡虫啉、噻虫胺、噻虫嗪、啶虫脒、呋虫胺、β-氟氯氰菊酯、γ和λ氯氟氰菊酯、氟胺氰菊酯(tau-Fluvaleriate)、乙虫腈、多杀菌素、乙基多杀菌素、氟虫双酰胺、氯虫酰胺、氰虫酰胺、4-[[(6-氯吡啶-3-基) 甲基] (2,2-二氟乙基) 氨基] 呋喃-2 (5H) -酮。

[0352] 在一些实施方案中,除草剂是莠去津、除草定、敌草隆、氯磺隆、甲磺隆、噻吩磺隆、苯磺隆、乙草胺、麦草畏、异恶唑草酮、烟嘧磺隆、砒啶磺隆、噻草硫醚、丙炔氟草胺、氯嘧磺隆、噻草酮、喹禾灵、S-异丙甲草胺、环嗪酮(Hexazinne)或它们的组合。

[0353] 在一些实施方案中,杀昆虫剂是高效氰戊菊酯、氯虫苯甲酰胺、灭多威、茚虫威、杀线威或它们的组合。

[0354] 杀虫和杀昆虫活性

[0355] “害虫”包括但不限于昆虫、真菌、细菌、线虫、螨虫、壁虱等等。昆虫害虫包括选自以下各目的昆虫:鞘翅目、双翅目、膜翅目(Hymenoptera)、鳞翅目、食毛目(Mallophaga)、同翅目(Homoptera)、半翅目、直翅目(Orthoptera)、缨翅目(Thysanoptera)、革翅目(Dermoptera)、等翅目(Isoptera)、虱目(Anoplura)、蚤目(Siphonaptera)、毛翅目(Trichoptera)等,特别是鳞翅目和鞘翅目。

[0356] 本领域技术人员会认识到,并不是所有的化合物都对所有的害虫同等有效。本发明实施方案的化合物显示出对昆虫害虫的活性,这些昆虫害虫可包括经济上重要的农业害虫、森林害虫、温室害虫、苗圃害虫、观赏植物害虫、食物和纤维害虫、公共卫生和动物卫生害虫、家庭和商业设施害虫、居室害虫和仓储害虫。

[0357] 鳞翅目的幼虫包括但不限于夜蛾科(Noctuidae)的行军虫、切根虫、尺蠖和棉铃虫,Spodoptera frugiperda JE Smith(秋粘虫);S.exigua Hübner(甜菜夜蛾);斜纹贪夜蛾(S.litura Fabricius)(斜纹夜蛾、茶虫);Mamestra configurata Walker(披肩粘虫);甘蓝夜蛾(M.brassicae Linnaeus)(cabbage moth);Agrotis ipsilon Hufnagel(小地老虎);灰地老虎(A.orthogonia Morrison)(西部地老虎);粒肤地老虎(A.subterranea Fabricius)(粒肤地蚕);叶波纹须蛾(Alabama argillacea Hübner)(棉叶虫);Trichoplusia ni Hübner(卷心菜尺蠖);大豆夜蛾(Pseudoplusia includens Walker)(大豆尺蠖);黎豆夜蛾(Anticarsia gemmatialis Hübner)(黎豆毛虫);苜蓿绿叶蛾(Hypena scabra Fabricius)(green cloverworm);烟芽夜蛾(Heliothis virescens Fabricius)(烟草蚜虫(tobacco budworm));普通夜盗蛾(Pseudaletia unipuncta Haworth)(行军虫);Athetis mindara Barnes and McDunnough(粗皮地蚕);暗缘地老虎(Euxoa messoria Harris)(darksided cutworm);棉斑实蛾(Earias insulana Boisduval)(多刺螟蛉(spiny

bollworm); 翠纹金刚钻 (*E.vittella* Fabricius) (斑点螟蛉 (spotted bollworm)); 蕃茄夜蛾 (*Helicoverpa armigera* Hübner) (美洲螟蛉 (American bollworm)); 谷实夜蛾 (*H.zea* Boddie) (玉米穗虫 (corn earworm) 或棉铃虫 (cotton bollworm)); 斑马纹夜蛾 (*Melanchra picta* Harris) (zebra caterpillar); *Egira* (*Xylomyges*) *curialis* Grote (柑橘地老虎); 螟蛾科 (*Pyralidae*) 的钻蛀虫、鞘蛾、结网毛虫、松果梢斑螟和雕叶虫, *Ostrinia nubilalis* Hübner (欧洲玉米螟); 脐橙螟蛾 (*Amyelois transitella* Walker) (naval orangeworm); 地中海粉螟蛾 (*Anagasta kuehniella* Zeller) (Mediterranean flour moth); 粉斑螟蛾 (*Cadra cautella* Walker) (杏仁蛾); 二化螟 (*Chilo suppressalis* Walker) (水稻螟虫 (rice stem borer)); *C.partellus* (高粱钻心虫); 外米缀蛾 (*Corcyra cephalonica* Stainton) (米蛾 (rice moth)); 玉米根草螟 (*Crambus caliginosellus* Clemens) (corn root webworm); 早熟禾草螟 (*C.teterrellus* Zincken) (禾螟); 稻纵卷叶螟 (*Cnaphalocrocis medinalis* Guenée) (稻卷叶虫 (rice leaf roller)); 葡萄野螟 (*Desmia funeralis* Hübner) (葡萄卷叶虫 (grape leaf folder)); 甜瓜绢野螟 (*Diaphania hyalinata* Linnaeus) (甜瓜野螟); 黄瓜绢野螟 (*D.nitidalis* Stoll) (泡菜虫); *Diatraea grandiosella* Dyar (西南玉米螟), *D.saccharalis* Fabricius (甘蔗钻心虫); 墨西哥稻螟 (*Eoreuma loftini* Dyar) (Mexican rice borer); 烟草粉螟 (*Ephestia elutella* Hübner) (烟草 (可可) 飞蛾); 大蜡螟 (*Galleria mellonella* Linnaeus) (greater wax moth); 水稻切叶野螟 (*Herpetogramma licarsisalis* Walker) (草地螟); 向日葵同斑螟 (*Homoeosoma electellum* Hulst) (向日葵螟); 南美玉米苗斑螟 (*Elasmopalpus lignosellus* Zeller) (小玉米茎钻心虫 (lesser cornstalk borer)); *Achroia grisella* Fabricius (小蜡螟); 草地螟 (*Loxostege sticticalis* Linnaeus) (甜菜网螟); 茶树螟 (*Orthaga thyrisalis* Walker) (tea tree web moth); 豇豆荚螟 (*Maruca testulalis* Geyer) (豆荚螟); 印度谷螟 (*Plodia interpunctella* Hübner) (印度谷蛾 (Indian meal moth)); *Scirpophaga incertulas* Walker (三化螟); 芹菜网螟 (*Udea rubigalis* Guenée) (芹菜叶虫 (celery leaf tier)); 以及卷蛾科 (*Tortricidae*) 的卷叶虫、蚜虫、种实虫以及果实虫, *Acleris gloverana* Walsingham (西部黑头蚜虫); 东部黑头长翅卷蛾 (*A.variana* Fernald) (Eastern blackheaded budworm); *Archips argyrospila* Walker (果树卷叶虫); *A.rosana* Linnaeus (欧洲卷叶虫); 以及其它黄卷蛾属 (*Archips*) 物种: *Adoxophyes orana* Fischer von **Rösslerstamm** (棉褐带卷蛾); *Cochylis hospes* Walsingham (条纹向日葵螟); 榛小卷蛾 (*Cydia latiferreana* Walsingham) (filbertworm); *C.pomonella* Linnaeus (苹果蠹蛾); 杂色卷叶蛾 (*Platynota flavedana* Clemens) (variegated leafroller); 荷兰石竹小卷蛾 (*P. stultana* Walsingham) (杂食卷叶蛾); 葡萄花翅小卷蛾 (*Lobesia botrana* Denis & Schiffermüller) (欧洲葡萄蛾); 苹白小卷蛾 (*Spilonota ocellana* Denis & Schiffermüller) (苹果芽小卷叶蛾); 葡萄果实蛀虫 (*Endopiza viteana* Clemens) (葡萄浆果蛾); 女贞细卷蛾 (*Eupoecilia ambiguella* Hübner) (葡萄蛾); *Bonagota salubricola* Meyrick (巴西苹果卷叶蛾); 梨小食心虫 (*Grapholita molesta* Busck) (梨小食心虫); *Suleima helianthana* Riley (向日葵芽蛾); 带卷蛾属物种 (*Argyrotaenia* spp.); 色卷蛾属物种 (*Choristoneura* spp.);

[0358] 鳞翅目中选择的其他农业害虫包括但不限于秋星尺蠖 (*Alsophila pometaria*

Harris) (秋尺蠖); 桃枝麦蛾 (*Anarsia lineatella* Zeller) (桃条麦蛾); 犀额蛾 (*Anisota senatoria* J.E.Smith) (orange striped oakworm); *Antheraea pernyi* Guérin-Méneville (中国橡树柞蚕蛾); 家蚕 (*Bombyx mori* Linnaeus) (蚕); 棉潜蛾 (*Bucculatrix thurberiella* Busck) (cotton leaf perforator); 苜蓿黄蝶 (*Colias eurytheme* Boisduval) (alfalfa caterpillar); *Datana integerrima* Grote&Robinson (胡桃毛虫); *Dendrolimus sibiricus* Tschetwerikov (西伯利亚丝蛾), *Ennomos subsignaria* Hübner (榆树尺蠖); 菩提尺蠖 (*Erannis tiliaria* Harris) (椴木尺蠖); 黄毒蛾 (*Euproctis chrysorrhoea* Linnaeus) (棕尾毒蛾); 黑拟蛉蛾 (*Harrisina americana* Guérin-Méneville) (葡萄叶食虫); *Hemileuca oliviae* Cockrell (牧场毛虫); 美国白蛾 (*Hyphantria cunea* Drury) (fall webworm); 番茄蠹蛾 (*Keiferia lycopersicella* Walsingham) (番茄蠹蛾); 二尾蛱蝶 (*Lambdina fiscellaria fiscellaria* Hulst) (Eastern hemlock looper); 西部铁杉尺蠖 (*L.fiscellaria lugubrosa* Hulst) (Western hemlock looper); *Leucoma salicis* Linnaeus (柳毒蛾); *Lymantria dispar* Linnaeus (舞毒蛾); 番茄天蛾 (*Manduca quinquemaculata* Haworth) (五斑天蛾、番茄天蛾); 烟草天蛾 (*M.sexta* Haworth) (番茄天蛾、烟草天蛾); 冬尺蠖 (*Operophtera brumata* Linnaeus) (松白条尺蠖蛾); 春尺蠖 (*Paleacrita vernata* Peck) (spring cankerworm); *Papilio cresphontes* Cramer (巨燕尾蝶, 橙狗 (orange dog)); 加州榭蛾 (*Phryganidia californica* Packard) (California oakworm); 柑橘潜叶蛾 (*Phyllocnistis citrella* Stainton) (citrus leafminer); 斑幕潜叶蛾 (*Phyllonorycter blancardella* Fabricius) (spotted tentiform leafminer); 大菜粉蝶 (*Pieris brassicae* Linnaeus) (large white butterfly); 小菜粉蝶 (*P.rapae* Linnaeus) (菜白蛾); 暗脉菜粉蝶 (*P.napi* Linnaeus) (green veined whitebutterfly); 洋蓟羽蛾 (*Platyptilia carduidactyla* Riley) (artichoke plume moth); *Plutella xylostella* Linnaeus (小菜蛾); *Pectinophora gossypiella* Saunders (棉红铃虫); *Pontia protodice* Boisduval and Leconte (南方菜青虫); *Sabulodes aegrotata* Guenée (杂食尺蠖); 红疣天社蛾 (*Schizura concinna* J.E.Smith) (red humped caterpillar); 麦蛾 (*Sitotroga cerealella* Olivier) (Angoumois grain moth); *Thaumetopoea pityocampa* Schiffermuller (松树列队毛虫); 结网衣蛾 (*Tineola bisselliella* Hummel) (webbing clothesmoth); *Tuta absoluta* Meyrick (番茄斑潜蝇); *Yponomeuta padella* Linnaeus (巢蛾); *Heliothis subflexa* Guenée; 天幕毛虫属物种 (*Malacosoma* spp.) 和毒蛾属物种 (*Orgyia* spp.)。

[0359] 值得关注的是鞘翅目的幼虫和成体, 其包括来自长角象科 (*Anthribidae*)、豆象科 (*Bruchidae*) 和象甲科 (*Curculionidae*) 的象鼻虫 (包括但不限于: 棉铃象甲 (*Anthonomus grandis* Boheman) (棉籽象鼻虫); *Lissorhoptrus oryzophilus* Kuschel (稻水象甲); *Sitophilus granarius* Linnaeus (谷象); *S.oryzae* Linnaeus (米象); 三叶草叶象 (*Hypera punctata* Fabricius) (clover leaf weevi); 向日葵茎象甲 (*Cylindrocopturus adspersus* LeConte) (sunflower stem weevi); 红色葵花籽象甲 (*Smicronyxfulvus* LeConte) (red sunflower seed weevi); 灰色葵花籽象甲 (*S.sordidus* LeConte) (gray sunflower seed weevi); *Sphenophorus maidis* Chittenden (玉米象虫)); 叶甲科 (*Chrysomelidae*) 的跳甲、守瓜、根虫、叶甲、马铃薯甲虫

和潜叶虫(包括但不限于:科罗拉多州马铃薯甲虫(*Leptinotarsa decemlineata* Say)(科罗拉多马铃薯甲虫);*Diabrotica virgifera virgifera* LeConte(西方玉米根虫);*D. barberi* Smith and Lawrence(北方玉米根虫);黄瓜十一星叶甲(*D. undecimpunctata howardi* Barber)(南方玉米根虫(southern corn rootworm));*Chaetocnema pulicaria* Melsheimer(玉米跳甲);*Phyllotreta cruciferae* Goeze(十字花科跳甲);黄曲条跳甲(*Phyllotreta striolata*)(stripped flea beetle);*Colaspis brunnea* Fabricius(葡萄肖叶甲);黑角负泥虫(*Oulema melanopus* Linnaeus)(禾谷叶甲(cereal leaf beetle));*Zygogramma exclamationis* Fabricius(向日葵甲虫);来自瓢甲科(Coccinellidae)的甲虫(包括但不限于:*Epilachna varivestis* Mulsant(墨西哥豆瓢虫));来自金龟科(Scarabaeidae)的金龟子和其它甲虫(包括但不限于:*Popillia japonica* Newman(日本金龟子);北方圆头犀金龟(*Cyclocephala borealis* Arrow)(northern masked chafer,蛴螬);南方圆头犀金龟(*C. immaculata* Olivier)(southern masked chafer,蛴螬);*Rhizotrogus majalis* Razoumowsky(欧洲金龟子);*Phyllophaga crinita* Burmeister(白蛴螬);*Ligyris gibbosus* De Geer(胡萝卜金龟);来自皮蠹科(Dermestidae)的地毯圆皮蠹(carpet beetle);来自叩头虫科(Elateridae)的线虫、伪金针虫属物种(*Eleodes* spp.);金针虫属物种(*Melanotus* spp.);宽胸叩头虫属物种(*Conoderus* spp.);丘胸叩甲属物种(*Limonium* spp.);细胸叩甲属物种(*Agriotes* spp.);旱地金针虫属物种(*Ctenicera* spp.);*Aeolus*属物种;来自小蠹科(Scolytidae)的树皮甲虫以及来自拟步甲科(Tenebrionidae)的甲虫。

[0360] 双翅目(Diptera)的成体和未成熟体是值得关注的,包括潜叶虫 *Agromyza parvicornis* Loew(玉米斑潜叶虫);蠓(包括但不限于:高粱瘿蚊(*Contarinia sorghicola* Coquillett(高粱摇蚊(sorghum midge));黑森瘿蚊(*Mayetiola destructor* Say)(黑森蝇(Hessian fly));麦红吸浆虫(*Sitodiplosis mosellana* Géhin)(小麦摇蚊);*Neolasioptera murfeldtiana* Felt(向日葵籽摇蚊));果蝇(实蝇科(Tephritidae))、*Oscinella frit* Linnaeus(果蝇);蛆(包括但不限于:*Delia platura* Meigen(玉米种蝇);*D. coarctata* Fallen(麦种蝇)以及其它地种蝇属(*Delia* spp.);*Meromyza americana* Fitch(麦秆蝇);舍蝇(*Musca domestica* Linnaeus)(家蝇类);夏厕蝇(*Fannia canicularis* Linnaeus)、小舍蝇(*F. femoralis* Stein)(lesser house flies);厩螫蝇(*Stomoxys calcitrans* Linnaeus)(厩蝇类);面蝇、角蝇、丽蝇、金蝇属物种(*Chrysomya* spp.);伏蝇属(*Phormia* spp.)和其它蝇类(muscoid fly)害虫、马蝇类虻属物种(*Tabanus* spp.);肤蝇类胃蝇属物种(*Gastrophilus* spp.);狂蝇属物种(*Oestrus* spp.);牛蝇类皮蝇属物种(*Hypoderma* spp.);鹿蝇类斑虻属物种(*Chrysops* spp.);*Melophagus ovinus* Linnaeus(虱蝇类)和其它短角亚目(Brachycera)、蚊类伊蚊属物种(*Aedes* spp.);按蚊属物种(*Anopheles* spp.);库蚊属物种(*Culex* spp.);黑蝇类原蚋属物种(*Prosimulium* spp.);蚋属物种(*Simulium* spp.);铗蠓、白蛉、尖眼蕈蚊(sciarid)和其它长角亚目(Nematocera)。

[0361] 作为所关注的昆虫而包括的是半翅目和同翅目的成体和幼虫,例如但不限于来自球蚜科(Adelgidae)的球蚜;来自盲蝽科(Miridae)的盲蝽;来自蝉科(Cicadidae)的蝉;来自叶蝉科(Cicadellidae)的叶蝉、小绿叶蝉属(*Empoasca* spp.);来自菱飞虱科

(Cixiidae)、蛾蜡蝉科(Flatidae)、蜡蝉总科(Fulgoroidea)、圆飞虱科(Issidae)以及稻虱科(Delphacidae)的飞虱;来自角蝉科(Membracidae)的角蝉;来自木虱科(Psyllidae)的木虱;来自粉虱科(Aleyrodidae)的粉虱;来自蚜科(Aphididae)的蚜虫;来自根瘤蚜科(Phylloxeridae)的根瘤蚜;来自粉蚧科(Pseudococcidae)的粉蚧;来自链介壳虫科(Asterolecanidae)、软介壳虫科(Coccidae)、洋红蚧科(Dactylopiidae)、盾介壳虫科(Diaspididae)、绒蚧科(Eriococcidae)、旌介壳虫科(Ortheziidae)、刺葵介壳虫科(Phoenicococcidae)以及硕介壳虫科(Margarodidae)的介壳虫;来自网蝽科(Tingidae)的网蝽;来自蝽科(Pentatomidae)的椿象;麦长蝽;土长蝽属(*Blissus* spp.);以及来自长蝽科(Lygaeidae)的其它长蝽(seed bug);来自沫蝉科(Cercopidae)的沫蝉;来自缘蝽科(Coreidae)的南瓜缘蝽以及来自红蝽科(Pyrrhocoridae)的红蝽和棉蝽象。

[0362] 来自同翅目的在农业上重要的成员还包括但不限于:豌豆蚜(*Acyrtosiphon pisum* Harris)(豆长管蚜);花生蚜(*Aphis craccivora* Koch)(黑豆蚜);*A. fabae* Scopoli(黑豆蚜);棉蚜(*A. gossypii* Glover)(棉蚜、瓜蚜);玉米根蚜(*A. maidiradicis* Forbes)(corn root aphid);苹果黄蚜(*A. pomi* De Geer)(苹果蚜);绣线菊蚜(*A. spiraeicola* Patch)(卷叶蚜);*Aulacorthum solani* Kalténbach(茄无网长管蚜);*Chaetosiphon fragaefolii* Cockerell(草莓蚜);*Diuraphis noxia* Kurdjumov/Mordvilko(俄罗斯小麦蚜);玫瑰苹果蚜(*Dysaphis plantaginea* Paaserini)(rosy apple aphid);*Eriosomalanigerum* Hausmann(苹果绵蚜);甘蓝短棒蚜(*Brevicoryne brassicae* Linnaeus)(甘蓝蚜);*Hyalopterus pruni* Geoffroy(桃大尾蚜);*Lipaphis erysimi* Kalténbach(萝卜蚜);*Metopolophium dirrhodum* Walker(麦长管蚜);*Macrosiphum euphorbiae* Thomas(马铃薯蚜);烟蚜(*Myzus persicae* Sulzer)(桃蚜);*Nasonovia ribisnigri* Mosley(莴苣蚜);瘿绵蚜属物种(*Pemphigus* spp.)(根蚜和瘿蚜);玉米缢管蚜(*Rhopalosiphum maidis* Fitch)(玉米叶蚜);*R. padi* Linnaeus(禾谷缢管蚜);*Schizaphis graminum* Rondani(麦二叉蚜);*Sipha flava* Forbes(yellow sugarcane aphid);*Sitobion avenae* Fabricius(麦长管蚜);斑点苜蓿蚜(*Therioaphis maculata* Buckton)(苜蓿斑蚜);*Toxoptera aurantii* Boyer de Fonscolombe(桔二岔蚜)和*T. citricida* Kirkaldy(褐色橘蚜);球蚜属(*Adelges* spp.)(球蚜);长山核桃根瘤蚜(*Phylloxera devastatrix* Pergande)(美洲山核桃根瘤蚜);*Bemisia tabaci* Gennadius(烟粉虱,甘薯粉虱);*B. argentifolii* Bellows&Perring(银叶粉虱);*Dialeurodes citri* Ashmead(柑桔白粉虱);*Trialeurodes abutiloneus*(纹翅粉虱)和*T. vaporariorum* Westwood(温室白粉虱);蚕豆微叶蝉(*Empoasca fabae* Harris)(马铃薯小绿叶蝉);*Laodelphax striatellus* Fallen(灰飞虱);*Macrolestes quadrilineatus* Forbes(二点叶蝉);黑尾叶蝉(*Nephotettix cincticeps* Uhler)(青叶蝉);二条黑尾叶蝉(*Nnigropictus* Stål)(黑尾叶蝉);*Nilaparvata lugens* Stål(褐飞虱);*Peregrinus maidis* Ashmead(玉米飞虱);*Sogatella furcifera* Horvath(白背飞虱);*Sogatodes orizicola* Muir(稻飞虱);*Typhlocyba pomaria* McAtee(苹果白叶蝉);*Erythroneoura* spp.(葡萄小叶蝉);*Magicicada septendecim* Linnaeus(周期蝉);*Icerya purchasi* Maskell(吹绵介壳虫);梨园蚧(*Quadraspidotus perniciosus* Comstock)(圣约瑟虫);桔臀纹粉蚧(*Planococcus citri* Risso)(柑桔粉蚧);粉蚧属物种(*Pseudococcus* spp.)

(其它粉蚧复合体);梨木虱(*Cacopsylla pyricola* Foerster)(梨黄木虱);*Trioza diospyri* Ashmead(柿木虱)。

[0363] 来自半翅目的所关注的在农业上重要的物种包括但不限于:喜绿蝽(*Acrosternum hilare* Say)(稻绿蝽);*Anasa tristis* De Geer(南瓜缘蝽);美洲谷长蝽(*Blissus leucopterus leucopterus* Say)(高粱长蝽);方翅网蝽(*Corythuca gossypii* Fabricius)(棉花网蝽);*Cyrtopeltis modesta* Distant(番茄蝽);棉蝽(*Dysdercus suturellus* Herrich-Schäffer)(污棉虫);褐臭椿(*Euschistus servus* Say)(brown stink bug);一斑臭蝽(*E.variolarius* Palisot de Beauvois)(one-spotted stink bug);长蝽属物种(*Graptostethus* spp.)(长蝽科复合体(complex of seed bugs));*Leptoglossus corculus* Say(松叶根蝽);*Lygus lineolaris* Palisot de Beauvois(牧草盲蝽);*L.Hesperus* Knight(西部牧草盲蝽);牧草盲蝽(*L.pratensis* Linnaeus)(common meadow bug);长毛草盲蝽(*L.rugulipennis* Poppius)(欧洲牧草盲蝽);长绿盲蝽(*Lygocoris pabulinus* Linnaeus)(common green capsid);稻绿蝽(*Nezara viridula* Linnaeus)(南部稻绿蝽);稻蝽(*Oebalus pugnax* Fabricius)(稻褐蝽);*Oncopeltus fasciatus* Dallas(大马力筋长蝽);*Pseudatomoscelis seriatus* Reuter(棉盲蝽)。

[0364] 此外,实施方案可有效地针对半翅目,如*Calocoris norvegicus* Gmelin(草莓长蝽);*Orthops campestris* Linnaeus;苹盲蝽(*Plesiocoris rugicollis* Fallen)(apple capsid);*Cyrtopeltis modestus* Distant(番茄蝽);烟草小盲蝽(suckfly);*Spanagonicus albofasciatus* Reuter(白斑盲蝽);皂荚蝽(*Diaphnocoris chlorionis* Say)(honeylocust plant bug);*Labopidicola allii* Knight(洋葱蝽);*Pseudatomoscelis seriatus* Reuter(棉盲蝽);苜蓿褐盲蝽(*Adelphocoris rapidus* Say)(rapid plant bug);四线盲蝽(*Poecilocapsus lineatus* Fabricius)(four-lined plant bug);拟麦长蝽(*Nysius ericae* Schilling)(false chinch bug)茶黄蓟马(*Nysius raphanus* Howard)(假麦长蝽);稻绿蝽(*Nezara viridula* Linnaeus)(南部稻绿蝽);扁盾蝽属物种(*Eurygaster* spp.);缘蝽属物种(*Coreidae* spp.);红蝽属物种(*Pyrrhocoridae* spp.);谷蛾属物种(*Tinidae* spp.);负子蝽属物种(*Blostomatidae* spp.);锥蝽属物种(*Reduviidae* spp)和臭虫属物种(*Cimicidae*)。

[0365] 另外,包括蜱螨目(Acari)(螨类)的成体和幼虫,诸如*Aceria tosichella* Keifer(小麦卷叶螨)麦岩螨(*Petrobia latens* Müller)(褐色小麦螨);叶螨科(*Tetranychidae*)的叶螨和红螨,*Panonychus ulmi* Koch(欧洲红螨);*Tetranychus urticae* Koch(二斑叶螨);*T.mcdanieli* McGregor(迈叶螨);*T.cinnabarinus* Boisduval(红蜘蛛螨);土耳其斯坦叶螨(*T. turkestanii* Ugarov&Nikolski)(草莓蛛螨);细须螨科(*Tenuipalpidae*)的葡萄短须螨、*Brevipalpus lewisi* McGregor(柑橘红蜘蛛);瘿螨科(*Eriophyidae*)中的锈螨和芽瘿螨以及其它食叶螨和对人类和动物健康重要的螨,即表皮螨科(*Epidermoptidae*)的尘螨、蠕形螨科(*Demodicidae*)的毛囊螨、食甜螨科(*Glycyphagidae*)的谷螨,硬蜱科(*Ixodidae*)的蜱类。黑脚硬蜱(*Ixodes scapularis* Say)(鹿蜱);全环硬蜱(*I.holocyclus* Neumann)(澳洲寄生蜱(Australian paralysis tick));变异革蜱(*Dermacentor variabilis* Say)(美洲犬蜱);*Amblyomma americanum* Linnaeus(孤星蜱)以及痒螨科(*Psoroptidae*)、蒲螨科(*Pyemotidae*)和疥螨科(*Sarcoptidae*)的痒螨和疥螨。

[0366] 缨尾目 (Thysanura) 的昆虫害虫是值得关注的, 诸如 *Lepisma saccharina* Linnaeus (蠹虫); 家衣鱼 (*Thermobia domestica* Packard) (小灶衣鱼 (firebrat))。

[0367] 涵盖的另外的节肢害虫包括: 蜘蛛目 (Araneae) 中的蜘蛛, 如褐色隐士蜘蛛 (*Loxosceles reclusa* Gertsch and Mulaik, brown recluse spider) 和黑寡妇蜘蛛 (*Latrodectus mactans* Fabricius, black widow spider) 以及蚰蜒目 (Scutigera) 的多足类例如蚰蜒 (*Scutigera coleoptrata* Linnaeus, house centipede)。

[0368] 所关注的昆虫害虫包括椿象和其它相关昆虫的总科, 包括但不限于属于椿科 (稻绿椿、茶翅椿、壁椿 (*Piezodorus guildini*)、褐臭椿、喜绿椿、大豆褐椿、*Euschistus tristigma*、喜绿椿、*Dichelops furcatus*、*Dichelops melacanthus* 和 *Bagrada hilaris* (菘椿))、龟椿科 (筛豆龟椿-豆圆椿 (Bean plataspid)) 和土椿科 (*Scaptocoris castanea*-根椿象) 的物种, 以及鳞翅目物种, 包括但不限于: 小菜蛾, 例如美洲棉铃虫 (*Helicoverpa zea* Boddie); 大豆夜蛾, 例如大豆尺夜蛾以及黎豆毛虫, 例如黎豆夜蛾 (*Anticarsia gemmatalis* Hübner)。

[0369] 用于测量杀虫活性的方法是本领域熟知的。参见例如, Czapla and Lang, (1990) *J. Econ. Entomol.* 83:2480-2485; Andrews 等人, (1988) *Biochem. J.* 252:199-206; Marrone 等人, (1985) *J. of Economic Entomology* 78:290-293 以及美国专利 No. 5,743,477, 所有这些文献全文以引用方式并入本文。一般而言, 将蛋白混合并用于摄食测定。参见例如 Marrone, et al., (1985) *J. of Economic Entomology* 78:290-293 (Marrone 等人, 1985年, 《经济昆虫学杂志》, 第78卷, 第290-293页)。此类测定法包括将植物与一种或多种害虫接触以及测定植物存活和/或促使害虫死亡的能力。

[0370] 线虫包括寄生线虫比如根结、孢囊和根腐线虫, 包括孢囊线虫属 (*Heterodera* spp.)、根结线虫属 (*Meloidogyne* spp.) 和球异皮线虫属 (*Globodera* spp.); 特别是孢囊线虫的成员, 包括但不限于 *Heterodera glycines* (大豆孢囊线虫); *Heterodera schachtii* (甜菜孢囊线虫); *Heterodera avenae* (禾谷孢囊线虫) 以及 *Globodera rostochiensis* 和 *Globodera pailida* (马铃薯孢囊线虫)。根腐线虫包括根腐线虫属物种 (*Pratylenchus* spp.)。

[0371] 种子处理剂

[0372] 为了保护并提高产率产量和性状技术, 种子处理剂选项可提供另外的作物计划灵活性以及对于昆虫、杂草和病害的经济有效的防治。可用包含化学或生物除草剂、除草剂安全剂、杀昆虫剂、杀真菌剂、萌发抑制剂和增强剂、营养素、植物生长调节剂和活化剂、杀细菌剂、杀线虫剂、杀乌剂和/或杀软体动物剂的组合的组合物, 对种子材料进行处理, 通常进行表面处理。这些化合物通常与在配制领域中惯常使用的其它载体、表面活性剂或促进施用的助剂一起配制。包衣可以通过用液体制剂浸渍繁殖材料或通过用混合的湿或干制剂涂覆来实施。可用作种子处理剂的各种类型化合物的示例在由英国农作物保护委员会 (British Crop Production Council) 出版的 *The Pesticide Manual: A World Compendium*, C.D.S. Tomlin Ed. (《杀虫剂手册: 世界纲要》, C.D.S. Tomlin 编辑) 中提供, 该文献据此以引用方式并入。

[0373] 可用于作物种子上的一些种子处理剂包括但不限于如下的一种或多种: 脱落酸、

阿拉酸式苯-S-甲基、阿维菌素、杀草强、氧环唑、固氮螺 菌、印楝素、嘧菌酯、芽孢杆菌属物种(包括蜡样芽孢杆菌、坚强芽孢杆菌 (*B.firmus*)、巨大芽孢杆菌 (*B.megaterium*)、短小芽孢杆菌 (*B.pumilis*)、球形芽孢杆菌、枯草芽孢杆菌和/或苏云金芽孢杆菌物种中的一种或多种)、慢生根瘤菌属物种 (*bradyrhizobium spp.*) (包括甜菜慢生根瘤菌 (*B. betae*)、加那利慢生根瘤菌 (*B.canariense*)、埃氏慢生根瘤菌 (*B.elkanii*)、西表岛慢生根瘤菌 (*B.iriomotense*)、大豆慢生根瘤菌 (*B.japonicum*)、辽宁慢生根瘤菌 (*B.liaonigense*)、地瓜慢生根瘤菌 (*B.pachyrhizi*) 和/或圆明慢生根瘤菌 (*B.yuanmingense*) 中的一种或多种)、克菌丹、萎锈灵、壳聚糖、噻虫胺、铜、氰虫酰胺、苯醚甲环唑、土菌灵、氟虫腓、咯菌腓、氟嘧菌酯、氟唑 唑、解草胺、氟草肟、超敏蛋白、抑霉唑、吡虫啉、种菌唑、异黄酮、脂壳寡糖、代森锰锌、锰、代森锰、精甲霜灵、甲霜灵、叶菌唑、腓菌唑、PCNB、戊苯吡菌胺、青霉菌、吡噻菌胺、氯菊酯、啶氧菌酯、丙硫菌唑、吡唑醚菌酯、氯虫苯甲酰胺、S-异丙甲草胺、皂苷、氟唑环菌胺、TCMTB、戊唑醇、噻苯哒唑、噻虫嗪、硫双灭多威、福美双、甲基立枯 磷、三唑醇、木霉、肟菌酯、灭菌唑和/或锌。PCNB种子包衣是指EPA注册号00293500419,含有五氯硝基苯和依得利。TCMTB是指2-(硫氰基甲基硫代)苯并噻唑。

[0374] 可测试具有特定转基因性状的种子品种和种子以确定哪种种子处理剂 选项和施用率可补充此类品种和转基因性状以提高产量。例如,具有良好 产量潜力但存在丝黑穗病易感性的品种可受益于提供防丝黑穗病的保护的 种子处理剂的使用,具有良好产量潜力但存在胞囊线虫易感性的品种可受 益于提供防胞囊线虫的保护的种子处理剂的使用,以此类推。同样地,涵 盖赋予昆虫抗性的转基因性状的品种可受益于种子处理剂所赋予的第二作 用模式,涵盖赋予除草剂抗性的转基因性状的品种可受益于用增强植物对 该除草剂的抗性的安全剂进行的种子处理,等等。此外,由种子处理剂的 适当使用所引起的良好根系建成和提早出苗可使得在与种子处理剂结合时 包含特定性状的一个品种或多个品种更有效地使用氮、抵御干旱的能力更 佳、以及产量潜力总体增加。

[0375] 用于杀灭昆虫害虫并防治昆虫种群的方法

[0376] 在一些实施方案中,提供了用于杀灭昆虫害虫的方法,该方法包括使 所述昆虫害虫同时地或顺序地与杀昆虫有效量的重组PtIP-96多肽接触。在 一些实施方案中,提供了用于杀灭昆虫害虫的方法,该方法包括使昆虫害 虫与杀昆虫有效量的SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO: 16、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:26;SEQ ID NO:28;SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:40、SEQ ID NO: 42、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:50、SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:60、SEQ ID NO: 62、SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:66、SEQ ID NO: 68、SEQ ID NO:70、SEQ ID NO:72、SEQ ID NO:74、SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:78、SEQ ID NO:80、SEQ ID NO:82、SEQ ID NO:84、SEQ ID NO:86、SEQ ID NO:88、SEQ ID NO:90、SEQ ID NO:92、SEQ ID NO: 94、SEQ ID NO:96、SEQ ID NO:98、SEQ ID NO:100、SEQ ID NO:102、SEQ ID NO:104、SEQ ID NO:106或SEQ ID NO:108的重组杀虫蛋白或其 变体接触。

[0377] 在一些实施方案中,提供了用于防治昆虫害虫种群的方法,该方法包 括使昆虫害虫种群同时地或顺序地与杀昆虫有效量的重组PtIP-96多肽接 触。在一些实施方案中,提

供了用于防治昆虫害虫种群的方法,该方法包括使昆虫害虫种群与杀昆虫有效量的SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:26;SEQ ID NO:28;SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:42、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:50、SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:70、SEQ ID NO:72、SEQ ID NO:74、SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:78、SEQ ID NO:80、SEQ ID NO:82、SEQ ID NO:84、SEQ ID NO:86、SEQ ID NO:88、SEQ ID NO:90、SEQ ID NO:92、SEQ ID NO:94、SEQ ID NO:96、SEQ ID NO:98、SEQ ID NO:100、SEQ ID NO:102、SEQ ID NO:104、SEQ ID NO:106或SEQ ID NO:108的重组PtIP-96多肽或其变体接触。如本文所用,“防治害虫种群”或“防治害虫”是指针对害虫的使其造成的损害受到限制的任何效应。防治害虫包括但不限于以一定方式杀灭害虫、抑制害虫发育、改变害虫繁殖力或生长,该方式使得害虫对植物造成的损害减轻,减少所产生后代的数量,产生适应力较弱的害虫,产生易受捕食者攻击的害虫,或阻止害虫啃食植物。

[0378] 在一些实施方案中,提供了用于防治对杀虫蛋白具有抗性的昆虫害虫种群的方法,该方法包括使昆虫害虫种群同时地或顺序地与杀昆虫有效量的重组PtIP-96多肽接触。在一些实施方案中,提供了用于防治对杀虫蛋白具有抗性的昆虫害虫种群的方法,该方法包括使所述昆虫害虫种群与杀昆虫有效量的SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:26;SEQ ID NO:28;SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:42、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:50、SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:70、SEQ ID NO:72、SEQ ID NO:74、SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:78、SEQ ID NO:80、SEQ ID NO:82、SEQ ID NO:84、SEQ ID NO:86、SEQ ID NO:88、SEQ ID NO:90、SEQ ID NO:92、SEQ ID NO:94、SEQ ID NO:96、SEQ ID NO:98、SEQ ID NO:100、SEQ ID NO:102、SEQ ID NO:104、SEQ ID NO:106或SEQ ID NO:108的重组PtIP-96多肽或其变体接触。

[0379] 在一些实施方案中,提供了用于保护植物免遭昆虫害虫侵扰的方法,该方法包括在植物或其细胞中表达至少一种编码PtIP-96多肽的重组多核苷酸。在一些实施方案中,提供了用于保护植物免遭昆虫害虫侵扰的方法,该方法包括在植物或其细胞中表达编码SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:26;SEQ ID NO:28;SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:42、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:50、SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:70、SEQ ID NO:72、SEQ ID NO:74、SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:78、SEQ ID NO:80、SEQ ID NO:82、

SEQ ID NO:84、SEQ ID NO:86、SEQ ID NO:88、SEQ ID NO:90、SEQ ID NO:92、SEQ ID NO:94、SEQ ID NO:96、SEQ ID NO:98、SEQ ID NO:100、SEQ ID NO:102、SEQ ID NO:104、SEQ ID NO:106或SEQ ID NO:108的PtIP-96多肽或其变体的重组多核苷酸。

[0380] 昆虫抗性治理 (IRM) 策略

[0381] 已证实,苏云金芽孢杆菌 δ -内毒素在转基因玉米植物中的表达是防治 农业上重要的昆虫害虫的有效手段(Perlak等人,1990年;1993)。然而,昆虫已进化成能抵抗在转基因植物中表达的苏云金芽孢杆菌 δ -内毒素。此类抗性如果广泛分布的话将明显限制包含编码此类苏云金芽孢杆菌 δ -内毒素的基因的种质的商业价值。

[0382] 增加转基因杀昆虫剂抵抗靶标害虫的效力并且同时降低具有杀昆虫剂 抗性的害虫的发育的一种方法是,提供非转基因(即,非杀昆虫蛋白)庇 护所(一部分非杀昆虫作物/玉米)以与产生对于靶标害虫有活性的单一杀 昆虫蛋白的转基因作物一起使用。美国环境保护局(United States Environmental Protection Agency) (epa.gov/oppbpd1/biopesticides/pips/bt_corn_refuge_2006.htm,可使用www 前缀对其进行访问)公布了与产生对于靶标害虫有活性的单一Bt蛋白的转 基因作物一起使用的要求。此外,全国玉米种植者协会(National Corn Growers Association)在其网站上:(ncga.com/insect-resistance-management-fact-sheet-bt-corn,可使用www前缀对其进行访问)也提供了有关庇护所要 求的类似指南。由于庇护区域内的昆虫所造成的损失,较大的庇护所可降低总产量。

[0383] 增加转基因杀昆虫剂应对靶标害虫的效力并且同时降低具有杀昆虫剂 抗性的害虫的发育的另一种方法将是,保有能有效抵抗昆虫害虫种群并通 过不同作用模式显示其效应的杀昆虫基因的库。

[0384] 在植物中表达对相同的昆虫物种具有毒性的两种或更多种杀昆虫组合 物(每种杀昆虫剂以有效水平表达)将是实现控制抗性发展的另一种方 法。这是基于这样的原理:相比仅一种作用模式,针对两种单独作用模式 更不可能进化出抗性。Roush例如概括了双重毒素策略,也称为“金字塔堆 砌”或“堆叠”,以用于管理杀昆虫转基因作物。(The Royal Society.Phil. Trans.R.Soc.Lond.B. (1998) 353:1777-1786(英国皇家学会,《伦敦皇家学会哲学汇刊:B辑》,1998年,第353卷,第1777-1786页))。各自能 有效抵抗靶标害虫且具有很少或没有交叉抗性的两种不同蛋白的堆叠或金 字塔堆砌可允许使用较小的庇护所。美国环境保护局要求所种植的非Bt玉 米的结构庇护所(一般5%)显著小于单一性状产品(一般20%)。提供庇 护所的IRM效应有多种方法,包括田间的多种几何种植模式和包装好(in-bag)的种子混合物,如Roush进一步讨论。

[0385] 在一些实施方案中,本发明的PtIP-96多肽可用作与其它杀虫蛋白组合 的昆虫抗性治理策略(即金字塔堆砌),所述其它杀虫蛋白包括但不限于 Bt毒素、致病杆菌属物种或发光杆菌属物种杀昆虫蛋白等等。

[0386] 提供了防治转基因植物中的鳞翅目和/或鞘翅目昆虫侵染的方法,所述 方法促进了昆虫抗性治理,包括在植物中表达具有不同作用模式的至少两 种不同的杀昆虫蛋白。

[0387] 在一些实施方案中,防治转基因植物中的鳞翅目和/或鞘翅目昆虫侵染 并促进昆虫抗性治理的方法,杀昆虫蛋白中的至少一种包括对鳞翅目和/或 鞘翅目昆虫具有杀昆虫性的PtIP-96多肽。

[0388] 在一些实施方案中,防治转基因植物中的鳞翅目和/或鞘翅目昆虫侵染 并促进昆虫抗性治理的方法,杀昆虫蛋白中的至少一种包括对鳞翅目和/或 鞘翅目昆虫具有杀昆虫性的SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO: 24、SEQ ID NO:26;SEQ ID NO:28;SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:32、 SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:42、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:48、SEQ ID NO: 50、SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO: 70、SEQ ID NO:72、SEQ ID NO:74、SEQ ID NO: 76、SEQ ID NO:78、SEQ ID NO:80、SEQ ID NO:82、SEQ ID NO:84、SEQ ID NO:86、SEQ ID NO:88、SEQ ID NO:90、SEQ ID NO:92、SEQ ID NO:94、SEQ ID NO:96、SEQ ID NO:98、SEQ ID NO:100、SEQ ID NO:102、SEQ ID NO:104、SEQ ID NO:106或SEQ ID NO:108的PtIP-96 多肽或其变体。

[0389] 在一些实施方案中,防治转基因植物中的鳞翅目和/或鞘翅目昆虫侵染 并促进昆虫抗性治理的方法,包括在转基因植物中表达对鳞翅目和/或鞘翅 目昆虫具有杀昆虫性且具有不同作用模式的PtIP-96多肽以及Cry蛋白。

[0390] 在一些实施方案中,防治转基因植物中的鳞翅目和/或鞘翅目昆虫侵染 并促进昆虫抗性治理的方法,包括在转基因植物中对鳞翅目和/或鞘翅目昆 虫具有杀昆虫性且具有不同作用模式的SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、 SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、 SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO: 22、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:26;SEQ ID NO:28;SEQ ID NO:30、 SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:42、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO: 48、SEQ ID NO:50、SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:56、 SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:70、SEQ ID NO:72、SEQ ID NO: 74、SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:78、SEQ ID NO:80、 SEQ ID NO:82、 SEQ ID NO:84、SEQ ID NO:86、SEQ ID NO:88、SEQ ID NO:90、SEQ ID NO: 92、SEQ ID NO:94、SEQ ID NO:96、SEQ ID NO:98、SEQ ID NO: 100、SEQ ID NO:102、SEQ ID NO:104、SEQ ID NO:106或SEQ ID NO: 108的PtIP-96多肽或其变体以及Cry蛋白。

[0391] 还提供了降低鳞翅目和/或鞘翅目昆虫出现对在植物中表达杀昆虫蛋白 的转基因植物的抗性的可能性以防治昆虫物种的方法,包括表达对昆虫物 种具有杀昆虫性的PtIP-96多肽,同时联合表达具有不同作用模式的昆虫物 种的第二杀昆虫蛋白。

[0392] 还提供了用于转基因植物的有效的鳞翅目和/或鞘翅目昆虫抗性治理的 方式,包括以高水平在植物中共表达对鳞翅目和/或鞘翅目昆虫具有毒性但 各自表现出实现其杀 灭活性的不同模式的两种或更多种杀昆虫蛋白,其中 所述两种或更多种杀昆虫蛋白包括PtIP-96多肽以及Cry蛋白。还提供了用 于转基因植物的有效的鳞翅目和/或鞘翅目昆虫抗性治理的方式,包括以高 水平在植物中共表达对鳞翅目和/或鞘翅目昆虫具有毒性但各自 表现出实现 其杀灭活性的不同模式的两种或更多种杀昆虫蛋白,其中所述两种或更多 种杀昆虫蛋白包括SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、 SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO: 16、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO: 22、SEQ ID NO:24、 SEQ ID NO:26;SEQ ID NO:28;SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:32、SEQ ID

NO:34、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:40、SEQ ID NO: 42、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:50、SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:70、SEQ ID NO:72、SEQ ID NO:74、SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:78、SEQ ID NO:80、SEQ ID NO:82、SEQ ID NO:84、SEQ ID NO:86、SEQ ID NO:88、SEQ ID NO:90、SEQ ID NO:92、SEQ ID NO: 94、SEQ ID NO:96、SEQ ID NO:98、SEQ ID NO:100、SEQ ID NO:102、SEQ ID NO:104、SEQ ID NO:106或SEQ ID NO:108的PtIP-96多肽或其变体以及Cry蛋白。

[0393] 此外,提供了用于获得表达对鳞翅目和/或鞘翅目昆虫具有杀昆虫性的蛋白的植物的种植或商业化的监管批准的方法,包括参考、提交或依据昆虫测定结合数据的步骤,所述昆虫测定结合数据表明,在此类昆虫中,PtIP-96多肽不与Cry蛋白的结合位点竞争。此外,提供了用于获得表达对鳞翅目和/或鞘翅目昆虫具有杀昆虫性的蛋白的植物的种植或商业化的监管批准的方法,包括参考、提交或依据昆虫测定结合数据的步骤,所述昆虫测定结合数据表明,在此类昆虫中,SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO: 14、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:26;SEQ ID NO:28;SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:38、SEQ ID NO: 40、SEQ ID NO:42、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:50、SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:70、SEQ ID NO:72、SEQ ID NO:74、SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:78、SEQ ID NO:80、SEQ ID NO:82、SEQ ID NO:84、SEQ ID NO:86、SEQ ID NO:88、SEQ ID NO:90、SEQ ID NO: 92、SEQ ID NO:94、SEQ ID NO:96、SEQ ID NO:98、SEQ ID NO:100、SEQ ID NO:102、SEQ ID NO:104、SEQ ID NO:106或SEQ ID NO:108的PtIP-96多肽或其变体不与Cry蛋白的结合位点竞争。

[0394] 用于增加植物产量的方法

[0395] 提供了用于增加植物产量的方法。所述方法包括提供表达编码本文所公开的杀虫多肽序列的多核苷酸的植物或植物细胞,以及在被害虫侵染的田间使该植物或其种子生长,其中所述多肽对所述害虫具有杀虫活性。在一些实施方案中,所述多肽对鳞翅目、鞘翅目、双翅目、半翅目或线虫害虫具有杀虫活性,并且所述田地被鳞翅目、半翅目、鞘翅目、双翅目或线虫害虫侵染。

[0396] 如本文所定义的,植物的“产量”是指由植物产生的生物物质的质量和/或数量。如本文所用,“生物物质”是指任何被测量的植物产品。生物物质产生的增加是被测量植物产品的产量上的任何改善。增加植物产量具有若干商业应用。例如,增加植物叶片生物物质可以增加用于人或动物消费的叶菜类的产量。另外,增加叶片生物物质可以用于增加植物衍生的药用或工业产品的生产。产量的增加可以包括任何统计学上显著的增加,包括但不限于与不表达杀虫序列的植物相比,产量增加至少1%、增加至少3%、增加至少5%、增加至少10%、增加至少20%、增加至少30%、增加至少50%、增加至少70%、增加至少100%或增加更多。

[0397] 在具体方法中,植物产量由于表达本文所公开的PtIP-96多肽的植物对害虫的抗性增强而增加。PtIP-96多肽的表达导致害虫侵染或采食植物的能力降低,从而提高植物

产量。

[0398] 加工方法

[0399] 还提供了加工植物、植物部分或谷物以获得包含PtIP-96多肽的食物或 饲料产品的方法。可加工本文提供的植物、植物部分或种子以产生油、蛋 白产品和/或副产品,所述油、蛋白产品和/或副产品是通过加工获得的具有 商业价值的衍生物。非限制性示例包括包含编码PtIP-96多肽的核酸分子的 转基因种子,可加工所述转基因种子以产生大豆油、大豆产品和/或大豆副 产品。

[0400] “加工”是指用于获得任何大豆产品的任何物理和化学方法,并且包 括但不限于热调节、压片和研磨、挤出、溶剂提取或水浸以及完整或部分 种子的提取。

[0401] 以下实施例是以说明性而非限制性方式提供的。

[0402] 实验

[0403] 实施例1-得自小翠云草(Selaginella kraussiana)的杀昆虫蛋白活性的鉴定

[0404] 当在内部DUPONT-PIONEER数据库的小翠云草转录组中搜索PCT公 开W02015/120270的编码PtIP-65杀昆虫多肽的多核苷酸序列时,使用 BLAST(基本局部比对搜索工 具;Altschul等人,(1993)J.Mol.Biol. 215:403-410;另参见ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/, 其可使用www prefix前缀 对其进行访问)鉴定出SEQ ID NO:9的氨基酸序列。使用转录组 序列设计 引物以克隆PtIP-96Aa cDNA序列。该克隆使用KOD Hot Start DNApolymerase[®] PCR试剂盒(Novagen,Merck KGaA,Darmstadt,Germany) 并将得自小翠云草(样品Id.PS-8780)的总RNA作为模板通过聚合酶链反 应产生。通过测序来确认所克隆的PCR产物。基于 DNA测序,PtIP-96Aa 多核苷酸序列示为SEQ ID NO:4并且所编码的多肽序列示为SEQ ID NO: 9。

[0405] 在96-孔板格式中,使用覆盖在基于琼脂的鳞翅目饲料(Southland Products Inc.,Lake Village,AR)上的得自小翠云草样品PS-8780的植物组 织蛋白质提取物对三种 害虫物种即大豆夜蛾(SBL)(黄豆银纹夜蛾(Chrysodeixis includens))、玉米穗虫(CEW)(谷实夜蛾(Helicoverpa zea))和欧洲玉米螟(ECB)(玉米螟(Ostrinia nubialis))进行 生物测定。每个样 品平行测定六次。使样品在饲料顶部上干燥并将2至5只新生昆虫置于经 处理板的各个孔中。在27℃下孵育四天之后,对幼虫的死亡率或生长迟缓 严重程度或进行 评分。评分按数值记录为死亡(3)、生长极度迟缓(2)(很少 或无生长但存活并且等同于1龄 幼虫)、生长迟缓(1)(生长到二龄期,但 不等同于对照)、或正常(0)。使样品经受蛋白酶K和 热处理而导致活性损 失,这表明有效成分为蛋白质性质。生物测定结果示于表1中。

[0406] 表1

[0407]

	CEW	ECB	SBL
PS-8780蛋白质提取物			

[0408] 实施例2-小翠云草的转录组测序

[0409] 如下制备得自样品Id.PS-8780的小翠云草的转录组。使用用于总RNA 分离的 Qiagen[®] RNeasy[®] 试剂盒从冷冻组织中分离总RNA。使用得自 Illumina[®],Inc.的 TruSeq[™] mRNA-Seq试剂盒和方案(San Diego,CA)制备 来自所得总RNA的测序文库。简言之, mRNA通过连接到寡聚(dT)磁珠来 分离,片段化成180nt的平均大小,通过随机六聚体引物

逆转录成cDNA，进行末端修复，对3'加A尾，并与带有Illumina®索引的TruSeq™接头连接。使用Illumina® TruSeq™引物对连接的cDNA片段进行PCR扩增，并在Agilent Bioanalyzer® DNA 7500芯片上检查纯化PCR产物的质量和数量。质量和数量评价后，通过用双链特异性核酸酶(Duplex Specific Nuclease, DSN) (Evrogen®, Moscow, Russia)处理使100ng的转录物文库标准化。标准化通过添加200mM Hepes缓冲液，之后在68℃下热变性并退火五小时来实现。退火的文库用2ul的DSN酶处理25分钟，根据制造商的方案通过Qiagen® MinElute®柱纯化，并用Illumina®接头特异性引物扩增十二个循环。用Ampure® XP珠(Beckman Genomics, Danvers, MA)纯化最终产品，并在Agilent Bioanalyzer® DNA 7500芯片上检查的质量和数量。

[0410] 根据制造商的方案，在Illumina®基因组分析仪Iix上对标准化的转录物文库进行测序。在cBot®上利用Illumina®克隆簇生成过程使各个文库杂交至两个流动槽通道并扩增、嵌段、线性化和杂交引物。测序在基因组分析仪Iix上完成，每一标准化文库产生六千万个75bp双末端读长。

[0411] 实施例3-PtIP-96多肽同源物的鉴定

[0412] 利用BLAST在蕨类及其它原生植物的内部DUPONT PIONEER转录组数据库中表现的基因身份鉴定出PtIP-96Aa多肽(SEQ ID NO:4)的同源物。表2示出了从中所鉴定的PtIP-96Aa多肽同源物和生物体。在一些情况下，从在表2中示为“混合物1”、“混合物3”和“混合物4”的蕨类分离物和/或物种的合并样品鉴定出同源物。合并样品中的蕨类植物在表3中示出。

[0413] 表2

[0414]

样品 ID	物种	名称	n.a.序列	a.a.序列
PS-9145	书带蕨	PtIP-96Ec	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 6
PS-9427	褐叶线蕨 “Monstifera”	PtIP-96Ea	SEQ ID NO: 2	SEQ ID NO: 7
PS-7897	褐叶线蕨	PtIP-96Eb	SEQ ID NO: 3	SEQ ID NO: 8
PS-7896	<i>Selaginella victoriae</i>	PtIP-96Ha	SEQ ID NO: 5	SEQ ID NO: 10
PS-8780	乳斑地柏(<i>Selaginella kraussiana</i> “Variegata”)	PtIP-96Aa	SEQ ID NO: 4	SEQ ID NO: 9
PS-8780CF	乳斑地柏	PtIP-96Ab	SEQ ID NO: 11	SEQ ID NO: 12
PS-8780CF	乳斑地柏	PtIP-96Ac	SEQ ID NO: 13	SEQ ID NO: 14
PS-8780CF	乳斑地柏	PtIP-96Ad	SEQ ID NO: 15	SEQ ID NO: 16
PS-8780CF	乳斑地柏	PtIP-96Ae	SEQ ID NO: 17	SEQ ID NO: 18
PS-8780CF	乳斑地柏	PtIP-96Af	SEQ ID NO: 19	SEQ ID NO: 20
PS-12342-2	楔叶铁线蕨 “Gracillimum”	PtIP-96Ag	SEQ ID NO: 21	SEQ ID NO: 22
PS-2-2	澳大利亚桫欏	PtIP-96Ah	SEQ ID NO: 23	SEQ ID NO: 24
混合物 1	铁线蕨属/贯众蕨属	PtIP-96Ca	SEQ ID NO: 25	SEQ ID NO: 26
混合物 1	铁线蕨属/贯众蕨属	PtIP-96Cb	SEQ ID NO: 27	SEQ ID NO: 28
PS-12342-1	楔叶铁线蕨 “Gracillimum”	PtIP-96Cc	SEQ ID NO: 29	SEQ ID NO: 30
PS-12342-4	楔叶铁线蕨 “Gracillimum”	PtIP-96Cd	SEQ ID NO: 31	SEQ ID NO: 32
PS-2-3	美叶铁线蕨(<i>Adiantum raddianum</i> “Fragrans”)	PtIP-96Ce	SEQ ID NO: 33	SEQ ID NO: 34
PS-3-1	密叶铁线蕨(<i>Adiantum raddianum</i> “Fritz Luthi”)	PtIP-96Cf	SEQ ID NO: 35	SEQ ID NO: 36
PS-3-2	密叶铁线蕨(<i>Adiantum raddianum</i> “Fritz Luthi”)	PtIP-96Cg	SEQ ID NO: 37	SEQ ID NO: 38
PS-3-3	密叶铁线蕨(<i>Adiantum raddianum</i> “Fritz Luthi”)	PtIP-96Ch	SEQ ID NO: 39	SEQ ID NO: 40
PS-11707	全缘贯众	PtIP-96Da	SEQ ID NO: 41	SEQ ID NO: 42
PS-5-1	澳大利亚桫欏	PtIP-96Db	SEQ ID NO: 43	SEQ ID NO: 44
PS-5-2	澳大利亚桫欏	PtIP-96Dc	SEQ ID NO: 45	SEQ ID NO: 46
PS-2-1	美叶铁线蕨(<i>Adiantum raddianum</i> “Fragrans”)	PtIP-96De	SEQ ID NO: 47	SEQ ID NO: 48
PS-2-4	美叶铁线蕨(<i>Adiantum raddianum</i> “Fragrans”)	PtIP-96Df	SEQ ID NO: 49	SEQ ID NO: 50
PS-5-3	澳大利亚桫欏	PtIP-96Dd	SEQ ID NO: 51	SEQ ID NO: 52

样品 ID	物种	名称	n.a.序列	a.a.序列
PS-9224AF	曲轴海金沙	PtIP-96Ed	SEQ ID NO: 53	SEQ ID NO: 54
PS-9135AF	二叉鹿角蕨	PtIP-96Ee	SEQ ID NO: 55	SEQ ID NO: 56
PS-9135AF	二叉鹿角蕨	PtIP-96Ef	SEQ ID NO: 57	SEQ ID NO: 58
混合物 3	鹿角蕨属/石杉属/海金沙属	PtIP-96Eg	SEQ ID NO: 59	SEQ ID NO: 60
混合物 3	鹿角蕨属/石杉属/海金沙属	PtIP-96Eh	SEQ ID NO: 61	SEQ ID NO: 62
PS-9135AF	二叉鹿角蕨	PtIP-96Ew	SEQ ID NO: 109	SEQ ID NO: 1
PS-9135AF	二叉鹿角蕨	PtIP-96Ei	SEQ ID NO: 63	SEQ ID NO: 64
PS-9135AF	二叉鹿角蕨	PtIP-96Ej	SEQ ID NO: 65	SEQ ID NO: 66
PS-9135AF	二叉鹿角蕨	PtIP-96Ek	SEQ ID NO: 67	SEQ ID NO: 68
PS-9135AF	二叉鹿角蕨	PtIP-96El	SEQ ID NO: 69	SEQ ID NO: 70
PS-9135AF	二叉鹿角蕨	PtIP-96Em	SEQ ID NO: 71	SEQ ID NO: 72
PS-9135AF	二叉鹿角蕨	PtIP-96En	SEQ ID NO: 73	SEQ ID NO: 74
PS-13327-1	对马耳蕨	PtIP-96Eo	SEQ ID NO: 75	SEQ ID NO: 76
PS-13327-2	对马耳蕨	PtIP-96Ep	SEQ ID NO: 77	SEQ ID NO: 78
PS-11698	兔脚蕨	PtIP-96Eq	SEQ ID NO: 79	SEQ ID NO: 80
PS-9210-1	连珠蕨 “Roberts”	PtIP-96Er	SEQ ID NO: 81	SEQ ID NO: 82
PS-9210-2	连珠蕨	PtIP-96Es	SEQ ID NO: 83	SEQ ID NO: 84
PS-9210-3	连珠蕨	PtIP-96Et	SEQ ID NO: 85	SEQ ID NO: 86
PS-9210-4	连珠蕨	PtIP-96Eu	SEQ ID NO: 87	SEQ ID NO: 88
PS-9210-5	连珠蕨	PtIP-96Ev	SEQ ID NO: 89	SEQ ID NO: 90
混合物 4	<i>Selaginella victoriae</i>	PtIP-96Hb	SEQ ID NO: 91	SEQ ID NO: 92
混合物 4	<i>Selaginella victoriae</i>	PtIP-96Hc	SEQ ID NO: 93	SEQ ID NO: 94
混合物 4	<i>Selaginella victoriae</i>	PtIP-96Hd	SEQ ID NO: 95	SEQ ID NO: 96
混合物 4	<i>Selaginella victoriae</i>	PtIP-96He	SEQ ID NO: 97	SEQ ID NO: 98
混合物 4	<i>Selaginella victoriae</i>	PtIP-96Hf	SEQ ID NO: 99	SEQ ID NO: 100
混合物 4	<i>Selaginella victoriae</i>	PtIP-96Hg	SEQ ID NO: 101	SEQ ID NO: 102
混合物 4	<i>Selaginella victoriae</i>	PtIP-96Hh	SEQ ID NO: 103	SEQ ID NO: 104
混合物 4	<i>Selaginella victoriae</i>	PtIP-96Hi	SEQ ID NO: 105	SEQ ID NO: 106
混合物 4	<i>Selaginella victoriae</i>	PtIP-96Hj	SEQ ID NO: 107	SEQ ID NO: 108

[0415]

[0416] 表3

[0417] 混合物 1: PS-12343 楔叶铁线蕨 “Pacific Maid”

	PS-8570	铁线蕨(<i>Adiantum capillus-veneris</i> L.)
	PS-12344	毛叶铁线蕨
	PS-12353	贯众
[0418]	混合物 3:	
	PS-9135AF	二叉鹿角蕨
	PS-9141AF	小垂枝石松
	PS-9092AF	女王鹿角蕨
	混合物 4:	
	PS-10890	<i>Selaginella victoriae</i>
	PS-10887	<i>Selaginella victoriae</i>
	PS-7896DF	<i>Selaginella victoriae</i>

[0419] cDNA通过由总RNA逆转录从具有鉴定的同源物的原始生物体产生或者基于由转录组装配而成的序列合成。使用设计用来编码各个同源物的序列的引物使编码PtIP-96同源物的cDNA衍生的基因从其相应cDNA中PCR扩增并亚克隆到植物瞬时表达载体中。通过测序来确认所克隆PCR产物。

[0420] 如在Needle程序(EMBOSS工具组合)中实现的,用Needleman-Wunsch算法计算的PtIP-96多肽同源物之间的氨基酸序列同一性百分比于表4a-4e示为矩阵表。矩阵表的空白部分未示出。

[0421] 表4a

	PtIP-96Aa SEQ ID NO: 9	PtIP-96Ab SEQ ID NO: 12	PtIP-96Ac SEQ ID NO: 14	PtIP-96Ad SEQ ID NO: 16	PtIP-96Ae SEQ ID NO: 18	PtIP-96Af SEQ ID NO: 20	PtIP-96Ag SEQ ID NO: 22	PtIP-96Ah SEQ ID NO: 24	PtIP-96Ca SEQ ID NO: 26	PtIP-96Cb SEQ ID NO: 28	PtIP-96Cc SEQ ID NO: 30
PtIP-96Ec SEQ ID NO: 6	56.3	56.5	55.5	56.0	56.0	56.0	56.3	56.5	55.5	55.2	56.3
PtIP-96Aa SEQ ID NO: 9	-	99.5	99.2	99.5	99.2	99.8	99.8	99.2	75.4	75.1	76.5
PtIP-96Ab SEQ ID NO: 12	-	-	98.8	99.0	98.8	99.2	99.2	99.2	75.4	75.1	76.5
PtIP-96Ac SEQ ID NO: 14	-	-	-	99.2	99.0	99.5	99.0	98.5	74.6	74.4	75.8
PtIP-96Ad SEQ ID NO: 16	-	-	-	-	99.2	99.8	99.2	98.8	75.1	74.9	76.2
PtIP-96Ae SEQ ID NO: 18	-	-	-	-	-	99.5	99.0	98.5	74.6	74.4	75.8
PtIP-96Af SEQ ID NO: 20	-	-	-	-	-	-	99.5	99.0	75.1	74.9	76.2

[0423]	PtIP-96Ag SEQ ID NO: 22	-	-	-	-	-	-	-	99.0	75.4	75.1	76.5
	PtIP-96Ah SEQ ID NO: 24	-	-	-	-	-	-	-	-	75.4	75.1	76.2
	PtIP-96Ca SEQ ID NO: 26	-	-	-	-	-	-	-	-	-	99.7	98.7
	PtIP-96Cb SEQ ID NO: 28	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	98.4

[0424] 表4b

	PtIP-96Cd SEQ ID NO: 32	PtIP-96Ce SEQ ID NO: 34	PtIP-96Cf SEQ ID NO: 36	PtIP-96Cg SEQ ID NO: 38	PtIP-96Ch SEQ ID NO: 40	PtIP-96Da SEQ ID NO: 42	PtIP-96Db SEQ ID NO: 44	PtIP-96Dc SEQ ID NO: 46	PtIP-96Dd SEQ ID NO: 52	PtIP-96De SEQ ID NO: 48	PtIP-96Df SEQ ID NO: 50
PtIP-96Ec SEQ ID NO: 6	55.5	56.3	56.0	56.0	54.0	60.3	57.3	57.3	57.1	53.5	52.8
PtIP-96Aa SEQ ID NO: 9	75.9	76.2	76.0	76.0	73.4	60.0	70.1	69.9	69.9	71.8	70.9
PtIP-96Ab SEQ ID NO: 12	75.9	76.2	76.0	76.0	73.4	60.3	70.4	70.1	70.1	72.0	71.2
PtIP-96Ac SEQ ID NO: 14	75.1	75.5	75.2	75.2	72.6	59.3	69.4	69.2	69.2	71.0	70.2
PtIP-96Ad SEQ ID NO: 16	75.6	76.0	75.8	75.8	73.1	59.8	69.7	69.4	69.4	71.3	70.4
PtIP-96Ae SEQ ID NO: 18	75.1	75.5	75.2	75.2	72.6	59.3	69.4	69.2	69.2	71.0	70.2
PtIP-96Af SEQ ID NO: 20	75.6	76.0	75.8	75.8	73.1	59.8	69.9	69.7	69.7	71.5	70.7
PtIP-96Ag SEQ ID NO: 22	75.9	76.2	76.0	76.0	73.4	59.8	70.1	69.9	69.9	71.5	70.7
PtIP-96Ah SEQ ID NO: 24	75.9	76.5	76.2	76.2	73.4	60.3	70.1	69.9	69.9	72.3	71.2
PtIP-96Ca SEQ ID NO: 26	99.5	98.7	98.4	98.4	97.4	61.8	68.8	68.8	68.5	64.9	66.2
PtIP-96Cb SEQ ID NO: 28	99.2	98.4	98.2	98.2	97.2	61.5	68.5	68.5	68.3	64.6	65.9
PtIP-96Cc SEQ ID NO: 30	98.2	99.7	99.5	99.5	96.1	62.6	69.3	69.3	69.1	65.7	64.9
PtIP-96Cd SEQ ID NO: 32	-	98.2	97.9	97.9	96.9	61.8	69.2	69.2	69.0	65.4	66.7

[0426]

	PtIP-96Cd SEQ ID NO: 32	PtIP-96Ce SEQ ID NO: 34	PtIP-96Cf SEQ ID NO: 36	PtIP-96Cg SEQ ID NO: 38	PtIP-96Ch SEQ ID NO: 40	PtIP-96Da SEQ ID NO: 42	PtIP-96Db SEQ ID NO: 44	PtIP-96Dc SEQ ID NO: 46	PtIP-96Dd SEQ ID NO: 52	PtIP-96De SEQ ID NO: 48	PtIP-96Df SEQ ID NO: 50
PtIP-96Ce SEQ ID NO: 34	-	-	99.7	99.7	96.1	62.6	69.3	69.3	69.1	66.0	64.9
PtIP-96Cf SEQ ID NO: 36	-	-	-	99.5	95.9	62.4	69.1	69.1	68.9	65.7	64.6
PtIP-96Cg SEQ ID NO: 38	-	-	-	-	95.9	62.4	69.3	69.3	69.1	65.7	64.6
PtIP-96Ch SEQ ID NO: 40	-	-	-	-	-	60.5	67.1	67.1	66.8	63.1	64.4
PtIP-96Da SEQ ID NO: 42	-	-	-	-	-	-	63.9	63.9	63.6	55.3	54.5
PtIP-96Db SEQ ID NO: 44	-	-	-	-	-	-	-	99.8	99.8	62.8	62.3
PtIP-96Dc SEQ ID NO: 46	-	-	-	-	-	-	-	-	99.5	62.8	62.3
PtIP-96Dd SEQ ID NO: 52	-	-	-	-	-	-	-	-	-	62.6	62.0
PtIP-96De SEQ ID NO: 48	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	98.7

[0427]

表4c

[0428]

	PtIP-96Ea SEQ ID NO: 7	PtIP-96Eb SEQ ID NO: 8	PtIP-96Ed SEQ ID NO: 54	PtIP-96Ee SEQ ID NO: 56	PtIP-96Ef SEQ ID NO: 58	PtIP-96Eg SEQ ID NO: 60	PtIP-96Eh SEQ ID NO: 62	PtIP-96Ei SEQ ID NO: 64	PtIP-96Ej SEQ ID NO: 66	PtIP-96Ek SEQ ID NO: 68	PtIP-96El SEQ ID NO: 70
PtIP-96Ec SEQ ID NO: 6	83.9	83.6	73.3	96.3	99.2	96.0	96.0	96.3	96.6	95.5	95.8
PtIP-96Aa SEQ ID NO: 9	56.2	56.0	58.2	55.8	56.0	55.6	55.6	55.8	55.6	55.6	55.6
PtIP-96Ab SEQ ID NO: 12	56.5	56.2	58.4	56.0	56.3	55.8	55.8	56.0	55.8	55.8	55.8
PtIP-96Ac SEQ ID NO: 14	55.5	55.2	57.4	55.1	55.3	54.8	54.8	55.1	54.8	54.8	54.8
PtIP-96Ad SEQ ID NO: 16	56.0	55.8	56.6	55.6	55.8	55.3	55.3	55.6	55.3	55.3	55.3

[0429]

	PtIP-96Ea SEQ ID NO: 7	PtIP-96Eb SEQ ID NO: 8	PtIP-96Ed SEQ ID NO: 54	PtIP-96Ee SEQ ID NO: 56	PtIP-96Ef SEQ ID NO: 58	PtIP-96Eg SEQ ID NO: 60	PtIP-96Eh SEQ ID NO: 62	PtIP-96Ei SEQ ID NO: 64	PtIP-96Ej SEQ ID NO: 66	PtIP-96Ek SEQ ID NO: 68	PtIP-96El SEQ ID NO: 70
PtIP-96Ae SEQ ID NO: 18	56.0	55.8	57.9	55.6	55.8	55.3	55.3	55.6	55.3	55.3	55.3
PtIP-96Af SEQ ID NO: 20	56.0	55.8	57.9	55.6	55.8	55.3	55.3	55.6	55.3	55.3	55.3
PtIP-96Ag SEQ ID NO: 22	56.2	56.0	58.2	55.8	56.0	55.6	55.6	55.8	55.6	55.6	55.6
PtIP-96Ah SEQ ID NO: 24	56.8	56.5	58.8	56.0	56.3	55.8	55.8	56.0	55.8	55.8	55.8
PtIP-96Ca SEQ ID NO: 26	54.1	54.1	55.5	54.6	55.5	54.6	54.4	54.6	54.4	54.6	54.6
PtIP-96Cb SEQ ID NO: 28	54.1	54.1	55.3	54.4	55.2	54.4	54.1	54.4	54.1	54.4	54.4
PtIP-96Cc SEQ ID NO: 30	54.4	54.4	56.3	55.4	56.3	55.4	55.2	55.4	55.2	55.4	55.4
PtIP-96Cd SEQ ID NO: 32	54.1	54.1	55.5	54.6	55.5	54.6	54.4	54.6	54.4	54.6	54.6
PtIP-96Ce SEQ ID NO: 34	54.7	54.7	56.6	55.4	56.3	55.4	55.2	55.4	55.2	55.4	55.4
PtIP-96Cf SEQ ID NO: 36	54.4	54.4	56.3	55.2	56.0	55.2	54.9	55.2	54.9	55.2	55.2
PtIP-96Cg SEQ ID NO: 38	54.7	54.7	56.6	55.2	56.0	55.2	54.9	55.2	54.9	55.2	55.2
PtIP-96Ch SEQ ID NO: 40	52.6	52.6	54.0	53.1	54.0	53.1	52.8	53.1	52.8	53.1	53.1
PtIP-96Da SEQ ID NO: 42	58.3	58.0	60.6	61.1	60.6	61.4	60.8	61.1	60.8	61.4	61.4
PtIP-96Db SEQ ID NO: 44	55.2	54.9	57.4	57.8	57.6	58.0	57.6	57.8	57.6	58.0	58.0
PtIP-96Dc SEQ ID NO: 46	55.2	54.9	57.4	57.8	57.6	58.0	57.6	57.8	57.6	58.0	58.0
PtIP-96Dd SEQ ID NO: 52	54.9	54.7	57.1	57.6	57.3	57.8	57.3	57.6	57.3	57.8	57.8
PtIP-96De SEQ ID NO: 48	54.6	54.3	55.9	52.8	53.5	52.5	52.5	52.8	52.5	52.8	52.5
PtIP-96Df SEQ ID NO: 50	54.0	53.8	54.9	52.0	52.8	51.8	51.8	52.0	51.8	52.0	51.8
PtIP-96Ea SEQ ID NO: 7	-	99.7	77.8	83.4	83.6	83.1	83.1	83.4	83.1	83.1	82.8
PtIP-96Eb SEQ ID NO: 8	-	-	77.5	83.1	83.3	82.8	82.8	83.1	82.8	82.8	82.5
PtIP-96Ed SEQ ID NO: 54	-	-	-	73.3	73.9	73.6	73.1	73.3	73.1	73.9	73.6

[0430]

	PtIP-96Ea SEQ ID NO: 7	PtIP-96Eb SEQ ID NO: 8	PtIP-96Ed SEQ ID NO: 54	PtIP-96Ee SEQ ID NO: 56	PtIP-96Ef SEQ ID NO: 58	PtIP-96Eg SEQ ID NO: 60	PtIP-96Eh SEQ ID NO: 62	PtIP-96Ei SEQ ID NO: 64	PtIP-96Ej SEQ ID NO: 66	PtIP-96Ek SEQ ID NO: 68	PtIP-96El SEQ ID NO: 70
PtIP-96Ee SEQ ID NO: 56	-	-	-	-	95.5	99.7	99.7	100	99.7	99.2	99.4
PtIP-96Ef SEQ ID NO: 58	-	-	-	-	-	95.8	95.2	95.5	95.8	96.3	96.0
PtIP-96Eg SEQ ID NO: 60	-	-	-	-	-	-	99.4	99.7	99.4	99.4	99.7
PtIP-96Eh SEQ ID NO: 62	-	-	-	-	-	-	-	99.7	99.4	98.9	99.2
PtIP-96Ei SEQ ID NO: 64	-	-	-	-	-	-	-	-	99.7	99.2	99.4
PtIP-96Ej SEQ ID NO: 66	-	-	-	-	-	-	-	-	-	98.9	99.2
PtIP-96Ek SEQ ID NO: 68	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	99.7

[0431] 表4d

[0432]

	PtIP-96Em SEQ ID NO: 72	PtIP-96En SEQ ID NO: 74	PtIP-96Eo SEQ ID NO: 76	PtIP-96Ep SEQ ID NO: 78	PtIP-96Eq SEQ ID NO: 80	PtIP-96Er SEQ ID NO: 82	PtIP-96Es SEQ ID NO: 84	PtIP-96Et SEQ ID NO: 86	PtIP-96Eu SEQ ID NO: 88	PtIP-96Ev SEQ ID NO: 90
PtIP-96Ec SEQ ID NO: 6	96.9	96.0	56.1	54.3	56.4	76.3	74.6	85.6	94.2	85.6
PtIP-96Aa SEQ ID NO: 9	55.3	55.8	59.1	62.8	62.2	54.9	54.6	55.9	57.0	55.6
PtIP-96Ab SEQ ID NO: 12	55.6	56.0	59.3	62.8	62.7	55.1	55.6	55.7	57.2	54.7
PtIP-96Ac SEQ ID NO: 14	54.6	55.1	58.4	62.1	61.5	54.1	53.8	55.1	56.2	54.8
PtIP-96Ad SEQ ID NO: 16	55.1	55.6	59.2	62.6	62.1	54.6	54.3	55.6	57.5	55.3
PtIP-96Ae SEQ ID NO: 18	55.1	55.6	58.4	62.1	61.5	54.4	54.1	55.1	56.8	54.8
PtIP-96Af SEQ ID NO: 20	55.1	55.6	58.9	62.6	62.0	54.6	54.3	55.6	56.8	55.3
PtIP-96Ag SEQ ID NO: 22	55.3	55.8	59.1	62.8	62.2	54.9	54.6	55.9	57.0	55.6

[0433]

	PtIP-96Em SEQ ID NO: 72	PtIP-96En SEQ ID NO: 74	PtIP-96Eo SEQ ID NO: 76	PtIP-96Ep SEQ ID NO: 78	PtIP-96Eq SEQ ID NO: 80	PtIP-96Er SEQ ID NO: 82	PtIP-96Es SEQ ID NO: 84	PtIP-96Et SEQ ID NO: 86	PtIP-96Eu SEQ ID NO: 88	PtIP-96Ev SEQ ID NO: 90
PtIP-96Ah SEQ ID NO: 24	55.6	56.0	59.3	63.3	62.7	55.4	55.1	55.9	57.5	54.9
PtIP-96Ca SEQ ID NO: 26	54.4	54.6	56.0	54.2	57.5	54.9	54.5	56.3	55.2	56.3
PtIP-96Cb SEQ ID NO: 28	54.1	54.4	55.7	54.0	57.2	54.6	54.2	56.1	54.9	56.1
PtIP-96Cc SEQ ID NO: 30	55.2	55.4	56.7	54.9	58.2	55.2	54.8	56.6	55.4	56.6
PtIP-96Cd SEQ ID NO: 32	54.4	54.6	56.0	54.2	57.5	54.9	54.5	56.3	55.2	56.3
PtIP-96Ce SEQ ID NO: 34	55.2	55.4	56.9	55.1	58.5	55.4	55.0	56.9	55.7	56.9
PtIP-96Cf SEQ ID NO: 36	54.9	55.2	56.7	54.9	58.2	55.2	54.8	56.6	55.4	56.6
PtIP-96Cg SEQ ID NO: 38	54.9	55.2	56.7	54.9	58.2	55.4	55.0	56.9	55.4	56.9
PtIP-96Ch SEQ ID NO: 40	52.8	53.1	55.0	53.3	56.5	53.4	53.0	54.8	53.6	54.8
PtIP-96Da SEQ ID NO: 42	60.6	61.1	64.2	62.1	64.7	56.5	55.1	58.8	59.6	58.8
PtIP-96Db SEQ ID NO: 44	57.3	57.8	65.4	66.2	69.1	54.3	54.3	56.6	57.7	56.8
PtIP-96Dc SEQ ID NO: 46	57.3	57.8	65.6	66.4	68.7	54.3	54.3	56.6	57.7	56.8
PtIP-96Dd SEQ ID NO: 52	57.1	57.6	65.2	66.0	68.9	54.0	54.0	56.3	57.5	56.5
PtIP-96De SEQ ID NO: 48	53.3	52.5	57.9	54.4	59.7	53.4	53.4	53.8	53.3	53.2
PtIP-96Df SEQ ID NO: 50	52.5	51.8	56.9	53.5	58.7	52.9	52.9	53.3	52.8	52.7
PtIP-96Ea SEQ ID NO: 7	83.9	83.4	54.4	52.7	54.1	80.7	79.4	89.8	82.5	89.5
PtIP-96Eb SEQ ID NO: 8	83.7	83.1	54.4	52.7	54.1	80.5	79.2	89.5	82.3	89.2
PtIP-96Ed SEQ ID NO: 54	73.3	73.3	55.3	53.5	58.5	72.5	70.8	77.8	72.1	77.8
PtIP-96Ee SEQ ID NO: 56	97.7	99.7	55.2	53.4	56.0	77.2	75.4	84.8	97.8	84.8
PtIP-96Ef SEQ ID NO: 58	97.7	95.2	56.4	54.5	56.6	76.1	74.3	85.4	93.3	85.4
PtIP-96Eg SEQ ID NO: 60	98.0	99.4	55.4	53.6	56.3	76.9	75.1	84.5	97.5	84.5

[0434]

	PtIP-96Em SEQ ID NO: 72	PtIP-96En SEQ ID NO: 74	PtIP-96Eo SEQ ID NO: 76	PtIP-96Ep SEQ ID NO: 78	PtIP-96Eq SEQ ID NO: 80	PtIP-96Er SEQ ID NO: 82	PtIP-96Es SEQ ID NO: 84	PtIP-96Et SEQ ID NO: 86	PtIP-96Eu SEQ ID NO: 88	PtIP-96Ev SEQ ID NO: 90
PtIP-96Eh SEQ ID NO: 62	97.5	99.4	54.9	53.1	55.8	76.9	75.1	84.5	97.5	84.5
PtIP-96Ei SEQ ID NO: 64	97.7	99.7	55.2	53.4	56.0	77.2	75.4	84.8	97.8	84.8
PtIP-96Ej SEQ ID NO: 66	98.0	99.4	54.9	53.1	55.8	76.9	75.1	84.5	97.5	84.5
PtIP-96Ek SEQ ID NO: 68	98.6	98.9	55.4	53.6	56.3	76.9	75.1	84.5	96.9	84.5
PtIP-96El SEQ ID NO: 70	98.3	99.2	55.4	53.6	56.3	76.6	74.9	84.2	97.2	84.2
PtIP-96Em SEQ ID NO: 72	-	97.5	55.2	53.4	56.0	76.9	75.1	85.4	95.6	85.4
PtIP-96En SEQ ID NO: 74	-	-	55.2	53.4	56.0	77.2	75.4	84.8	97.5	84.8
PtIP-96Eo SEQ ID NO: 76	-	-	-	94.7	83.0	51.9	51.7	55.5	55.2	55.6
PtIP-96Ep SEQ ID NO: 78	-	-	-	-	86.7	50.2	50.1	53.7	53.4	53.8
PtIP-96Eq SEQ ID NO: 80	-	-	-	-	-	51.8	52.4	55.7	55.3	56.5
PtIP-96Er SEQ ID NO: 82	-	-	-	-	-	-	97.8	83.0	76.5	83.0
PtIP-96Es SEQ ID NO: 84	-	-	-	-	-	-	-	81.1	76.0	81.1
PtIP-96Et SEQ ID NO: 86	-	-	-	-	-	-	-	-	83.9	99.7
PtIP-96Eu SEQ ID NO: 88	-	-	-	-	-	-	-	-	-	83.9

[0435] 表4e

[0436]

	PtIP-96Ha SEQ ID NO: 10	PtIP-96Hb SEQ ID NO: 92	PtIP-96Hc SEQ ID NO: 94	PtIP-96Hd SEQ ID NO: 96	PtIP-96He SEQ ID NO: 98	PtIP-96Hf SEQ ID NO: 100	PtIP-96Hg SEQ ID NO: 102	PtIP-96Hh SEQ ID NO: 104	PtIP-96Hi SEQ ID NO: 106	PtIP-96Hj SEQ ID NO: 108
PtIP-96Ec SEQ ID NO: 6	29.4	29.4	29.7	29.7	29.6	29.4	29.4	29.2	29.2	29.6

[0437]

	PtIP-96Ha SEQ ID NO: 10	PtIP-96Hb SEQ ID NO: 92	PtIP-96Hc SEQ ID NO: 94	PtIP-96Hd SEQ ID NO: 96	PtIP-96He SEQ ID NO: 98	PtIP-96Hf SEQ ID NO: 100	PtIP-96Hg SEQ ID NO: 102	PtIP-96Hh SEQ ID NO: 104	PtIP-96Hi SEQ ID NO: 106	PtIP-96Hj SEQ ID NO: 108
PtIP-96Aa SEQ ID NO: 9	27.0	27.2	27.8	27.8	27.6	27.6	27.6	27.0	27.4	27.6
PtIP-96Ab SEQ ID NO: 12	26.8	27.0	27.6	27.6	27.4	27.4	27.4	26.8	27.2	27.4
PtIP-96Ac SEQ ID NO: 14	26.4	26.6	27.2	27.2	27.0	27.0	27.0	26.4	26.8	27.0
PtIP-96Ad SEQ ID NO: 16	26.8	27.0	27.6	27.6	27.4	27.4	27.4	26.8	27.2	27.4
PtIP-96Ae SEQ ID NO: 18	26.6	26.8	27.4	27.4	27.2	27.2	27.2	26.6	27.0	27.2
PtIP-96Af SEQ ID NO: 20	26.8	27.0	27.6	27.6	27.4	27.4	27.4	26.8	27.2	27.4
PtIP-96Ag SEQ ID NO: 22	27.0	27.2	27.8	27.8	27.6	27.6	27.6	27.0	27.4	27.6
PtIP-96Ah SEQ ID NO: 24	26.8	27.0	27.6	27.6	27.4	27.4	27.4	26.8	27.2	27.4
PtIP-96Ca SEQ ID NO: 26	28.8	29.0	29.8	29.8	30.0	29.6	29.6	28.8	29.4	30.0
PtIP-96Cb SEQ ID NO: 28	28.8	29.0	29.8	29.8	30.0	29.6	29.6	28.8	29.4	30.0
PtIP-96Cc SEQ ID NO: 30	28.8	29.0	29.8	29.8	30.0	29.6	29.6	28.8	29.3	30.0
PtIP-96Cd SEQ ID NO: 32	28.8	29.0	29.8	29.8	30.0	29.6	29.6	28.8	29.4	30.0
PtIP-96Ce SEQ ID NO: 34	28.8	29.0	29.8	29.8	30.0	29.6	29.6	28.8	29.3	30.0
PtIP-96Cf SEQ ID NO: 36	28.5	28.8	29.6	29.6	29.8	29.3	29.3	28.5	29.1	29.8
PtIP-96Cg SEQ ID NO: 38	28.5	28.8	29.6	29.6	29.8	29.3	29.3	28.5	29.1	29.8
PtIP-96Ch SEQ ID NO: 40	28.4	28.6	29.4	29.4	29.6	29.2	29.2	28.4	29.0	29.6
PtIP-96Da SEQ ID NO: 42	34.3	34.6	35.1	35.1	35.0	34.6	34.6	34.3	34.3	35.0
PtIP-96Db SEQ ID NO: 44	26.9	27.1	27.2	27.2	27.0	26.8	26.8	26.9	26.6	27.0
PtIP-96Dc SEQ ID NO: 46	26.9	27.1	27.2	27.2	27.0	26.8	26.8	26.9	26.6	27.0
PtIP-96Dd SEQ ID NO: 52	26.7	26.9	27.0	27.0	26.8	26.6	26.6	26.7	26.4	26.8
PtIP-96De SEQ ID NO: 48	25.9	26.3	26.9	26.9	26.7	26.7	26.7	26.1	26.5	26.9

[0438]

	PtIP-96Ha SEQ ID NO: 10	PtIP-96Hb SEQ ID NO: 92	PtIP-96Hc SEQ ID NO: 94	PtIP-96Hd SEQ ID NO: 96	PtIP-96He SEQ ID NO: 98	PtIP-96Hf SEQ ID NO: 100	PtIP-96Hg SEQ ID NO: 102	PtIP-96Hh SEQ ID NO: 104	PtIP-96Hi SEQ ID NO: 106	PtIP-96Hj SEQ ID NO: 108
PtIP-96Df SEQ ID NO: 50	25.9	26.4	26.9	26.9	26.7	26.7	26.7	26.2	26.5	26.9
PtIP-96Ea SEQ ID NO: 7	29.0	29.0	29.3	29.3	28.7	29.0	29.0	28.8	28.8	28.7
PtIP-96Eb SEQ ID NO: 8	29.0	29.0	29.3	29.3	28.7	29.0	29.0	28.8	28.8	28.7
PtIP-96Ed SEQ ID NO: 54	28.9	28.9	29.1	29.1	29.0	28.9	28.9	28.6	28.6	29.0
PtIP-96Ee SEQ ID NO: 56	29.7	29.7	29.9	29.9	29.8	29.7	29.7	29.4	29.4	29.8
PtIP-96Ef SEQ ID NO: 58	29.4	29.4	29.7	29.7	29.6	29.4	29.4	29.2	29.2	29.6
PtIP-96Eg SEQ ID NO: 60	29.9	29.9	30.1	30.1	30.0	29.9	29.9	29.7	29.7	30.0
PtIP-96Eh SEQ ID NO: 62	29.4	29.4	29.7	29.7	29.6	29.4	29.4	29.2	29.2	29.6
PtIP-96Ei SEQ ID NO: 64	29.7	29.7	29.9	29.9	29.8	29.7	29.7	29.4	29.4	29.8
PtIP-96Ej SEQ ID NO: 66	29.7	29.7	29.9	29.9	29.8	29.7	29.7	29.4	29.4	29.8
PtIP-96Ek SEQ ID NO: 68	29.7	29.7	29.9	29.9	29.8	29.7	29.7	29.4	29.4	29.8
PtIP-96El SEQ ID NO: 70	29.9	29.9	30.1	30.1	30.0	29.9	29.9	29.7	29.7	30.0
PtIP-96Em SEQ ID NO: 72	29.2	29.2	29.4	29.4	29.4	29.2	29.2	29.0	29.0	29.4
PtIP-96En SEQ ID NO: 74	29.4	29.4	29.7	29.7	29.6	29.4	29.4	29.2	29.2	29.6
PtIP-96Eo SEQ ID NO: 76	25.3	25.5	26.1	26.1	25.9	25.5	25.5	25.3	25.3	25.9
PtIP-96Ep SEQ ID NO: 78	24.6	24.8	25.3	25.3	25.1	24.8	24.8	24.6	24.6	25.1
PtIP-96Eq SEQ ID NO: 80	25.4	25.6	26.2	26.2	26.0	25.6	25.6	25.4	25.4	26.0
PtIP-96Er SEQ ID NO: 82	29.0	29.3	29.5	29.5	29.0	29.3	29.3	29.3	29.0	29.0
PtIP-96Es SEQ ID NO: 84	28.6	28.8	29.0	29.0	28.5	28.8	28.8	28.8	28.6	28.5
PtIP-96Et SEQ ID NO: 86	29.3	29.3	29.5	29.5	29.0	29.3	29.3	29.3	29.0	29.0
PtIP-96Eu SEQ ID NO: 88	29.3	29.3	29.5	29.5	29.0	29.3	29.3	29.0	29.0	29.0

	PtIP-96Ha SEQ ID NO: 10	PtIP-96Hb SEQ ID NO: 92	PtIP-96Hc SEQ ID NO: 94	PtIP-96Hd SEQ ID NO: 96	PtIP-96He SEQ ID NO: 98	PtIP-96Hf SEQ ID NO: 100	PtIP-96Hg SEQ ID NO: 102	PtIP-96Hh SEQ ID NO: 104	PtIP-96Hi SEQ ID NO: 106	PtIP-96Hj SEQ ID NO: 108
[0439] PtIP-96Ev SEQ ID NO: 90	29.3	29.3	29.5	29.5	29.0	29.3	29.3	29.3	29.0	29.0
PtIP-96Ha SEQ ID NO: 10	-	98.7	96.7	97.0	97.5	97.7	97.5	98.7	97.7	97.2
PtIP-96Hb SEQ ID NO: 92	-	-	97.5	96.7	97.2	97.5	97.2	99.5	98.5	97.0
PtIP-96Hc SEQ ID NO: 94	-	-	-	98.7	98.2	97.0	96.7	97.5	98.0	98.0
PtIP-96Hd SEQ ID NO: 96	-	-	-	-	98.5	98.2	98.0	96.7	97.2	98.2
PtIP-96He SEQ ID NO: 98	-	-	-	-	-	97.7	97.5	97.2	97.7	99.7
PtIP-96Hf SEQ ID NO: 100	-	-	-	-	-	-	99.7	97.5	98.5	97.5
PtIP-96Hg SEQ ID NO: 102	-	-	-	-	-	-	-	97.2	98.2	97.2
PtIP-96Hh SEQ ID NO: 104	-	-	-	-	-	-	-	-	98.5	97.0
PtIP-96Hi SEQ ID NO: 106	-	-	-	-	-	-	-	-	-	97.5

[0440] 实施例4-通过蛋白质纯化鉴定PtIP-96同源物

[0441] 还可通过蛋白质纯化、质谱 (MS) 和PCR克隆对来自小翠云草或其它石松类和蕨类的PtIP-96多肽同源物进行鉴定。

[0442] 收集植物组织,在液氮中快速冷冻并在-80℃下储存。在储存之后,在液氮温度下用Geno球磨机((SPEX, Metuchen, NJ)将其研磨成细粉。为了提取蛋白质,向每5g鲜重组织中添加20mL的50mM Tris缓冲液(pH 8.0)、150mM KCl、2.5mM EDTA、1.5%聚乙烯聚吡咯烷酮(PVPP)和蛋白酶抑制剂混合物(Roche Diagnostics, Germany)。将匀浆离心以移除细胞碎片,过滤通过0.22um过滤器并用10ml Zeba Spin脱盐柱(Thermo Scientific, IL.)脱盐。

[0443] 对于蛋白质纯化,将植物材料在液氮温度下用Geno球磨机((SPEX, Metuchen, NJ)研磨成细粉。在100mM Tris缓冲液(pH 8.0)、150mM KCl、2.5mM EDTA、1.5%PVPP和蛋白酶抑制剂混合物(Roche Diagnostics, Germany)中提取蛋白质。使提取的材料离心以移除细胞碎片,过滤通过Miracloth[®](Calbiochem)并将硫酸铵添加达至35%并使其平衡。对悬浮液进行离心并使所得沉淀物重新悬浮于较小体积的20mM Tris缓冲液(pH 8)中。在通过离心澄清之后,用在20mM Tris缓冲液(pH 8)中平衡的Sephadex G25柱(GE, Piscataway, NJ)进行脱盐。将合并的经脱盐蛋白质级分装载到1ml Mono Q柱(GE, Piscataway, N.J.)上并用含线性(60CV(柱体积))梯度的0M至0.7M NaCl的20mM Tris(pH 8.0)洗脱。混合对SBL和ECB呈活性的级分并脱盐到25mM MOPS(pH 6.7)中。使用4CV线性梯度(0%缓冲液B)将活性级分装载到4mL Mono P柱(缓冲液A:25mM MOPS, pH 6.7;缓冲液B:Polybuffer 74, pH 4)上,之后用15CV100%缓冲液B进行洗涤。

[0444] 在用胰蛋白酶消化蛋白质之后,通过MS分析进行蛋白鉴定。在经亮蓝G-250染料

染色的LDS-PAGE凝胶上对样品进行电泳之后,获得供MS鉴定的蛋白质。从凝胶中切下目的条带,脱色,用二硫苏糖醇还原并然后用碘乙酰胺烷基化。在用胰蛋白酶消化过夜之后,在Thermo Q Exactive Orbitrap质谱仪(Thermo Fisher Scientific)上通过纳米液相色谱/电喷雾串联质谱(nano-LC/ES-MSMS)对样品进行分析,该质谱仪与Eksigent NanoLC Ultra 1-D和nano-1c系统以及nanolc-as2自动进样器(AB Sciex)接口连接。使用Mascot搜索引擎(MatrixScience),通过在包含来自源植物材料的转录物的内部转录组数据库和公开蛋白质数据库Swiss-Prot中搜索 nano-LC/MSMS数据进行蛋白质鉴定。

[0445] 实施例5:在叶片和昆虫生物测定中瞬时表达

[0446] 利用在病毒启动子dMMV和/或AtUBQ10控制下于瞬时表达系统中表达的PtIP-96多肽(Dav等人,(1999)Plant Mol.Biol.40:771-782;Norris SR 等人(1993)Plant Mol Biol.21(5):895-906)。将农杆菌细胞悬浮液引入完整组织的植物细胞使得可以测量或研究可重复感染和后续植物来源转基因表达的农杆菌渗入方法是本领域熟知的(Kapila, et.al.,(1997)Plant Science 122:101-108(Kapila等人,1997年,《植物科学》,第122卷,第101-108页))。简而言之,用测试和对照菌株的正常化细菌细胞培养物对单叶期的矮菜豆(菜豆,Phaseolus vulgaris)或大豆(Glycine max)进行农杆菌渗入。在4至7日后,从各个小植株切下叶圆片并单独用2只新生大豆夜蛾(SBL)(黄豆银纹夜蛾(Chrysodeixis includens))、2只新生玉米穗虫(CEW)(谷实夜蛾(Helicoverpa zea))、或4只新生欧洲玉米螟(ECB)(玉米螟(Ostrinia nubialis))侵染。用仅包含DsRed荧光标记(Clontech™, 1290Terra Bella Ave.Mountain View,CA 94043)表达载体的农杆菌生成对照叶圆片。所包括的得自未渗透植物的叶圆片作为第二对照。在侵染之后两(CEW)或三(ECB,SBL,FAW)天对绿色叶组织的消耗进行评分。瞬时表达的PtIP-96多肽保护叶圆片不被侵染的昆虫消耗,而对于阴性对照和未处理的组织则观察到完全的绿色组织消耗(表5)。nd= 未测定

[0447] 表5

[0448]

多肽	序列标识符	SBL	CEW	ECB	VBC
PtIP-96Aa	SEQ ID NO: 9	++	++	+	-
PtIP-96Ab	SEQ ID NO: 12	++	++	++	++
PtIP-96Ac	SEQ ID NO: 14	+	++	未测定	未测定
PtIP-96Ad	SEQ ID NO: 16	++	++	++	++
PtIP-96Ae	SEQ ID NO: 18	+	-	未测定	未测定
PtIP-96Af	SEQ ID NO: 20	++	++	未测定	未测定
PtIP-96Ca	SEQ ID NO: 26	++	++	++	++
PtIP-96Cb	SEQ ID NO: 28	++	++	未测定	未测定
PtIP-96Da	SEQ ID NO: 42	+	+	+	+
PtIP-96Db	SEQ ID NO: 44	++	++	未测定	-
PtIP-96Dc	SEQ ID NO: 46	++	++	未测定	+
PtIP-96Dd	SEQ ID NO: 52	+	+	未测定	+
PtIP-96De	SEQ ID NO: 48	+	+	未测定	-
PtIP-96Df	SEQ ID NO: 50	+	+	未测定	-
PtIP-96Eb	SEQ ID NO: 8	未测定	++	-	+
PtIP-96Ea	SEQ ID NO: 7	未测定	++	-	+
PtIP-96Ec	SEQ ID NO: 6	未测定	++	+	++
PtIP-96Ew	SEQ ID NO: 6	未测定	++	++	++
PtIP-96Ee	SEQ ID NO: 56	未测定	++	+	++
PtIP-96Ef	SEQ ID NO: 58	未测定	++	+	++
PtIP-96Eg	SEQ ID NO: 60	未测定	++	+	++
PtIP-96Eh	SEQ ID NO: 62	未测定	++	+	++
PtIP-96Ei	SEQ ID NO: 64	未测定	++	+	++
PtIP-96Ej	SEQ ID NO: 66	未测定	++	++	++
PtIP-96Ek	SEQ ID NO: 68	未测定	++	++	++
PtIP-96El	SEQ ID NO: 70	未测定	++	+	++
PtIP-96Em	SEQ ID NO: 72	未测定	++	+	++

[0449]

多肽	序列标识符	SBL	CEW	ECB	VBC
PtIP-96En	SEQ ID NO: 74	未测定	++	++	++
PtIP-96Ed	SEQ ID NO: 54	-	++	+	++
PtIP-96Ha	SEQ ID NO: 10	未测定	+	++	未测定
PtIP-96Hb	SEQ ID NO: 92	-	+	未测定	未测定
PtIP-96Hc	SEQ ID NO: 94	-	+	未测定	未测定
PtIP-96Hd	SEQ ID NO: 96	-	+	未测定	未测定
PtIP-96He	SEQ ID NO: 98	-	+	未测定	未测定
PtIP-96Hf	SEQ ID NO: 100	-	+	未测定	未测定
PtIP-96Hg	SEQ ID NO: 102	-	+	未测定	未测定
PtIP-96Hh	SEQ ID NO: 104	-	+	未测定	未测定
PtIP-96Hi	SEQ ID NO: 106	-	+	未测定	未测定
PtIP-96Hj	SEQ ID NO: 108	-	-	未测定	未测定

[0450] 实施例6:农杆菌介导的玉蜀黍转化和转基因植物的再生

[0451] 为用本公开PtIP-96多肽进行农杆菌属介导的玉蜀黍转化,可使用 Zhao的方法(美国专利No.5,981,840和PCT专利公布No.WO 1998/32326;将所述专利的内容以引用方式并入本文)。简而言之,从玉蜀黍分离出未成熟胚,在一定条件下使胚与农杆菌悬浮液接触,使得细菌能够将核苷酸序列转移到至少一个未成熟胚的至少一个细胞(步骤1:感染步

骤)。在这个步骤中,将未成熟胚浸入农杆菌悬浮液中以引发接种。将胚与农杆菌共培养一段时间(步骤2:共培养步骤)。在该感染步骤之后,可将未成熟胚在固体培养基上进行培养。在这个共培养期之后,设想到任意的“静息”步骤。在这个静息步骤中,将胚在至少一种已知抑制农杆菌生长的抗生素的存在下进行温育,不添加用于植物转化的选择剂(步骤3:静息步骤)。将未成熟胚在固体培养基上与抗生素一起培养,但不加选择剂,这为了消除农杆菌并为了受感染细胞的静息期。接着,将经接种的胚在含有选择剂的培养基上进行培养,回收生长出的转化愈伤组织(步骤4:选择步骤)。将未成熟胚在固体培养基上与选择剂一起进行培养,从而导致转化细胞的选择性生长。然后将愈伤组织再生成植株(步骤5:再生步骤),并将在选择性培养基上生长的愈伤组织在固体培养基上进行培养以再生出植物。

[0452] 实施例7:大豆(Glycine max)的转化和再生

[0453] 使用BIORAD Biolistic PDS1000/He仪器和质粒或片段DNA,通过粒子枪轰击的方法(Klein等人,Nature (London) 327:70-73 (1987);美国专利 No.4,945,050)生成转基因大豆品系。使用以下原液和培养基进行大豆植物的转化和再生:

[0454] 原液:

[0455] 硫酸盐100X原液:

[0456] 37.0g $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 、1.69g $MnSO_4 \cdot H_2O$ 、0.86g $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ 、0.0025g $CuSO_4 \cdot 5H_2O$

[0457] 卤化物100X原液:

[0458] 30.0g $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ 、0.083g KI、0.0025g $CoCl_2 \cdot 6H_2O$

[0459] P、B、M₀ 100X原液:

[0460] 18.5g KH_2PO_4 、0.62g H_3BO_3 、0.025g $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$

[0461] Fe EDTA 100X原液:

[0462] 3.724g Na_2EDTA 、2.784g $FeSO_4 \cdot 7H_2O$

[0463] 2,4-D原液:

[0464] 10mg/mL维生素

[0465] B5维生素,1000X原液:

[0466] 100.0g肌醇、1.0g烟酸、1.0g盐酸吡哆醇、10g盐酸硫胺素。

[0467] 培养基(每升):

[0468] SB199固体培养基:

[0469] 1包装MS盐(Gibco/BRL-目录号11117-066)、1mL B5维生素 1000X原液、30g蔗糖、4ml 2,4-D(40mg/L终浓度),pH 7.0,2g结冷胶

[0470] SB1固体培养基:

[0471] 1包装MS盐(Gibco/BRL-目录号11117-066)、1mL B5维生素 1000X原液、31.5g葡萄糖、2mL 2,4-D(20mg/L终浓度),pH 5.7,8g TC琼脂

[0472] SB196:

[0473] 上述原液1-4各10mL、1mL B5维生素原液、0.463g $(NH_4)_2SO_4$ 、2.83g KN_3 、1mL 2,4D原液、1g天冬酰胺、10g蔗糖,pH 5.7

[0474] SB71-4:

[0475] 甘博格(Gamborg) B5盐,20g蔗糖、5g TC琼脂,pH5.7。

[0476] SB103:

[0477] 1pk.Murashige&Skoog盐混合物、1mL B5维生素原液、750mg MgCl₂六水合物、60g 麦芽糖、2g脱乙酰吉兰糖胶(gelrite), pH5.7。

[0478] SB166:

[0479] 补充有5g/L活性炭的SB103。

[0480] 大豆胚发生悬浮培养物的引发:

[0481] 在种植45-55天后从可用的大豆植株挑取带有不成熟种子的豆荚,剥壳并放入无菌绛红色盒子中。将大豆种子在含有1滴Ivory™皂的5% Clorox®溶液(即,95ml的高压灭菌蒸馏水加5ml Clorox®和1滴皂,充分混合)中振摇15分钟,对它们进行灭菌。用2L无菌蒸馏水清洗种子,将小于3mm的种子各自放在单独的显微镜载玻片上。切开种子的小的一端,将子叶挤出种皮。将子叶转移到含有SB199培养基的平板(每个平板25-30个子叶)2周,然后转移到SB12-4周。用纤维带包住平板。这个时间后,切取次生胚并放入SB196液体培养基中7天。

[0482] 培养条件:

[0483] 将大豆胚发生悬浮培养物(栽培变种93Y21)在100-150rpm、26℃的回转摇床上保持在50mL液体培养基SB196中,光周期为16:8小时白天/黑夜,光强度为80-100μE/m²/s。每7-14天通过将最多1/2硬币大小数量的组织(组织块聚团在一起)接种到50mL新鲜液体SB196中,进行培养物继代培养。

[0484] 用于轰击的DNA的制备:

[0485] 在粒子枪轰击程序中,可以使用纯化的1)整个质粒DNA;或2)仅含有所关注的重组DNA表达盒的DNA片段。对于每十七次轰击转化,制备85μL悬浮液,其中含有每个DNA质粒的每碱基对1至90皮克的质粒DNA。按照如下方式将DNA质粒或片段共沉淀到金粒子上。将悬浮液中的DNA添加到50μL的10-60mg/mL 0.6μm金粒子悬浮液中,然后与50μL CaCl₂ (2.5M)和20μL亚精胺(0.1M)混合。将混合物涡旋5秒,在微量离心机中短暂离心5秒,然后移除上清液。然后用150μL的100%乙醇洗涤DNA-包被的粒子一次,涡旋并在微量离心机中短暂离心,然后重新悬浮于85μL的无水乙醇中。然后将5μL DNA-包被的金粒子加载至每个巨载体盘上。

[0486] 组织制备和用DNA轰击:

[0487] 将大约100mg的两周龄悬浮培养物置于空的60mm×15mm培养皿中,用移液管从组织移除残余液体。将组织距离阻滞屏(retaining screen)大约3.5英寸放置,每个平板的组织轰击一次。将膜破裂压力设定为650psi,并将室抽至28英寸汞柱的真空。轰击后,将每个平板中的组织分至两个培养瓶,放回进液体培养基中,并如上所述进行培养。

[0488] 转化胚的选择与植物再生

[0489] 轰击后,将每个经轰击的平板中的组织分放至SB196液体培养维持培养基的两个培养瓶(单位平板的经轰击的组织)。轰击后七天,用补充有100ng/ml选择剂的新鲜SB196培养维持培养基(选择培养基)更换每个培养瓶中的液体培养基。对于转化的大豆细胞的选择,所用选择剂可以为磺酰脲(SU)化合物,其化学名为2-氯-N-((4-甲氧基-6甲基-1,3,5-三嗪-2-基)氨基羰基)苯磺酰胺(常用名:DPX-W4189和氯磺隆)。氯磺隆为DuPont磺酰

脲类除草剂GLEAN[®]中的活性成分。每两周更换一次包含SU的选择培养基,进行8周。8周选择期之后,观察到绿色转化组织的岛状物从未转化的坏死的胚发生簇长出来。将这些推定转基因事件分离并保持在含有100ng/ml SU的SB196液体培养基中另外5周,并且每1-2周更换一次培养基,从而产生新的无性繁殖的转化胚发生悬浮培养物。胚与SU接触总共约13周。然后将悬浮培养物继代培养,并作为未成熟胚簇维持,并且还通过使单独体细胞胚成熟和萌发而再生成完整植株。

[0490] 在成熟培养基上四周(在SB166上1周,接着在SB103上3周)后,体细胞胚变得适于萌发。然后将其从成熟培养基中移除并在空培养皿中干燥至多七天。然后将经干燥的胚种植到SB71-4培养基中,使它们在与如上所述相同的光照和温度条件下萌发。将萌发的胚转移到盆栽基质并生长至成熟以产生种子。

[0491] 实施例8-转基因植物的粒子轰击转化和再生

[0492] 用含有编码杀昆虫蛋白的核苷酸序列的质粒对来自温室供体植物的未成熟玉蜀黍胚进行轰击。将穗去壳并在30%Clorox[®]漂白剂加0.5%Micro去污剂中表面灭菌20分钟,然后用无菌水清洗两次。将未成熟胚切下,并以胚轴一侧朝下(盾片一侧朝上)放置,每板25个胚,在560Y培养基上放置4小时,然后在2.5cm靶区内排成一行准备进行轰击。采用如下的CaCl₂沉淀程序,将包含可操作地连接至启动子的编码杀昆虫蛋白的核苷酸序列的质粒载体DNA沉淀到1.1 μ m(平均直径)钨小球上:100 μ L制备的钨粒子水溶液;10 μ L(1 μ g)DNA/Tris EDTA缓冲液(1 μ g总DNA);100 μ L 2.5M CaCl₂和10 μ L 0.1M亚精胺。

[0493] 将每种试剂依序加到钨粒子悬浮液,同时保持在多管涡旋机上。将最终的混合物进行短暂超声处理,并且让其在恒定漩涡混合下温育10分钟。在沉淀期后,将各管进行短暂离心,除去液体,用500ml 100%乙醇洗涤,离心30秒。再次除去液体,将105 μ l的100%乙醇加到最终的钨粒子小球。对于粒子枪轰击,将钨/DNA粒子进行短暂超声处理,并取10 μ L点滴到每个巨载体(macrocarrier)的中央上,让其干燥约2分钟后进行轰击。将样品板在粒子枪中以水平#4进行轰击。所有样品接受650 PSI的单次射击,每管的制备粒子/DNA共取十个等分试样。

[0494] 在轰击之后,将胚保持在560Y培养基上2天,然后转移到含有3mg/L双丙氨磷的560R选择培养基,每隔2周进行传代培养。在进行大约10周的选择后,将抗选择的愈伤组织克隆转移到288J培养基以引发植物再生。在体细胞胚成熟后(2-4周),将发育良好的体细胞胚转移到培养基进行萌发并转移到有光照的培养室。大约7-10天后,将发育的小植株转移到管中的272V无激素培养基7-10天,直到小植株完全长好。然后将植株转移到含有盆栽土的浅箱嵌块(inserts in flats)(相当于2.5英寸盆),在生长室中生长1周,随后在温室中另外生长1-2周,然后转移到典型的600个盆(1.6加仑)并生长至成熟。通过本领域已知的测定法,如免疫测定和蛋白质印迹,监测植株并对PtIP-96多肽的表达进行评分。

[0495] 使用本领域已知的标准生物测定法,测试对杀昆虫蛋白表达呈阳性的转基因玉蜀黍植物的杀虫活性。此类方法包括例如根切除生物测定和整株植物生物测定。参见例如美国专利申请公布No.US 2003/0120054和国际公布No.WO 2003/018810。

[0496] 轰击培养基(560Y)包含4.0g/l N6基础盐(SIGMA C-1416)、1.0ml/l Eriksson维生素混合物(1000倍,SIGMA-1511)、0.5mg/l盐酸硫胺、120.0g/l蔗糖、1.0mg/l 2,4-D和2.88g/l L-脯氨酸(用KOH调至pH 5.8后用去离子水定容);2.0g/l Gelrite(在用去离子

水定容后加入)和8.5mg/1硝酸银(在培养基灭菌并冷却到室温后加入)。选择培养基(560R)包含4.0g/1 N6 基础盐(SIGMA C-1416)、1.0ml/1Eriksson维生素混合物(1000倍, SIGMA- 1511)、0.5mg/1盐酸硫胺、30.0g/1蔗糖和2.0mg/1 2,4-D(用KOH调至pH 5.8后用去离子水定容);3.0g/1 Gelrite(在用去离子水定容后加入)和 0.85mg/1硝酸银和3.0mg/1双丙氨磷(均在培养基灭菌并冷却到室温后加入)。

[0497] 植物再生培养基(288J)包含4.3g/1 MS盐(GIBCO 11117-074)、5.0ml/1 MS维生素原液(0.100g烟酸、0.02g/1盐酸硫胺、0.10g/1盐酸吡哆辛和 0.40g/1甘氨酸,用精制去离子水定容)(Murashige和Skoog, (1962) *Physiol. Plant.* 15:473)、100mg/1肌醇、0.5mg/1玉米素、60g/1蔗糖和1.0ml/10.1mM 脱落酸(调至pH 5.6后用精炼去离子水定容);3.0g/1 Gelrite(在用去离子水定容后加入)和1.0mg/1吲哚乙酸和3.0mg/1双丙氨磷(均在培养基灭菌并冷却到60℃后加入)。无激素培养基(272V)包含4.3g/1 MS盐(GIBCO 11117-074)、5.0ml/1 MS维生素原液(0.100g/1烟酸、0.02g/1盐酸硫胺素、0.10g/1盐酸吡哆辛和0.40g/1甘氨酸,用精制去离子水定容)、0.1g/1肌醇和 40.0g/1蔗糖(在调至pH 5.6后用精炼去离子水定容)和6g/1 bacto-agar(在用精炼去离子水定容后加入),灭菌并冷却至60℃。

[0498] 实施例9--稳定转化的大豆和玉米植株对广谱鳞翅目昆虫的昆虫防治功效

[0499] 从转化的植物切下叶圆片并测试PtIP-96多肽对大豆夜蛾(SBL)(黄豆银纹夜蛾)、玉米穗虫(CEW)(谷实夜蛾)、欧洲玉米螟(ECB)(玉米螟(*Ostrinia nubilalis*))、绒毛豆毛虫(VBC)(黎豆夜蛾(*nticarsia gemmatalis*))和秋夜蛾(草地贪夜蛾(*Spodoptera frugiperda*))的杀昆虫活性。

[0500] 以上对本公开各种例示性实施方案的描述并不是穷举的或者将范围限制于所公开的精确形式。尽管具体的实施方案以及实施例出于说明性目的在本文进行了描述,但相关领域的技术人员将认识到,各种等同修改形式都可能在本公开的范围之内。本文中提供的教导可以适用于除上述实施例之外的其它目的。因此,根据上述教导进行的许多修改和改变也在所附的权利要求要求的范围之内。

[0501] 根据以上具体描述可以作出这些变化和其它变化。一般来讲,在以下权利要求中,所使用的术语不应被解释为将范围限制为说明书和权利要求书中所公开的具体实施方案。

[0502] 背景技术、具体实施方式和实施例中所引用的每篇文献(包括专利、专利申请、期刊论文、摘要、手册、书籍或其它公开内容)的全部公开内容均以引用的方式全文并入本文。

[0503] 已作出努力以确保所使用的数据(例如,数量、温度、浓度等)的准确性,但应允许一些实验误差和偏差。除非另外指明,份数是重量份,分子量是平均分子量;温度以摄氏度计;并且压力为大气压或接近大气压。

序列表

<110> 先锋国际良种公司;纳幕尔杜邦公司

<120> 杀昆虫蛋白及其使用方法

<130> 6584-W0-PCT

<150> 62/064810

<151> 2014-10-16

<160> 109

<170> PatentIn版本3.5

<210> 1

<211> 1065

<212> DNA

<213> 书带蕨

<400> 1

```

atgtcgttg ttcagacacc cgtgtatgtc atcggagggc aaggaggcaa tgcgtttact      60
tacgatcaga gcagaaacgg gaggatcctg cggaggattg ggggtgtggc gggcgagtgg      120
caactgcgcg gaatccgcgt gtggatgacg ggcaccgaca ccccggccac tttcggcacg      180
gccacgggct cttacagtga atataccttc gcggatggcg agcgcacac ccgcttgtcc      240
ttgtggggca acggggctgg tacacgttca ggaggcatca gattctacac cacaacagga      300
ggttctttct tccataaaat gacatcttgg ggcttaciaa ccgagtatcc aatcgacgtg      360
gcatctggtc tttgtgtggg gatcatggga cgagctaatt ttgatgtgga ttcattgggt      420
gttttgttct taagaacat agcatctgct cgtatgatca atgtaagcta ccctacctg      480
ggcttagagc aagccggaat catccctggt aacttgatt ccttcaatga ctccaacaat      540
gcaggtacta tttcaaaaa ttggacttcc tcgggtagcc gaaccgtgac aatatcatca      600
tcatggtctc tcaactcagg gatagagaca catgcaagtg tgagcgtgca agcagggatc      660
cccatgggtg cagaagtgag tggagagttt ggatggctctg ttagtgtatc tgggacctat      720
gcaaccactc aagaggaaag tcgaacccta acttgaacc aatctggaac cctagagcct      780
gggcaatgga tctcactcca agctaccact cgaagaggaa ccatcacatt accctttcaa      840
gcaaccatgg aaatcacttt gctgtctgga acgatcttcc aatatgcat ctctctatg      900
tactccggtg tggattatac tagtgtggat ataactaaca ctggaactag agcatcagat      960
catgttgagg tcgaagctac tgagcaacaa gtccaagggg tcaaagatca aagtgtacaa      1020
cctaataaag aagctaaaga gtgcacactc ctctttgctg aataa                        1065

```

<210> 2

<211> 1062

<212> DNA

<213> 褐叶线蕨

<400> 2

```

atggcgttgt atcagacacc tgtgtatgtg atcggagggc aaggtggcaa ctcgtttact      60
tacgatcaga gcaggaacgg gaaggtgttg acgaagattg ggggtgtggc tggcgagtgg      120

```

cagctgcgcg gcatccgggt ttggatgtct ggctccgata gcccgaccac ctttggcaca	180
gcctcgggct cttactctga atacacattt gcagctggcg agcgcacac ccggttgtct	240
ttgtggggca acggtgctgg tacgcggtct ggagccatta gattctacac gacaactgga	300
ggctcatttt tcccaaaaat gacatcttgg gacttaaaga ctgagtatcc aattgatgtg	360
gcatccggtc tttgtgtggg gatcatagga cgagctagtg ctgacattga ttattgggg	420
tttatgtttc tcagaacat agcatcttct cgcacatca atgtaagcta cccaacctg	480
ggcttagagc aagctggaat tatccccgtc acgcttgatt cgtacaacga ctctaataat	540
gcaggttcta tttccaagaa ttggactttc tctggtagcc gaacagttac aatatcatca	600
tcatggacac tcaattcagg gatagaggca catgctagtg tgaccgttca agcaggaatc	660
ccctcggttg cagaagtgag cggagagttt ggatggctag tgagtgtaag tggaagctac	720
acaagcacc aagaggagag tcgaaccctc acttgaacc aatccggaac cctagagcca	780
ggacaatgga tttccatcca agtaccact cggagaggaa ccatcactt gccctatcag	840
gggaccatgg agatcaccct acaatctgga actgtgtttc aataccctat atcctctatg	900
tattccggtg tggattatac tagtgttgac ataaccaaca ctggaactag agcattgaag	960
caagttgagg ttcaagctac tgatcaaaa tcccaggaag gagatcaaaa tgtacaacct	1020
gataaagaag tcgaagaaa aaaagtctc tttactgagt ag	1062

<210> 3

<211> 1062

<212> DNA

<213> 褐叶线蕨

<400> 3

atggcgttgt atcagacacc tgtgtatgtg atcggagggc aaggtggcaa ctcgtttact	60
tacgatcaga gcaggaacgg gaaggtgttg acgaagattg ggggtgtgggc tggcgagtgg	120
cagctgcgcg gcatccgggt ttggatgtct ggctccgata gcccgaccac ctttggcaca	180
gcctcgggct cttactctga atacacattt gcagctggcg agcgcacac ccggttgtct	240
ttgtggggca acggtgctgg tacgcggtct ggagccatta gattctacac gacaactgga	300
ggctcatttt tcccaaaaat gacatcttgg gacttaaaga ctgagtatcc aattgatgtg	360
gcatccggtc tttgtgtggg gatcatagga cgagctagtg ctgacattga ttattgggg	420
tttatgtttc tcagaacat agcatcttct cgcacatca atgtaagcta cccaacctg	480
ggcttagagc aagctggaat tatccccgtc acgcttgatt cgtacaacga ctctaataat	540
gcaggttcta tttccaagaa ttggactttc tctggtagcc gaacagttac aatatcatca	600
tcatggacac tcaattcagg gatagaggca catgctagtg tgaccgttca agcaggtctc	660
ccctcggttg cagaagtgag cggagagttt ggatggctag tgagtgtaag tggaagctac	720
acaagcacc aagaggagag tcgaaccctc acttgaacc aatccggaac cctagagcca	780
ggacaatgga tttccatcca agtaccact cggagaggaa ccatcactt gccctatcag	840
gggaccatgg agatcaccct acaatctgga actgtgtttc aataccctat atcctctatg	900
tattccggtg tggattatac tagtgttgac ataaccaaca ctggaactag agcattgaag	960
caagttgagg ttcaagctac tgatcaaaa tcccaggaag gagatcaaaa tgtacaacct	1020
gataaagaag tcgaagaaa aaaagtctc tttactgagt ag	1062

<210>	4								
<211>	1203								
<212>	DNA								
<213>	小翠云草								
<400>	4								
	atgtcgatcc atcaaacacc cgtgaccctc atcggaggaa gaggcggagc ggcgttcacg								60
	tacaatgcag gcgcgagcgg ccgcatcttg aggaggatcg gagtatgggc cggcgggtcg								120
	cagctgcgag gcatccgagt gtggtggact ggctggatt cccccattac ttacggcact								180
	cctaactgtg gctcctacca ggagttcacc tttcaggatg gcgagcgtat caccagtctc								240
	tctctatggg gcaatggagc aggtacacgc agtgggtggca ttaggttcta cagaccacg								300
	ggaaggcgg ttttccacca catgacctct tggggcctga agcaagagta tccagttgac								360
	gtagtggatg gcgtgtgcgt aggcttgact ggaaggcagg gtgccgacat cgatgccttg								420
	ggcttcatgt tcctacgcac catgacctcc gctcgcata tcaatgtgaa gtaccctacc								480
	ctcggcctgg agacggcagg cattgtgcca gtcacgctgg acttcatgag cgacagcaac								540
	aatgctagct ccatttccaa gacttggctc ttccaaggaa gccgagaggt gaccgtatcc								600
	tcctcctgga gtaccaccac gggcattgag cttcatgcga gcatcacctg atcggcaggg								660
	atccctctcg tggccaatgt cgaagggcaa tacggatggg ccatcagcac aagctccacc								720
	tacactacca accactcgga gactcgcacc cttcagtggc agaattcggg cgtcttggag								780
	cccggtcagt ggatctctct gcaagccctc acgcggagag gaaccatcac cctaccctac								840
	caagccacca tgcaaatcac cctccagaac ggcaccgttt tcacctacc aatcactgct								900
	cagtacgcag gtagtgatta taccagctc gagattgtga gccagggaac aagagattta								960
	ggctctgatc acttggccat caacaaggat gtccgctaca tcgctgctgc caatggtgca								1020
	gctgttggta caactacaac taacgcaccg cccactacg tccaccctat ccgaggagcg								1080
	cctattgttg aaccctcaa gtttagtgta ggtgcaactt acatcaatga caccgacaat								1140
	atcactcagg aagttgacac tactgcagct actagtgtgg aagagcttac cttgtgtac								1200
	tag								1203
<210>	5								
<211>	1188								
<212>	DNA								
<213>	<i>Selaginella victoriae</i>								
<400>	5								
	atgcaatatg gcctggccaa tactgaagca agccccctga tcgagaagtt ccaagctcta								60
	atggaaggcg gcatagatga gagcatcctt gcgactaagc ttgttgggtc tgaaggagat								120
	gcttctcatt tgccaccacc tggagagacg cctagtgagg atggtgccgg caaggatcca								180
	cccaatgaat cgctggagac tgaagatgta gaggagcatg ctgatgatag caaagcccgt								240
	tctgctagtg tcacggcccc tctgcgcttc ataggcgccc cgggtgggtc gcaacgttcc								300
	gtccgaggat ggaccaacgg cagggtcatc accaggatgc gtgtctacag ggccccgggg								360
	actatcaaag cgtaccagat ctggctcaca gactctgctc cccagactca tgggtttcct								420
	gggaacagcg acttcgccga gtacacgttc cgcaccggag agcgtcttac aagattaaca								480

ctgtggggaa acggaatggg cactcgtgct ggatggatcg agtttgagac gagcttgggt 540
 ggaaggtttt catatggcat gagccattgg tcgctgagaa ctccttacc tgctgacgtc 600
 ggttctggca tccttgtggg ctacattttt aatgctggag aggacgtcga tgcacacggc 660
 ttctggtttc tcaaccacat tgagcaggcc gagctcacca atgtgaggta tccgactctt 720
 ggatttgaca cggcaggat tgtaccacag gcctggata cttccggtt cagaaacaac 780
 tcatccacgc caagagactg ggacttcagc cggaacatga gcaggagcac tgagcggaca 840
 tggtcgatca ccgtggatct tactgtccat gcgagcatca cggtgagtgc agggtttcca 900
 ggacattgcaa acgtgagtgg tcagtatgga tgggagattg gggtgacggg ccatttcgaa 960
 acaacagaga cgcccagca cgacttgagc tggagcgtgg gtgggagagt ccagcctggg 1020
 gatgttgctg atctcaactgc gctcaactcg actggaactc ttaacattcc ttacgaaggt 1080
 acgatggtgg tgaggatgag aaatggtgcc tecttcagct atgccgtgcg tggaacctac 1140
 agaggcctta gctataccgg cacaaaaata aacgacaact caacttaa 1188

<210> 6

<211> 354

<212> PRT

<213> 书带蕨

<400> 6

Met Ser Leu Val Gln Thr Pro Val Tyr Val Ile Gly Gly Gln Gly Gly
 1 5 10 15
 Asn Ala Phe Thr Tyr Asp Gln Ser Arg Asn Gly Arg Ile Leu Arg Arg
 20 25 30
 Ile Gly Val Trp Ala Gly Glu Trp Gln Leu Arg Gly Ile Arg Val Trp
 35 40 45
 Met Thr Gly Thr Asp Thr Pro Ala Thr Phe Gly Thr Ala Thr Gly Ser
 50 55 60
 Tyr Ser Glu Tyr Thr Phe Ala Asp Gly Glu Arg Ile Thr Arg Leu Ser
 65 70 75 80
 Leu Trp Gly Asn Gly Ala Gly Thr Arg Ser Gly Gly Ile Arg Phe Tyr
 85 90 95
 Thr Thr Thr Gly Gly Ser Phe Phe His Lys Met Thr Ser Trp Gly Leu
 100 105 110
 Gln Thr Glu Tyr Pro Ile Asp Val Ala Ser Gly Leu Cys Val Gly Ile
 115 120 125
 Met Gly Arg Ala Asn Val Asp Val Asp Ser Leu Gly Val Leu Phe Leu
 130 135 140
 Arg Thr Ile Ala Ser Ala Arg Met Ile Asn Val Ser Tyr Pro Thr Leu
 145 150 155 160
 Gly Leu Glu Gln Ala Gly Ile Ile Pro Val Thr Leu Asp Ser Phe Asn
 165 170 175

Asp Ser Asn Asn Ala Gly Thr Ile Ser Lys Asn Trp Thr Phe Ser Gly
 180 185 190
 Ser Arg Thr Val Thr Ile Ser Ser Ser Trp Ser Leu Thr Ser Gly Ile
 195 200 205
 Glu Thr His Ala Ser Val Ser Val Gln Ala Gly Ile Pro Met Val Ala
 210 215 220
 Glu Val Ser Gly Glu Phe Gly Trp Ser Val Ser Val Ser Gly Thr Tyr
 225 230 235 240
 Ala Thr Thr Gln Glu Glu Ser Arg Thr Leu Thr Trp Asn Gln Ser Gly
 245 250 255
 Thr Leu Glu Pro Gly Gln Trp Ile Ser Leu Gln Ala Thr Thr Arg Arg
 260 265 270
 Gly Thr Ile Thr Leu Pro Phe Gln Ala Thr Met Glu Ile Thr Leu Leu
 275 280 285
 Ser Gly Thr Ile Phe Gln Tyr Ala Ile Ser Ser Met Tyr Ser Gly Val
 290 295 300
 Asp Tyr Thr Ser Val Asp Ile Thr Asn Thr Gly Thr Arg Ala Ser Asp
 305 310 315 320
 His Val Glu Val Glu Ala Thr Glu Gln Gln Val Gln Gly Val Lys Asp
 325 330 335
 Gln Ser Val Gln Pro Asn Lys Glu Ala Lys Glu Cys Thr Leu Leu Phe
 340 345 350

Ala Glu

<210> 7

<211> 353

<212> PRT

<213> 褐叶线蕨

<400> 7

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

				85					90					95				
Thr	Thr	Thr	Gly	Gly	Ser	Phe	Phe	Pro	Lys	Met	Thr	Ser	Trp	Asp	Leu			
			100					105						110				
Lys	Thr	Glu	Tyr	Pro	Ile	Asp	Val	Ala	Ser	Gly	Leu	Cys	Val	Gly	Ile			
			115				120							125				
Ile	Gly	Arg	Ala	Ser	Ala	Asp	Ile	Asp	Ser	Leu	Gly	Phe	Met	Phe	Leu			
			130				135							140				
Arg	Thr	Ile	Ala	Ser	Ser	Arg	Met	Ile	Asn	Val	Ser	Tyr	Pro	Thr	Leu			
			145				150							155				
Gly	Leu	Glu	Gln	Ala	Gly	Ile	Ile	Pro	Val	Thr	Leu	Asp	Ser	Tyr	Asn			
			165											170				
Asp	Ser	Asn	Asn	Ala	Gly	Ser	Ile	Ser	Lys	Asn	Trp	Thr	Phe	Ser	Gly			
			180											185				
Ser	Arg	Thr	Val	Thr	Ile	Ser	Ser	Ser	Trp	Thr	Leu	Thr	Ser	Gly	Ile			
			195											200				
Glu	Ala	His	Ala	Ser	Val	Thr	Val	Gln	Ala	Gly	Ile	Pro	Ser	Val	Ala			
			210											215				
Glu	Val	Ser	Gly	Glu	Phe	Gly	Trp	Ser	Val	Ser	Val	Ser	Gly	Ser	Tyr			
			225											230				
Thr	Ser	Thr	Gln	Glu	Glu	Ser	Arg	Thr	Leu	Thr	Trp	Asn	Gln	Ser	Gly			
			245											250				
Thr	Leu	Glu	Pro	Gly	Gln	Trp	Ile	Ser	Ile	Gln	Ala	Thr	Thr	Arg	Arg			
			260											265				
Gly	Thr	Ile	Thr	Leu	Pro	Tyr	Gln	Gly	Thr	Met	Glu	Ile	Thr	Leu	Gln			
			275											280				
Ser	Gly	Thr	Val	Phe	Gln	Tyr	Pro	Ile	Ser	Ser	Met	Tyr	Ser	Gly	Val			
			290											295				
Asp	Tyr	Thr	Ser	Val	Asp	Ile	Thr	Asn	Thr	Gly	Thr	Arg	Ala	Leu	Lys			
			305											310				
Gln	Val	Glu	Val	Gln	Ala	Thr	Asp	Gln	Gln	Ser	Gln	Glu	Gly	Asp	His			
			325											330				
Asn	Val	Gln	Pro	Asp	Lys	Glu	Val	Glu	Glu	Arg	Lys	Val	Leu	Phe	Thr			
			340											345				

Glu

<210> 8

<211> 353

<212> PRT

<213> 褐叶线蕨

<400> 8

305		310		315		320
Gln Val Glu Val Gln Ala Thr Asp Gln Gln Ser Gln Glu Gly Asp His						
		325		330		335
Asn Val Gln Pro Asp Lys Glu Val Glu Glu Arg Lys Val Leu Phe Thr						
		340		345		350
Glu						
<210>	9					
<211>	400					
<212>	PRT					
<213>	小翠云草					
<400>	9					
Met Ser Ile His Gln Thr Pro Val Thr Leu Ile Gly Gly Arg Gly Gly						
1		5		10		15
Ala Ala Phe Thr Tyr Asn Ala Gly Ala Ser Gly Arg Ile Leu Arg Arg						
		20		25		30
Ile Gly Val Trp Ala Gly Gly Ser Gln Leu Arg Gly Ile Arg Val Trp						
		35		40		45
Trp Thr Gly Leu Asp Ser Pro Ile Thr Tyr Gly Thr Pro Asn Val Gly						
		50		55		60
Ser Tyr Gln Glu Phe Thr Phe Gln Asp Gly Glu Arg Ile Thr Ser Leu						
65		70		75		80
Ser Leu Trp Gly Asn Gly Ala Gly Thr Arg Ser Gly Gly Ile Arg Phe						
		85		90		95
Tyr Thr Thr Thr Gly Arg Arg Phe Phe His His Met Thr Ser Trp Gly						
		100		105		110
Leu Lys Gln Glu Tyr Pro Val Asp Val Val Asp Gly Val Cys Val Gly						
		115		120		125
Leu Thr Gly Arg Gln Gly Ala Asp Ile Asp Ala Leu Gly Phe Met Phe						
		130		135		140
Leu Arg Thr Met Thr Ser Ala Arg Met Ile Asn Val Lys Tyr Pro Thr						
145		150		155		160
Leu Gly Leu Glu Thr Ala Gly Ile Val Pro Val Thr Leu Asp Phe Met						
		165		170		175
Ser Asp Ser Asn Asn Ala Ser Ser Ile Ser Lys Thr Trp Ser Phe Gln						
		180		185		190
Gly Ser Arg Glu Val Thr Val Ser Ser Ser Trp Ser Thr Thr Thr Gly						
		195		200		205
Ile Glu Leu His Ala Ser Ile Thr Val Ser Ala Gly Ile Pro Leu Val						
		210		215		220

Ser	Gln	Arg	Ser	Val	Arg	Gly	Trp	Thr	Asn	Gly	Arg	Val	Ile	Thr	Arg
				100				105					110		
Met	Arg	Val	Tyr	Arg	Ala	Arg	Gly	Thr	Ile	Lys	Ala	Tyr	Gln	Ile	Trp
				115				120					125		
Leu	Thr	Asp	Ser	Ala	Pro	Gln	Thr	His	Gly	Val	Pro	Gly	Asn	Ser	Asp
				130				135					140		
Phe	Ala	Glu	Tyr	Thr	Phe	Arg	Thr	Gly	Glu	Arg	Leu	Thr	Arg	Leu	Thr
				145				150					155		160
Leu	Trp	Gly	Asn	Gly	Met	Gly	Thr	Arg	Ala	Gly	Trp	Ile	Glu	Phe	Glu
				165				170					175		
Thr	Ser	Leu	Gly	Gly	Arg	Phe	Ser	Tyr	Gly	Met	Ser	His	Trp	Ser	Leu
				180				185					190		
Arg	Thr	Pro	Tyr	Pro	Val	Asp	Val	Gly	Ser	Gly	Ile	Leu	Val	Gly	Tyr
				195				200					205		
Ile	Phe	Asn	Ala	Gly	Glu	Asp	Val	Asp	Ala	His	Gly	Phe	Trp	Phe	Leu
				210				215					220		
Asn	His	Ile	Glu	Gln	Ala	Glu	Leu	Thr	Asn	Val	Arg	Tyr	Pro	Thr	Leu
				225				230					235		240
Gly	Phe	Asp	Thr	Ala	Gly	Ile	Val	Pro	Thr	Ala	Leu	Asp	Thr	Phe	Arg
				245				250					255		
Phe	Arg	Asn	Asn	Ser	Ser	Thr	Pro	Arg	Asp	Trp	Asp	Phe	Ser	Arg	Asn
				260				265					270		
Met	Ser	Arg	Ser	Thr	Glu	Arg	Thr	Trp	Ser	Ile	Thr	Val	Asp	Leu	Thr
				275				280					285		
Val	His	Ala	Ser	Ile	Thr	Val	Ser	Ala	Gly	Phe	Pro	Gly	Ile	Ala	Asn
				290				295					300		
Val	Ser	Gly	Gln	Tyr	Gly	Trp	Glu	Ile	Gly	Val	Thr	Gly	His	Phe	Glu
				305				310					315		320
Thr	Thr	Glu	Thr	Ser	Glu	His	Asp	Leu	Ser	Trp	Ser	Val	Gly	Gly	Arg
				325				330					335		
Val	Gln	Pro	Gly	Asp	Val	Val	Asp	Leu	Thr	Ala	Leu	Thr	Arg	Thr	Gly
				340				345					350		
Thr	Leu	Asn	Ile	Pro	Tyr	Glu	Gly	Thr	Met	Val	Val	Arg	Met	Arg	Asn
				355				360					365		
Gly	Ala	Ser	Phe	Ser	Tyr	Ala	Val	Arg	Gly	Thr	Tyr	Arg	Gly	Leu	Ser
				370				375					380		
Tyr	Thr	Gly	Thr	Lys	Ile	Asn	Asp	Asn	Ser	Thr					
				385				390					395		

<210> 11

Ser Tyr Gln Glu Phe Thr Phe Gln Asp Gly Glu Arg Ile Thr Ser Leu			
65	70	75	80
Ser Leu Trp Gly Asn Gly Ala Gly Thr Arg Ser Gly Gly Ile Arg Phe			
	85	90	95
Tyr Thr Thr Thr Gly Arg Arg Phe Phe His His Met Thr Ser Trp Gly			
	100	105	110
Leu Lys Gln Glu Tyr Pro Val Asp Val Val Asp Gly Val Cys Val Gly			
	115	120	125
Leu Thr Gly Arg Gln Gly Ala Asp Ile Asp Ala Leu Gly Phe Met Cys			
	130	135	140
Leu Arg Thr Met Thr Ser Ala Arg Met Ile Asn Val Lys Tyr Pro Thr			
	145	150	155
Leu Gly Leu Glu Thr Ala Gly Ile Val Thr Val Thr Leu Asp Phe Met			
	165	170	175
Ser Asp Ser Asn Asn Ala Ser Ser Ile Ser Lys Thr Trp Ser Phe Gln			
	180	185	190
Gly Ser Arg Glu Val Thr Val Ser Ser Ser Trp Ser Thr Thr Thr Gly			
	195	200	205
Ile Glu Leu His Ala Ser Ile Thr Val Ser Ala Gly Ile Pro Leu Val			
	210	215	220
Ala Asn Val Glu Gly Gln Tyr Gly Trp Ala Ile Ser Thr Ser Ser Thr			
	225	230	235
Tyr Thr Thr Asn His Ser Glu Thr Arg Thr Ile Gln Trp Gln Asn Ser			
	245	250	255
Gly Val Leu Glu Pro Gly Gln Trp Ile Ser Leu Gln Ala Leu Thr Arg			
	260	265	270
Arg Gly Thr Ile Thr Leu Pro Tyr Gln Ala Thr Met Gln Ile Thr Leu			
	275	280	285
Gln Asn Gly Thr Val Phe Thr Tyr Pro Ile Thr Ala Gln Tyr Ala Gly			
	290	295	300
Val Asp Tyr Thr Ser Val Glu Ile Val Ser Gln Gly Thr Arg Asp Leu			
	305	310	315
Gly Ser Asp His Leu Ala Ile Asn Lys Asp Val Arg Tyr Ile Ala Ala			
	325	330	335
Ala Asn Gly Ala Ala Val Gly Thr Thr Thr Thr Asn Ala Pro Pro His			
	340	345	350
Tyr Val His Pro Ile Arg Gly Ala Pro Ile Val Glu Pro Val Lys Phe			
	355	360	365
Ser Val Gly Ala Thr Tyr Ile Asn Asp Thr Asp Asn Ile Thr Gln Glu			

370	375	380	
Val Asp Thr Thr Ala Ala Thr Ser Val Glu Glu Leu Thr Leu Val Tyr			
385	390	395	400
<210> 15			
<211> 1200			
<212> DNA			
<213> 小翠云草			
<400> 15			
atgtcgatcc atcaaacacc cgtgaccctc atcggaggaa gaggcggagc ggcgttcacg			60
tacaatgcag gcgcgagcgg ccgcatcttg aggaggatcg gagtatgggc cggcgggtcg			120
cagctgcgag gcatccgagt gtggtggact ggcttgatt cccccattac ttacggcact			180
cctaacgttg gtcctacca ggagttcacc ttccaggatg gcgagcgtat caccagtctc			240
tctctatggg gcaatggagc aggtacacgc agtgggtggca ttaggttcta caccgaccacg			300
ggaaggcgg ttttccacca catgacctct tggggcctga agcaagagta tccagttgac			360
gtagtggatg gcgtgtgcgt aggcttgact ggaaggcagg gtgccgacat cgatgccttg			420
ggcttcatgt gcctacgcac catgacctcc gctcgcata tcaatgtgaa gtaccctacc			480
ctcggcctgg agacggcagg cattgtgcca gtcacgctgg acttcatgag cgacagcaac			540
aatgctagct ccatttccaa gacgtggtcc ttccaaggaa gccgagaggt gaccgtatcc			600
tcctcctgga gtaccaccac gggcattgag cttcatgcga gcatcacctg atcggcaggg			660
atccctctcg tggccaatgt cgaagggcaa tacggatggg ccatcagcac aagctccacc			720
tacactacca accactcgga gactcgcacc cttcagtggc agaattcggg cgtcttgag			780
cccggtcagt ggatctctct gcaagccctc acgcggagag gaaccatcac cctaccctac			840
caagccacca tgcaaatcac cctccagaac ggcaccgttt tcacctacc aatcactgct			900
cagtacgcag gagtggatta taccagcgtc gagattgtga gccagggaac aagagattta			960
ggctctgatc acttggccat caacaaggat gtccgctaca tcgctgctgc caatggtgca			1020
gctgttggtg caactacaac taacgcaccg cccactacg tccaccctat cggaggagcg			1080
cctattgttg aaaccgtcaa gtttagtgta ggtgcaactt acatcaatga caccgacaat			1140
atcactcagg aagttgacac tactgcagct actagtgtgg aagagcttac cttgtgtac			1200
<210> 16			
<211> 400			
<212> PRT			
<213> 小翠云草			
<400> 16			
Met Ser Ile His Gln Thr Pro Val Thr Leu Ile Gly Gly Arg Gly Gly			
1	5	10	15
Ala Ala Phe Thr Tyr Asn Ala Gly Ala Ser Gly Arg Ile Leu Arg Arg			
	20	25	30
Ile Gly Val Trp Ala Gly Gly Ser Gln Leu Arg Gly Ile Arg Val Trp			
	35	40	45

Trp Thr Gly Leu Asp Ser Pro Ile Thr Tyr Gly Thr Pro Asn Val Gly
 50 55 60
 Ser Tyr Gln Glu Phe Thr Phe Gln Asp Gly Glu Arg Ile Thr Ser Leu
 65 70 75 80
 Ser Leu Trp Gly Asn Gly Ala Gly Thr Arg Ser Gly Gly Ile Arg Phe
 85 90 95
 Tyr Thr Thr Thr Gly Arg Arg Phe Phe His His Met Thr Ser Trp Gly
 100 105 110
 Leu Lys Gln Glu Tyr Pro Val Asp Val Val Asp Gly Val Cys Val Gly
 115 120 125
 Leu Thr Gly Arg Gln Gly Ala Asp Ile Asp Ala Leu Gly Phe Met Cys
 130 135 140
 Leu Arg Thr Met Thr Ser Ala Arg Met Ile Asn Val Lys Tyr Pro Thr
 145 150 155 160
 Leu Gly Leu Glu Thr Ala Gly Ile Val Pro Val Thr Leu Asp Phe Met
 165 170 175
 Ser Asp Ser Asn Asn Ala Ser Ser Ile Ser Lys Thr Trp Ser Phe Gln
 180 185 190
 Gly Ser Arg Glu Val Thr Val Ser Ser Ser Trp Ser Thr Thr Thr Gly
 195 200 205
 Ile Glu Leu His Ala Ser Ile Thr Val Ser Ala Gly Ile Pro Leu Val
 210 215 220
 Ala Asn Val Glu Gly Gln Tyr Gly Trp Ala Ile Ser Thr Ser Ser Thr
 225 230 235 240
 Tyr Thr Thr Asn His Ser Glu Thr Arg Thr Leu Gln Trp Gln Asn Ser
 245 250 255
 Gly Val Leu Glu Pro Gly Gln Trp Ile Ser Leu Gln Ala Leu Thr Arg
 260 265 270
 Arg Gly Thr Ile Thr Leu Pro Tyr Gln Ala Thr Met Gln Ile Thr Leu
 275 280 285
 Gln Asn Gly Thr Val Phe Thr Tyr Pro Ile Thr Ala Gln Tyr Ala Gly
 290 295 300
 Val Asp Tyr Thr Ser Val Glu Ile Val Ser Gln Gly Thr Arg Asp Leu
 305 310 315 320
 Gly Ser Asp His Leu Ala Ile Asn Lys Asp Val Arg Tyr Ile Ala Ala
 325 330 335
 Ala Asn Gly Ala Ala Val Gly Thr Thr Thr Thr Asn Ala Pro Pro His
 340 345 350
 Tyr Val His Pro Ile Arg Gly Ala Pro Ile Val Glu Thr Val Lys Phe

Ile Gly Val Trp Ala Gly Gly Ser Gln Leu Arg Gly Ile Arg Val Trp		
35	40	45
Trp Thr Gly Leu Asp Ser Pro Ile Thr Tyr Gly Thr Pro Asn Val Gly		
50	55	60
Ser Tyr Gln Glu Phe Thr Phe Gln Asp Gly Glu Arg Ile Thr Ser Leu		
65	70	75
Ser Leu Trp Gly Asn Gly Ala Gly Thr Arg Ser Cys Gly Ile Arg Phe		
	85	90
Tyr Thr Thr Thr Gly Arg Arg Phe Phe His His Met Thr Ser Trp Gly		
	100	105
Leu Lys Gln Glu Tyr Pro Val Asp Val Val Asp Gly Val Cys Val Gly		
	115	120
Leu Thr Gly Arg Gln Gly Ala Asp Ile Asp Ala Leu Gly Phe Met Cys		
	130	135
Leu Arg Thr Met Thr Ser Ala Arg Met Ile Asn Val Lys Tyr Pro Thr		
145	150	155
Leu Gly Leu Glu Thr Ala Gly Ile Val Pro Val Thr Leu Asp Phe Met		
	165	170
Ser Asp Ser Asn Asn Ala Ser Ser Ile Ser Lys Thr Trp Ser Phe Gln		
	180	185
Gly Ser Arg Glu Val Thr Val Ser Ser Ser Trp Ser Thr Thr Thr Gly		
	195	200
Ile Glu Leu His Ala Ser Ile Thr Val Ser Ala Gly Ile Pro Leu Val		
	210	215
Ala Asn Val Glu Gly Gln Tyr Gly Trp Ala Ile Ser Thr Ser Ser Thr		
225	230	235
Tyr Thr Thr Asn His Ser Glu Thr Arg Thr Leu Gln Trp Gln Asn Ser		
	245	250
Gly Val Leu Glu Pro Gly Gln Trp Ile Ser Leu Gln Ala Leu Thr Arg		
	260	265
Arg Gly Thr Ile Thr Leu Pro Tyr Gln Ala Thr Met Gln Ile Thr Leu		
	275	280
Gln Asn Gly Thr Val Phe Thr Tyr Pro Ile Thr Ala Gln Tyr Ser Gly		
	290	295
Val Asp Tyr Thr Ser Val Glu Ile Val Ser Gln Gly Thr Arg Asp Leu		
305	310	315
Gly Ser Asp His Leu Ala Ile Asn Lys Asp Val Arg Tyr Ile Ala Ala		
	325	330
Ala Asn Gly Ala Ala Val Gly Thr Thr Thr Thr Asn Ala Pro Pro His		

Ala Ala Phe Thr Tyr Asn Ala Gly Ala Ser Gly Arg Ile Leu Arg Arg
 20 25 30
 Ile Gly Val Trp Ala Gly Gly Ser Gln Leu Arg Gly Ile Arg Val Trp
 35 40 45
 Trp Thr Gly Leu Asp Ser Pro Ile Thr Tyr Gly Thr Pro Asn Val Gly
 50 55 60
 Ser Tyr Gln Glu Phe Thr Phe Gln Asp Gly Glu Arg Ile Thr Ser Leu
 65 70 75 80
 Ser Leu Trp Gly Asn Gly Ala Gly Thr Arg Ser Gly Gly Ile Arg Phe
 85 90 95
 Tyr Thr Thr Thr Gly Arg Arg Phe Phe His His Met Thr Ser Trp Gly
 100 105 110
 Leu Lys Gln Glu Tyr Pro Val Asp Val Val Asp Gly Val Cys Val Gly
 115 120 125
 Leu Thr Gly Arg Gln Gly Ala Asp Ile Asp Ala Leu Gly Phe Met Cys
 130 135 140
 Leu Arg Thr Met Thr Ser Ala Arg Met Ile Asn Val Lys Tyr Pro Thr
 145 150 155 160
 Leu Gly Leu Glu Thr Ala Gly Ile Val Pro Val Thr Leu Asp Phe Met
 165 170 175
 Ser Asp Ser Asn Asn Ala Ser Ser Ile Ser Lys Thr Trp Ser Phe Gln
 180 185 190
 Gly Ser Arg Glu Val Thr Val Ser Ser Ser Trp Ser Thr Thr Thr Gly
 195 200 205
 Ile Glu Leu His Ala Ser Ile Thr Val Ser Ala Gly Ile Pro Leu Val
 210 215 220
 Ala Asn Val Glu Gly Gln Tyr Gly Trp Ala Ile Ser Thr Ser Ser Thr
 225 230 235 240
 Tyr Thr Thr Asn His Ser Glu Thr Arg Thr Leu Gln Trp Gln Asn Ser
 245 250 255
 Gly Val Leu Glu Pro Gly Gln Trp Ile Ser Leu Gln Ala Leu Thr Arg
 260 265 270
 Arg Gly Thr Ile Thr Leu Pro Tyr Gln Ala Thr Met Gln Ile Thr Leu
 275 280 285
 Gln Asn Gly Thr Val Phe Thr Tyr Pro Ile Thr Ala Gln Tyr Ala Gly
 290 295 300
 Val Asp Tyr Thr Ser Val Glu Ile Val Ser Gln Gly Thr Arg Asp Leu
 305 310 315 320
 Gly Ser Asp His Leu Ala Ile Asn Lys Asp Val Arg Tyr Ile Ala Ala

	325		330		335	
Ala Asn Gly	Ala Ala Val Gly Thr	Thr Thr Thr Thr	Asn Ala Pro	Pro His		
	340		345		350	
Tyr Val His	Pro Ile Arg Gly Ala	Pro Ile Val Glu	Pro Val Lys	Phe		
	355		360		365	
Ser Val Gly	Ala Thr Tyr Ile Asn	Asp Thr Asp Asn	Ile Thr Gln	Glu		
	370		375		380	
Val Asp Thr	Thr Ala Ala Thr Ser	Val Glu Glu Leu	Thr Leu Val	Tyr		
385		390		395		400
<210>	21					
<211>	1200					
<212>	DNA					
<213>	楔叶铁线蕨					
<400>	21					
atgtcgatcc	atcaaacacc	cgtgaccctc	atcggaggaa	gaggcggagc	ggcgttcacg	60
tacaatgcag	gcgcgagcgg	ccgcatcttg	aggaggatcg	gagtatgggc	cggcgggtcg	120
cagctgcgag	gcatccgagt	gtggtggact	ggcctggatt	ccccattac	ttacggcact	180
cctaacgttg	gctcctacca	ggagttcacc	tttcaggatg	gcgagcgtat	caccagtctc	240
tctctatggg	gcaatggagc	aggtacacgc	agtgggtgca	ttaggttcta	cacgaccacg	300
ggaaggcgg	ttttccacca	catgacctct	tggggcctga	agcaagagta	tccagttgac	360
gtagtggatg	gcgtgtgcgt	aggcttgact	ggaaggcagg	gtgccgacat	cgatgccttg	420
ggcttcatgt	tcttacgcac	catgacctcc	gctcgcata	tcaatgtgaa	gtaccctacc	480
ctcggcctgg	agacggcagg	cattgtgcca	gtcacgctgg	acttcatgag	cgacagcaac	540
aatgctagct	ccatttccaa	gacttggctc	ttccaaggaa	gccgagaggt	gaccgtatcc	600
tcctcctgga	gtaccaccac	gggcattgag	cttcatgcga	gcatcacctg	atcggcaggg	660
atccctctcg	tggccaatgt	cgaagggcaa	tacggatggg	gcatcagcac	aagctccacc	720
tacactacca	accactcgga	gactcgcacc	cttcagtggc	agaattcggg	cgcttggag	780
cccggtcagt	ggatctctct	gcaagccctc	acgcggagag	gaaccatcac	cctaccctac	840
caagccacca	tgcaaatcac	cctccagaac	ggcaccgttt	tcacctacc	aatcactgct	900
cagtacgcag	gagtggatta	taccagcgtc	gagattgtga	gccagggaac	aagagattta	960
ggctctgata	acttggccat	caacaaggat	gtccgctaca	tcgctgctgc	caatgggtgca	1020
gctgttggtg	caactacaac	taacgcacc	ccccactacg	tcaccctat	cggaggagcg	1080
cctattgttg	aaccctcaa	gtttagtgtg	ggtgcaactt	acatcaatga	caccgacaat	1140
atcactcagg	aagttgacac	tactgcagct	actagtgtgg	aagagcttac	ccttgtgtac	1200
<210>	22					
<211>	400					
<212>	PRT					
<213>	楔叶铁线蕨					
<400>	22					

Met Ser Ile His Gln Thr Pro Val Thr Leu Ile Gly Gly Arg Gly Gly
 1 5 10 15
 Ala Ala Phe Thr Tyr Asn Ala Gly Ala Ser Gly Arg Ile Leu Arg Arg
 20 25 30
 Ile Gly Val Trp Ala Gly Gly Ser Gln Leu Arg Gly Ile Arg Val Trp
 35 40 45
 Trp Thr Gly Leu Asp Ser Pro Ile Thr Tyr Gly Thr Pro Asn Val Gly
 50 55 60
 Ser Tyr Gln Glu Phe Thr Phe Gln Asp Gly Glu Arg Ile Thr Ser Leu
 65 70 75 80
 Ser Leu Trp Gly Asn Gly Ala Gly Thr Arg Ser Gly Gly Ile Arg Phe
 85 90 95
 Tyr Thr Thr Thr Gly Arg Arg Phe Phe His His Met Thr Ser Trp Gly
 100 105 110
 Leu Lys Gln Glu Tyr Pro Val Asp Val Val Asp Gly Val Cys Val Gly
 115 120 125
 Leu Thr Gly Arg Gln Gly Ala Asp Ile Asp Ala Leu Gly Phe Met Phe
 130 135 140
 Leu Arg Thr Met Thr Ser Ala Arg Met Ile Asn Val Lys Tyr Pro Thr
 145 150 155 160
 Leu Gly Leu Glu Thr Ala Gly Ile Val Pro Val Thr Leu Asp Phe Met
 165 170 175
 Ser Asp Ser Asn Asn Ala Ser Ser Ile Ser Lys Thr Trp Ser Phe Gln
 180 185 190
 Gly Ser Arg Glu Val Thr Val Ser Ser Ser Trp Ser Thr Thr Thr Gly
 195 200 205
 Ile Glu Leu His Ala Ser Ile Thr Val Ser Ala Gly Ile Pro Leu Val
 210 215 220
 Ala Asn Val Glu Gly Gln Tyr Gly Trp Gly Ile Ser Thr Ser Ser Thr
 225 230 235 240
 Tyr Thr Thr Asn His Ser Glu Thr Arg Thr Leu Gln Trp Gln Asn Ser
 245 250 255
 Gly Val Leu Glu Pro Gly Gln Trp Ile Ser Leu Gln Ala Leu Thr Arg
 260 265 270
 Arg Gly Thr Ile Thr Leu Pro Tyr Gln Ala Thr Met Gln Ile Thr Leu
 275 280 285
 Gln Asn Gly Thr Val Phe Thr Tyr Pro Ile Thr Ala Gln Tyr Ala Gly
 290 295 300
 Val Asp Tyr Thr Ser Val Glu Ile Val Ser Gln Gly Thr Arg Asp Leu

305	310	315	320
Gly Ser Asp His Leu Ala Ile Asn Lys Asp Val Arg Tyr Ile Ala Ala			
	325	330	335
Ala Asn Gly Ala Ala Val Gly Thr Thr Thr Thr Asn Ala Pro Pro His			
	340	345	350
Tyr Val His Pro Ile Arg Gly Ala Pro Ile Val Glu Pro Val Lys Phe			
	355	360	365
Ser Val Gly Ala Thr Tyr Ile Asn Asp Thr Asp Asn Ile Thr Gln Glu			
	370	375	380
Val Asp Thr Thr Ala Ala Thr Ser Val Glu Glu Leu Thr Leu Val Tyr			
385	390	395	400

<210> 23

<211> 1200

<212> DNA

<213> 澳大利亚桫欏

<400> 23

```

atgtcgatct atcaaacacc cgtgaccctc atcggaggaa gaggcggagc ggcgttcacg      60
tacaatgcag gcgcgagcgg ccgcatcttg aggaggatcg gagtatgggc cggcgggtcg      120
caactgcgag gcatccgagt gtggtggact ggcttgatt cccccattac ttacggcact      180
cctaacgttg gtcctacca ggagttcacc tttcaggatg gcgagcgtat caccagtctc      240
tctctatggg gcaatggagc aggtacacgc agtggtggca ttaggttcta cacgaccacg      300
ggaaggcggg ttttccacca catgacctct tggggcctga agcaagagta tccagttgac      360
gtagtggatg gcgtgtgctg aggcttgact ggaaggcagg gtgccgacat cgatgccttg      420
ggcttcatgt tcctacgcac catgacctcc gctcgcata tcaatgtgaa gtaccctacc      480
ctcggcctgg agacggcagg cattgtgcca gtcacgctgg acttcatgag cgacagcaac      540
aatgctggct ccatttcaa gacttggctc ttccaaggaa gccgagaggt gaccgtatcc      600
tcctcctgga gtaccaccac gggcattgag cttcatgcga gcatcacctg atcggcaggg      660
atccctctcg tggccaatgt cgaagggcaa tacggatggg ccatcagcac aagctccacc      720
tacactacca accactcgga gactcgcacc cttcagtggc agaattcggg cgtcttggag      780
cccggtcagt ggatctctct gcaagcctc acgcggagag gaaccatcac cctaccctac      840
caggccacca tgcaaatcac cctccagaac ggcaccgttt tcacctacc aatcactgct      900
cagtacgcag gactggatta taccagctc gaaattgtga gccagggaac aagagattta      960
ggctctgata acttggccat caacaaggat gtccactaca tcgctgctgc caatggtgca     1020
gctgttggtg caactacaac taacgcaccg cccactacg tccacctat cggaggagcg     1080
cctattgttg aaccctcaa gtttagtgta ggtgcaactt acatcaatga caccgacaat     1140
atcaactcagg aagttgacac tactgcagct actagtgtgg aagagcttac cttgtctac     1200

```

<210> 24

<211> 400

<212> PRT

<213> 澳大利亚桫欏

<400> 24

Met	Ser	Ile	Tyr	Gln	Thr	Pro	Val	Thr	Leu	Ile	Gly	Gly	Arg	Gly	Gly	1	5	10	15
Ala	Ala	Phe	Thr	Tyr	Asn	Ala	Gly	Ala	Ser	Gly	Arg	Ile	Leu	Arg	Arg	20	25	30	
Ile	Gly	Val	Trp	Ala	Gly	Gly	Ser	Gln	Leu	Arg	Gly	Ile	Arg	Val	Trp	35	40	45	
Trp	Thr	Gly	Leu	Asp	Ser	Pro	Ile	Thr	Tyr	Gly	Thr	Pro	Asn	Val	Gly	50	55	60	
Ser	Tyr	Gln	Glu	Phe	Thr	Phe	Gln	Asp	Gly	Glu	Arg	Ile	Thr	Ser	Leu	65	70	75	80
Ser	Leu	Trp	Gly	Asn	Gly	Ala	Gly	Thr	Arg	Ser	Gly	Gly	Ile	Arg	Phe	85	90	95	
Tyr	Thr	Thr	Thr	Gly	Arg	Arg	Phe	Phe	His	His	Met	Thr	Ser	Trp	Gly	100	105	110	
Leu	Lys	Gln	Glu	Tyr	Pro	Val	Asp	Val	Val	Asp	Gly	Val	Cys	Val	Gly	115	120	125	
Leu	Thr	Gly	Arg	Gln	Gly	Ala	Asp	Ile	Asp	Ala	Leu	Gly	Phe	Met	Phe	130	135	140	
Leu	Arg	Thr	Met	Thr	Ser	Ala	Arg	Met	Ile	Asn	Val	Lys	Tyr	Pro	Thr	145	150	155	160
Leu	Gly	Leu	Glu	Thr	Ala	Gly	Ile	Val	Pro	Val	Thr	Leu	Asp	Phe	Met	165	170	175	
Ser	Asp	Ser	Asn	Asn	Ala	Gly	Ser	Ile	Ser	Lys	Thr	Trp	Ser	Phe	Gln	180	185	190	
Gly	Ser	Arg	Glu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ser	Trp	Ser	Thr	Thr	Thr	Gly	195	200	205	
Ile	Glu	Leu	His	Ala	Ser	Ile	Thr	Val	Ser	Ala	Gly	Ile	Pro	Leu	Val	210	215	220	
Ala	Asn	Val	Glu	Gly	Gln	Tyr	Gly	Trp	Ala	Ile	Ser	Thr	Ser	Ser	Thr	225	230	235	240
Tyr	Thr	Thr	Asn	His	Ser	Glu	Thr	Arg	Thr	Leu	Gln	Trp	Gln	Asn	Ser	245	250	255	
Gly	Val	Leu	Glu	Pro	Gly	Gln	Trp	Ile	Ser	Leu	Gln	Ala	Leu	Thr	Arg	260	265	270	
Arg	Gly	Thr	Ile	Thr	Leu	Pro	Tyr	Gln	Ala	Thr	Met	Gln	Ile	Thr	Leu	275	280	285	
Gln	Asn	Gly	Thr	Val	Phe	Thr	Tyr	Pro	Ile	Thr	Ala	Gln	Tyr	Ala	Gly				

290	295	300	
Val Asp Tyr Thr Ser	Val Glu Ile Val Ser Gln Gly Thr Arg Asp Leu		
305	310	315	320
Gly Ser Asp His Leu Ala Ile Asn Lys Asp Val His Tyr Ile Ala Ala			
	325	330	335
Ala Asn Gly Ala Ala Val Gly Thr Thr Thr Thr Asn Ala Pro Pro His			
	340	345	350
Tyr Val His Pro Ile Arg Gly Ala Pro Ile Val Glu Pro Val Lys Phe			
	355	360	365
Ser Val Gly Ala Thr Tyr Ile Asn Asp Thr Asp Asn Ile Thr Gln Glu			
	370	375	380
Val Asp Thr Thr Ala Ala Thr Ser Val Glu Glu Leu Thr Leu Val Tyr			
385	390	395	400
<210>	25		
<211>	1161		
<212>	DNA		
<213>	未知		
<220>			
<223>	楔叶铁线蕨、铁线蕨、毛叶铁线蕨和贯众的混合物		
<400>	25		
atgtcgacgg ccatctttca aacacccgtg catgtgatag gagtcaagg cggatctgag			60
ttcttttaca atgcaggcgc gagcgggcgc atcttgagga ggatcggagt gtgggcgggc			120
aggtcgttcc tgggaggcat ccgttctg tggacaggcc tggattcccc catcacctac			180
ggcactccta actccggctc ctacagagag ttacttttg aagatggcga gcgcatcacc			240
agtctctccc tatggggcaa tggaataggt acacgcagcg gtggcattag gttcaacacc			300
agcacgggaa ggcagttctt ccaccatatg acctcttga gcttgcagca agagtacgca			360
atcgatgtag cgtccggctt atgcgtaggc ctgtggggaa ggcacggcgt ggaaatcgat			420
tccttgggct tcatgttctt gcgccccata gcctccgctc gcatgatcaa tgtgagatat			480
cctactctag gcctggagac ggcaggcatt gtgccagtea cgctggactc catgagcgac			540
agcaacaatt ctgcctccat gcccagaat tggtcattcc aaggcagccg agatgtgacc			600
atatacctcct cttggagtat tactgcgggc attgagcttc atgcctccat caacgtctcg			660
gcgggggtcc ctatgctggc caatgtggac gtgcaatatg gatggacat cagcagcacc			720
tcgtcctata gcaccagcca ctccggagact cgcagcetta gttggcagaa ttccggcgtc			780
ttggagcctg gtcagtgggt ctctctgcaa gccctcagc ggagaggaac catcaccccta			840
ccctaccagg ccaccatgca aatcacctc cagaacggcg tcgttttccac ctaccaatc			900
gctgctcagt acgcaggagt ggattttaca agcgtcgaga ttgtgagcct agggacaaaa			960
gatgtaggct ctggtcactc ggccaccaac aaggatgtcg gccgcatcgt tgccaatggt			1020
acagctacaa ctagcgcacc gcccgaatat gtccgcctg tcaagttaag tgtaggagca			1080
acttacatca atgacaccaa taatatcact caggaagttg acagtacagc tactagtgta			1140

gaagagctta ccctcatgca t 1161

<210> 26

<211> 387

<212> PRT

<213> 未知

<220>

<223> 楔叶铁线蕨、铁线蕨、毛叶铁线蕨和贯众的混合物

<400> 26

Met Ser Thr Ala Ile Phe Gln Thr Pro Val His Val Ile Gly Gly Gln
 1 5 10 15
 Gly Gly Ser Glu Phe Phe Tyr Asn Ala Gly Ala Ser Gly Arg Ile Leu
 20 25 30
 Arg Arg Ile Gly Val Trp Ala Gly Arg Ser Phe Leu Gly Gly Ile Arg
 35 40 45
 Ser Trp Trp Thr Gly Leu Asp Ser Pro Ile Thr Tyr Gly Thr Pro Asn
 50 55 60
 Ser Gly Ser Tyr Arg Glu Phe Thr Phe Glu Asp Gly Glu Arg Ile Thr
 65 70 75 80
 Ser Leu Ser Leu Trp Gly Asn Gly Ile Gly Thr Arg Ser Gly Gly Ile
 85 90 95
 Arg Phe Asn Thr Ser Thr Gly Arg Gln Phe Phe His His Met Thr Ser
 100 105 110
 Trp Ser Leu Gln Gln Glu Tyr Ala Ile Asp Val Ala Ser Gly Leu Cys
 115 120 125
 Val Gly Leu Trp Gly Arg His Gly Val Glu Ile Asp Ser Leu Gly Phe
 130 135 140
 Met Phe Leu Arg Pro Ile Ala Ser Ala Arg Met Ile Asn Val Arg Tyr
 145 150 155 160
 Pro Thr Leu Gly Leu Glu Thr Ala Gly Ile Val Pro Val Thr Leu Asp
 165 170 175
 Ser Met Ser Asp Ser Asn Asn Ser Ala Ser Met Pro Lys Asn Trp Ser
 180 185 190
 Phe Gln Gly Ser Arg Asp Val Thr Ile Ser Ser Ser Trp Ser Ile Thr
 195 200 205
 Ala Gly Ile Glu Leu His Ala Ser Ile Asn Val Ser Ala Gly Val Pro
 210 215 220
 Met Leu Ala Asn Val Asp Val Gln Tyr Gly Trp Thr Ile Ser Ser Thr
 225 230 235 240
 Ser Ser Tyr Ser Thr Ser His Ser Glu Thr Arg Ser Leu Ser Trp Gln

	245	250	255	
Asn Ser Gly Val Leu Glu Pro Gly Gln Trp Val Ser Leu Gln Ala Leu				
	260	265	270	
Thr Arg Arg Gly Thr Ile Thr Leu Pro Tyr Gln Ala Thr Met Gln Ile				
	275	280	285	
Thr Leu Gln Asn Gly Val Val Phe Thr Tyr Pro Ile Ala Ala Gln Tyr				
	290	295	300	
Ala Gly Val Asp Phe Thr Ser Val Glu Ile Val Ser Leu Gly Thr Lys				
305	310	315	320	
Asp Val Gly Ser Gly His Ser Ala Thr Asn Lys Asp Val Gly Arg Ile				
	325	330	335	
Val Ala Asn Gly Thr Ala Thr Thr Ser Ala Pro Pro Gln Tyr Val Arg				
	340	345	350	
Pro Val Lys Leu Ser Val Gly Ala Thr Tyr Ile Asn Asp Thr Asn Asn				
	355	360	365	
Ile Thr Gln Glu Val Asp Ser Thr Ala Thr Ser Val Glu Glu Leu Thr				
	370	375	380	
Leu Met His				
385				
<210> 27				
<211> 1161				
<212> DNA				
<213> 未知				
<220>				
<223> 楔叶铁线蕨、铁线蕨、毛叶铁线蕨和贯众的混合物				
<400> 27				
atgtcgacgg ccatctttca aacacccgtg catgtgatag gaggtcaagg cggatctgag				60
ttctttttaca atgcaggcgc gagcgggcgc atcttgagta ggatcggagt gtgggcgggc				120
aggctcgttcc tgggaggcat ccgttctctg tggacaggcc tggattcccc catcacctac				180
ggcactccta actccggctc ctacagagag ttcacttttg aagatggcga gcgcatcacc				240
agtctctccc tatggggcaa tggaataggt acacgcagcg gtggcattag gttcaacacc				300
agcacgggaa ggcagttctt ccaccatatg acctcttggg gcttgcagca agagtacgca				360
atcgatgtag cgtccggctt atgcgtaggc ctgtggggaa ggcacggcgt ggaaatcgat				420
tccttgggct tcatgttctt gcgccccata gctccgctc gcatgatcaa tgtgagatat				480
cctactctag gcctggagac ggcaggcatt gtgccagtea cgctggactc catgagcgac				540
agcaacaatt ctgcctccat gcccaagaat tggtcattcc aaggcagccg agatgtgacc				600
atatacctct cttggagtat tactgcgggc attgagcttc atgcctccat caacgtctcg				660
gcgggggtcc ctatgctggc caatgtggac gtgcaatatg gatggacat cagcagcacc				720
tcgtcctata gcaccagcca ctcggagact cgcagcctta gttggcagaa ttccggcgtc				780

ttggagcctg gtcagtgggt ctctctgcaa gccctcacgc ggagaggaac catcaccta 840
 ccctaccagg ccaccatgca aatcacctc cagaacggcg tcgttttcac ctaccaatc 900
 gctgctcagt acgcaggagt ggattttaca agcgtcgaga ttgtgagcct aggacaaaa 960
 gatgtaggct ctggtcactc ggccaccaac aaggatgtcg gccgcatcgt tgccaatggt 1020
 acagctacaa ctagcgcacc gcccataat gtccgcctg tcaagttaag tgtaggagca 1080
 acttacatca atgacaccaa taatatcact caggaagttg acagtacagc tactagtgta 1140
 gaagagctta ccctcatgca t 1161

<210> 28

<211> 387

<212> PRT

<213> 未知

<220>

<223> 楔叶铁线蕨、铁线蕨、毛叶铁线蕨和贯众的混合物

<400> 28

Met Ser Thr Ala Ile Phe Gln Thr Pro Val His Val Ile Gly Gly Gln
 1 5 10 15
 Gly Gly Ser Glu Phe Phe Tyr Asn Ala Gly Ala Ser Gly Arg Ile Leu
 20 25 30
 Ser Arg Ile Gly Val Trp Ala Gly Arg Ser Phe Leu Gly Gly Ile Arg
 35 40 45
 Ser Trp Trp Thr Gly Leu Asp Ser Pro Ile Thr Tyr Gly Thr Pro Asn
 50 55 60
 Ser Gly Ser Tyr Arg Glu Phe Thr Phe Glu Asp Gly Glu Arg Ile Thr
 65 70 75 80
 Ser Leu Ser Leu Trp Gly Asn Gly Ile Gly Thr Arg Ser Gly Gly Ile
 85 90 95
 Arg Phe Asn Thr Ser Thr Gly Arg Gln Phe Phe His His Met Thr Ser
 100 105 110
 Trp Ser Leu Gln Gln Glu Tyr Ala Ile Asp Val Ala Ser Gly Leu Cys
 115 120 125
 Val Gly Leu Trp Gly Arg His Gly Val Glu Ile Asp Ser Leu Gly Phe
 130 135 140
 Met Phe Leu Arg Pro Ile Ala Ser Ala Arg Met Ile Asn Val Arg Tyr
 145 150 155 160
 Pro Thr Leu Gly Leu Glu Thr Ala Gly Ile Val Pro Val Thr Leu Asp
 165 170 175
 Ser Met Ser Asp Ser Asn Asn Ser Ala Ser Met Pro Lys Asn Trp Ser
 180 185 190
 Phe Gln Gly Ser Arg Asp Val Thr Ile Ser Ser Ser Trp Ser Ile Thr

195	200	205	
Ala Gly Ile Glu Leu His	Ala Ser Ile Asn Val	Ser Ala Gly Val Pro	
210	215	220	
Met Leu Ala Asn Val Asp	Val Gln Tyr Gly Trp	Thr Ile Ser Ser Thr	
225	230	235	240
Ser Ser Tyr Ser Thr Ser	His Ser Glu Thr Arg	Ser Leu Ser Trp Gln	
	245	250	255
Asn Ser Gly Val Leu Glu	Pro Gly Gln Trp Val	Ser Leu Gln Ala Leu	
	260	265	270
Thr Arg Arg Gly Thr Ile	Thr Leu Pro Tyr Gln	Ala Thr Met Gln Ile	
	275	280	285
Thr Leu Gln Asn Gly Val	Val Phe Thr Tyr Pro	Ile Ala Ala Gln Tyr	
	290	295	300
Ala Gly Val Asp Phe Thr	Ser Val Glu Ile Val	Ser Leu Gly Thr Lys	
305	310	315	320
Asp Val Gly Ser Gly His	Ser Ala Thr Asn Lys	Asp Val Gly Arg Ile	
	325	330	335
Val Ala Asn Gly Thr Ala	Thr Thr Ser Ala Pro	Pro Gln Tyr Val Arg	
	340	345	350
Pro Val Lys Leu Ser Val	Gly Ala Thr Tyr Ile	Asn Asp Thr Asn Asn	
	355	360	365
Ile Thr Gln Glu Val Asp	Ser Thr Ala Thr Ser	Val Glu Glu Leu Thr	
	370	375	380
Leu Met His			
385			
<210>	29		
<211>	1155		
<212>	DNA		
<213>	楔叶铁线蕨		
<400>	29		
atgtcgatcc atcaaacacc	cgtgcatgtg ataggaggtc	aaggcggatc tgagttcttt	60
tacaatgcag gcgcgagcgg	gcgcatcttg aggaggatcg	gagtgtgggc gggcaggtcg	120
ttcctgggag gcatccgttc	ctggtggaca ggctggatt	ccccatcac ctacggcact	180
cctaactccg gctcctacag	agagttcaact tttgaagatg	gcgagcgcac caccagtctc	240
tccctatggg gcaatggaat	aggtacacgc agcgggtggca	ttaggttcaa caccagcacg	300
ggaaggcagt tcttccacca	tatgacctct tggagcttgc	agcaagagta cgcaatcgat	360
gtagcgtccg gcttatgcgt	aggcctgtgg ggaaggcacg	gcgtggaaat cgattccttg	420
ggcttcatgt tcttgcgcc	catagcctcc gctcgcgatga	tcaatgtgag atatcctact	480
ctaggcctgg agacggcagg	cattgtgcca gtcacgctgg	actccatgag cgacagcaac	540

aattctgcct ccatgccc	aa gaattggtca ttccaaggca gccgagatgt gaccatatcc	600
tcctcttgga gtattactgc	gggcattgag cttcatgcct ccatcaacgt ctcggcgggg	660
gtccctatgc tggccaatgt	ggacgtgcaa tatggatgga ccatcagcag cacctcgtcc	720
tatagcacca gccactcgga	gactcgcagc cttagttggc agaattccgg cgtcttgag	780
cctggtcagt gggctctctct	gcaagccctc acgcggagag gaaccatcac cctaccctac	840
caggccacca tgcaaatcac	cctccagaac ggcgtcgttt tcacctacc aatcgctgct	900
cagtacgcag gaggtgattt	tacaagcgtc gagattgtga gcctaggac aaaagatgta	960
ggctctggtc actcggccac	caacaaggat gtcggccgca tcgttgccaa tggtacagct	1020
acaactagcg caccgcccc	atatgtccgc cctgtcaagt taagtgtagg agcaacttac	1080
atcaatgaca ccaataatat	cactcaggaa gttgacagta cagctactag tgtagaagag	1140
cttaccctca tgcat		1155
<210>	30	
<211>	385	
<212>	PRT	
<213>	楔叶铁线蕨	
<400>	30	
Met Ser Ile His Gln Thr Pro Val His Val Ile Gly Gly Gln Gly Gly		
1	5 10 15	
Ser Glu Phe Phe Tyr Asn Ala Gly Ala Ser Gly Arg Ile Leu Arg Arg		
	20 25 30	
Ile Gly Val Trp Ala Gly Arg Ser Phe Leu Gly Gly Ile Arg Ser Trp		
	35 40 45	
Trp Thr Gly Leu Asp Ser Pro Ile Thr Tyr Gly Thr Pro Asn Ser Gly		
	50 55 60	
Ser Tyr Arg Glu Phe Thr Phe Glu Asp Gly Glu Arg Ile Thr Ser Leu		
65	70 75 80	
Ser Leu Trp Gly Asn Gly Ile Gly Thr Arg Ser Gly Gly Ile Arg Phe		
	85 90 95	
Asn Thr Ser Thr Gly Arg Gln Phe Phe His His Met Thr Ser Trp Ser		
	100 105 110	
Leu Gln Gln Glu Tyr Ala Ile Asp Val Ala Ser Gly Leu Cys Val Gly		
	115 120 125	
Leu Trp Gly Arg His Gly Val Glu Ile Asp Ser Leu Gly Phe Met Phe		
	130 135 140	
Leu Arg Pro Ile Ala Ser Ala Arg Met Ile Asn Val Arg Tyr Pro Thr		
145	150 155 160	
Leu Gly Leu Glu Thr Ala Gly Ile Val Pro Val Thr Leu Asp Ser Met		
	165 170 175	
Ser Asp Ser Asn Asn Ser Ala Ser Met Pro Lys Asn Trp Ser Phe Gln		

	180		185		190	
Gly Ser Arg Asp Val Thr Ile Ser Ser Ser Trp Ser Ile Thr Ala Gly						
	195		200		205	
Ile Glu Leu His Ala Ser Ile Asn Val Ser Ala Gly Val Pro Met Leu						
	210		215		220	
Ala Asn Val Asp Val Gln Tyr Gly Trp Thr Ile Ser Ser Thr Ser Ser						
225		230		235		240
Tyr Ser Thr Ser His Ser Glu Thr Arg Ser Leu Ser Trp Gln Asn Ser						
	245		250		255	
Gly Val Leu Glu Pro Gly Gln Trp Val Ser Leu Gln Ala Leu Thr Arg						
	260		265		270	
Arg Gly Thr Ile Thr Leu Pro Tyr Gln Ala Thr Met Gln Ile Thr Leu						
	275		280		285	
Gln Asn Gly Val Val Phe Thr Tyr Pro Ile Ala Ala Gln Tyr Ala Gly						
	290		295		300	
Val Asp Phe Thr Ser Val Glu Ile Val Ser Leu Gly Thr Lys Asp Val						
305		310		315		320
Gly Ser Gly His Ser Ala Thr Asn Lys Asp Val Gly Arg Ile Val Ala						
	325		330		335	
Asn Gly Thr Ala Thr Thr Ser Ala Pro Pro Gln Tyr Val Arg Pro Val						
	340		345		350	
Lys Leu Ser Val Gly Ala Thr Tyr Ile Asn Asp Thr Asn Asn Ile Thr						
	355		360		365	
Gln Glu Val Asp Ser Thr Ala Thr Ser Val Glu Glu Leu Thr Leu Met						
	370		375		380	

His

385

<210> 31

<211> 1206

<212> DNA

<213> 楔叶铁线蕨

<400> 31

atgtcgacgg ccatctttca aacacccgtg catgtgatag gaggtcaagg cggatctgag	60
ttctttttaca atgcaggcgc gagecgggcgc atcttgagga ggatcggagt gtgggcgggc	120
aggtcgttcc tgggaggeat cegtctctgg tggacaggcc tggattcccc catcacctac	180
ggcactccta actccggctc ctacagagag ttcacttttg aagatggcga gcgcatacacc	240
agtctctccc tatggggcaa tggaataggt acacgcagcg gtggcattag gttcaacacc	300
agcacgggaa ggcagttctt ccaccatatg acctcttgga gcttgcagca agagtacgca	360
atcgatgtag cgtccggctt atgcgtaggc ctgtggggaa ggcacggcgt ggaaatcgat	420

tccttgggct tcatgttctt gcgccccata gcctccgctc gcatgatcaa tgtgagatat 480
 cctactctag gcctggagac ggcaggcatt gtgccagtca cgctggactc catgagcgac 540
 agcaacaatt ctgcctccat gcccaagaat tggtcattcc aaggcagccg agatgtgacc 600
 atatcctcct cttggagtat tactgcgggc attgagcttc atgcctccat caacgtctcg 660
 gcgggggtcc ctatgctggc caatgtggac gtgcaatatg gatggacat cagcagcacc 720
 tcgtcctata gcaccagcca ctcggagact cgcagcctta gttggcagaa ttccggcgtc 780
 ttggagcctg gtcagtgggt ctctctgcaa gcctcaccg ggagaggaac catcacccata 840
 ccctaccagg ccaccatgca aatcacctc cagaacggcg tcgttttcac ctaccaatc 900
 gctgctcagt acgcaggagt ggattttaca agcgtcgaga ttgtgagcct aggacaaaa 960
 gatgtaggct ctggtcactc ggccaccaac aaggatgtcg gccgcatcgt tgccaatggt 1020
 acagctacaa ctagegcacc gcccaatat gtccgcctg tcaagttaag ttaggagca 1080
 acttacatca atgacaccaa taatatcact caggaagttg acagtacagc tactagtgta 1140
 gaagagctta cccttgtgta ctagaactgt ccattctctg gattggccaa ctttaattaat 1200
 gtatga 1206

<210> 32

<211> 387

<212> PRT

<213> 楔叶铁线蕨

<400> 32

Met Ser Thr Ala Ile Phe Gln Thr Pro Val His Val Ile Gly Gly Gln
 1 5 10 15
 Gly Gly Ser Glu Phe Phe Tyr Asn Ala Gly Ala Ser Gly Arg Ile Leu
 20 25 30
 Arg Arg Ile Gly Val Trp Ala Gly Arg Ser Phe Leu Gly Gly Ile Arg
 35 40 45
 Ser Trp Trp Thr Gly Leu Asp Ser Pro Ile Thr Tyr Gly Thr Pro Asn
 50 55 60
 Ser Gly Ser Tyr Arg Glu Phe Thr Phe Glu Asp Gly Glu Arg Ile Thr
 65 70 75 80
 Ser Leu Ser Leu Trp Gly Asn Gly Ile Gly Thr Arg Ser Gly Gly Ile
 85 90 95
 Arg Phe Asn Thr Ser Thr Gly Arg Gln Phe Phe His His Met Thr Ser
 100 105 110
 Trp Ser Leu Gln Gln Glu Tyr Ala Ile Asp Val Ala Ser Gly Leu Cys
 115 120 125
 Val Gly Leu Trp Gly Arg His Gly Val Glu Ile Asp Ser Leu Gly Phe
 130 135 140
 Met Phe Leu Arg Pro Ile Ala Ser Ala Arg Met Ile Asn Val Arg Tyr
 145 150 155 160

tcctatggg gcaatggaat aggtacacgc agcgggtggca ttaggttcaa caccagcacg 300
 ggaaggcagt tcttccacca tatgacctct tggagcttgc agcaagagta cgcaatcgat 360
 gtagcgtccg gcttatgcgt aggcctgtgg ggaaggcacg gcgtggaaat cgattccttg 420
 ggcttcatgt tcctgcgccc catagcctcc gctcgcata tcaatgtgag atatcctact 480
 ctaggcctgg agacggcagg cattgtgcca gtcacgctgg actccatgag cgacagcaac 540
 aattctgcct ccatgcccga gaattggtca ttccaaggca gccgagatgt gaccatatcc 600
 tcctcttggga gtattactgc gggcattgag cttcatgcct ccatcaacgt ctcggcgggg 660
 gtccctatgc tggccaatgt ggacgtgcaa tatggatgga ccatcagcag cacctcgtcc 720
 tatagcacca gccactcgga gactcgcagc cttagttggc agaattccgg cgtcttggag 780
 cctggtcagt gggctctctc gcaagcctc acgcggagag gaaccatcac cctaccctac 840
 cagccacca tgcaaatcac cctccagaac ggcgtcgttt tcacctacc aatcgtctgt 900
 cagtacgcag gagtggattt tacaagcgtc gagattgtga gcctagggac aaaagatgta 960
 ggctctggtc actcggccac caacaaggat gtcggccgca tcgttgcaa tggtagcgt 1020
 acaactagcg caccgcccc atatgtccgc cctgtcaagt taagtgtagg agcaacttac 1080
 atcaatgaca ccaataatat cactcaggaa gttgacagta cagctactag tgtagaagag 1140
 cttaccctca tgcac 1155

<210> 34

<211> 385

<212> PRT

<213> 楔叶铁线蕨

<400> 34

Met Ser Ile Tyr Gln Thr Pro Val His Val Ile Gly Gly Gln Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Glu Phe Phe Tyr Asn Ala Gly Ala Ser Gly Arg Ile Leu Arg Arg
 20 25 30
 Ile Gly Val Trp Ala Gly Arg Ser Phe Leu Gly Gly Ile Arg Ser Trp
 35 40 45
 Trp Thr Gly Leu Asp Ser Pro Ile Thr Tyr Gly Thr Pro Asn Ser Gly
 50 55 60
 Ser Tyr Arg Glu Phe Thr Phe Glu Asp Gly Glu Arg Ile Thr Ser Leu
 65 70 75 80
 Ser Leu Trp Gly Asn Gly Ile Gly Thr Arg Ser Gly Gly Ile Arg Phe
 85 90 95
 Asn Thr Ser Thr Gly Arg Gln Phe Phe His His Met Thr Ser Trp Ser
 100 105 110
 Leu Gln Gln Glu Tyr Ala Ile Asp Val Ala Ser Gly Leu Cys Val Gly
 115 120 125
 Leu Trp Gly Arg His Gly Val Glu Ile Asp Ser Leu Gly Phe Met Phe
 130 135 140

Leu Arg Pro Ile Ala Ser Ala Arg Met Ile Asn Val Arg Tyr Pro Thr
 145 150 155 160
 Leu Gly Leu Glu Thr Ala Gly Ile Val Pro Val Thr Leu Asp Ser Met
 165 170 175
 Ser Asp Ser Asn Asn Ser Ala Ser Met Pro Lys Asn Trp Ser Phe Gln
 180 185 190
 Gly Ser Arg Asp Val Thr Ile Ser Ser Ser Trp Ser Ile Thr Ala Gly
 195 200 205
 Ile Glu Leu His Ala Ser Ile Asn Val Ser Ala Gly Val Pro Met Leu
 210 215 220
 Ala Asn Val Asp Val Gln Tyr Gly Trp Thr Ile Ser Ser Thr Ser Ser
 225 230 235 240
 Tyr Ser Thr Ser His Ser Glu Thr Arg Ser Leu Ser Trp Gln Asn Ser
 245 250 255
 Gly Val Leu Glu Pro Gly Gln Trp Val Ser Leu Gln Ala Leu Thr Arg
 260 265 270
 Arg Gly Thr Ile Thr Leu Pro Tyr Gln Ala Thr Met Gln Ile Thr Leu
 275 280 285
 Gln Asn Gly Val Val Phe Thr Tyr Pro Ile Ala Ala Gln Tyr Ala Gly
 290 295 300
 Val Asp Phe Thr Ser Val Glu Ile Val Ser Leu Gly Thr Lys Asp Val
 305 310 315 320
 Gly Ser Gly His Ser Ala Thr Asn Lys Asp Val Gly Arg Ile Val Ala
 325 330 335
 Asn Gly Thr Ala Thr Thr Ser Ala Pro Pro Gln Tyr Val Arg Pro Val
 340 345 350
 Lys Leu Ser Val Gly Ala Thr Tyr Ile Asn Asp Thr Asn Asn Ile Thr
 355 360 365
 Gln Glu Val Asp Ser Thr Ala Thr Ser Val Glu Glu Leu Thr Leu Met
 370 375 380

His

385

<210> 35

<211> 1155

<212> DNA

<213> 楔叶铁线蕨

<400> 35

atgtcgatct atcaaacacc cgtgcatgtg ataggaggtc aaggcggatc tgagttcttt 60
 tacaatgcag gcgcgagcgg gcgcatcttg aggaggatcg gagtgtgggc gggcaggtcg 120

ttccctgggag gcatccgttc ctggtggaca ggccctggatt ccccatcac ctacggcact 180
 cctaactccg gctcctacag agagttcact tttgaagatg gcgagcgcac caccagtctc 240
 tccctatggg gcaatggaat aggtacacgc agcgggtggca ttaggttcaa caccagcacg 300
 ggaaggcagt tcttccacca tatgacctct tggagcttgc agcaagagta cgcaatcgat 360
 gtagcgtccg gcttatgcgt aggcctgtgg ggaaggcacg gcggtgaaat cgattccttg 420
 ggcttcatgt tcctgcgccc catagcctcc gctcgcatga tcaatgtgag atatcctact 480
 ctaggcctgg agacggcagg cattgtgcca gtcacgctgg actccatgag cgacagcaac 540
 aattctgcct ccatgcccga gaattggtea ttccaaggca gccgagatgt gaccatatcc 600
 tcctcttggg gtattactgc gggcattgag cttcatgcct ccatcaacgt ctggcgggg 660
 gtccctatgc tggccaatgt ggacgtgcaa tatggatgga ccatcagcag cacctcgtcc 720
 tatagcacca gccactcgga gactcgcagc cttagttggc agaattccgg cgtcttggag 780
 cctggtcagt gggctctctc gcaagcctc acgcggagag gaaccatcac cctaccctac 840
 caggccacca tgcaaatcac cctccagaac ggcgtcgttt tcacctacc aatcgctgct 900
 cagtacgcag gagtggatth tacaagcgtc gagattgtga gcctaggac aaaagatgta 960
 ggctctggtc actcggccac caacaaggat gtcggccgca tcgttgcaa tggtagcgt 1020
 acaactagcg caccgcccc atagtccgc cctgtcaagt taagttagg agcaacttac 1080
 atcaatgaca ccaataatat cactcaggaa gttgacagta cagctactag tgtagaagag 1140
 cttaccctca tgcac 1155

<210> 36

<211> 385

<212> PRT

<213> 楔叶铁线蕨

<400> 36

Met Ser Ile Tyr Gln Thr Pro Val His Val Ile Gly Gly Gln Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Glu Phe Phe Tyr Asn Ala Gly Ala Ser Gly Arg Ile Leu Arg Arg
 20 25 30
 Ile Gly Val Trp Ala Gly Arg Ser Phe Leu Gly Gly Ile Arg Ser Trp
 35 40 45
 Trp Thr Gly Leu Asp Ser Pro Ile Thr Tyr Gly Thr Pro Asn Ser Gly
 50 55 60
 Ser Tyr Arg Glu Phe Thr Phe Glu Asp Gly Glu Arg Ile Thr Ser Leu
 65 70 75 80
 Ser Leu Trp Gly Asn Gly Ile Gly Thr Arg Ser Gly Gly Ile Arg Phe
 85 90 95
 Asn Thr Ser Thr Gly Arg Gln Phe Phe His His Met Thr Ser Trp Ser
 100 105 110
 Leu Gln Gln Glu Tyr Ala Ile Asp Val Ala Ser Val Leu Cys Val Gly
 115 120 125

Leu Trp Gly Arg His Gly Val Glu Ile Asp Ser Leu Gly Phe Met Phe
 130 135 140
 Leu Arg Pro Ile Ala Ser Ala Arg Met Ile Asn Val Arg Tyr Pro Thr
 145 150 155 160
 Leu Gly Leu Glu Thr Ala Gly Ile Val Pro Val Thr Leu Asp Ser Met
 165 170 175
 Ser Asp Ser Asn Asn Ser Ala Ser Met Pro Lys Asn Trp Ser Phe Gln
 180 185 190
 Gly Ser Arg Asp Val Thr Ile Ser Ser Ser Trp Ser Ile Thr Ala Gly
 195 200 205
 Ile Glu Leu His Ala Ser Ile Asn Val Ser Ala Gly Val Pro Met Leu
 210 215 220
 Ala Asn Val Asp Val Gln Tyr Gly Trp Thr Ile Ser Ser Thr Ser Ser
 225 230 235 240
 Tyr Ser Thr Ser His Ser Glu Thr Arg Ser Leu Ser Trp Gln Asn Ser
 245 250 255
 Gly Val Leu Glu Pro Gly Gln Trp Val Ser Leu Gln Ala Leu Thr Arg
 260 265 270
 Arg Gly Thr Ile Thr Leu Pro Tyr Gln Ala Thr Met Gln Ile Thr Leu
 275 280 285
 Gln Asn Gly Val Val Phe Thr Tyr Pro Ile Ala Ala Gln Tyr Ala Gly
 290 295 300
 Val Asp Phe Thr Ser Val Glu Ile Val Ser Leu Gly Thr Lys Asp Val
 305 310 315 320
 Gly Ser Gly His Ser Ala Thr Asn Lys Asp Val Gly Arg Ile Val Ala
 325 330 335
 Asn Gly Thr Ala Thr Thr Ser Ala Pro Pro Gln Tyr Val Arg Pro Val
 340 345 350
 Lys Leu Ser Val Gly Ala Thr Tyr Ile Asn Asp Thr Asn Asn Ile Thr
 355 360 365
 Gln Glu Val Asp Ser Thr Ala Thr Ser Val Glu Glu Leu Thr Leu Met
 370 375 380

His

385

<210> 37

<211> 1155

<212> DNA

<213> 楔叶铁线蕨

<400> 37

atgtcgatct atcaaacacc cgtgcatgtg ataggaggtc aaggcggatc tgagttcttt 60
 tacaatgcag gcgcgagcgg gcgcatcttg aggaggatcg gagtgtgggc gggcaggtcg 120
 ttcttgggag gcatccgttc ctggtggaca ggcttgatt ccccatcac ctacggcact 180
 cctaactccg gctcctacag agagttcact tttgaagatg gcgagcgcac caccagtctc 240
 tccctatggg gcaatggaat aggtacacgc agcgggtggca ttaggttcaa caccagcacg 300
 ggaaggcagt tcttccacca tatgacctct tggagcttgc agcaagagta cgcaatcgat 360
 gtacgctccg gcttatgcgt aggcctgtgg ggaaggcacg gcgtggaaat cgattccttg 420
 ggcttcatgt tcttgcgcc catagcctcc gctcgcata tcaatgtgag atatcctact 480
 ctaggcctgg agacggcagg cattgtgcca gtcacgtgg actccatgag cgacagcaac 540
 aattctgcct ccatgccccaa gaattggtea ttccaaggca gccgagatgt gaccatatcc 600
 tcctcttggga atattactgc gggcattgag ctctatgct ccatcaactg ctcggcgggg 660
 gtccctatgc tggccaatgt ggacgtgcaa tatggatgga ccatcagcag cacctcgtcc 720
 tatagcacca gccactcgga gactcgcagc cttagttggc agaattccgg cgtcttggag 780
 cctggtcagt gggctctctt gcaagccctc acgcggagag gaaccatcac cctaccctac 840
 caggccacca tgcaaatcac cctccagaac ggcgtcgttt tcacctacc aatcgtctgt 900
 cagtacgcag gagtggattt tacaagcgtc gagattgtga gcctaggac aaaagatgta 960
 ggctctggtc actcggccac caacaaggat gtcggccgca tcgttgcaa tggtagcgt 1020
 acaactagcg caccgcccc aatgtccgc cctgtcaagt taagtgtagg agcaacttac 1080
 atcaatgaca ccaataatat cactcaggaa gttgacagta cagctactag tgtagaagag 1140
 cttaccctca tgcac 1155

<210> 38

<211> 385

<212> PRT

<213> 楔叶铁线蕨

<400> 38

Met Ser Ile Tyr Gln Thr Pro Val His Val Ile Gly Gly Gln Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Glu Phe Phe Tyr Asn Ala Gly Ala Ser Gly Arg Ile Leu Arg Arg
 20 25 30
 Ile Gly Val Trp Ala Gly Arg Ser Phe Leu Gly Gly Ile Arg Ser Trp
 35 40 45
 Trp Thr Gly Leu Asp Ser Pro Ile Thr Tyr Gly Thr Pro Asn Ser Gly
 50 55 60
 Ser Tyr Arg Glu Phe Thr Phe Glu Asp Gly Glu Arg Ile Thr Ser Leu
 65 70 75 80
 Ser Leu Trp Gly Asn Gly Ile Gly Thr Arg Ser Gly Gly Ile Arg Phe
 85 90 95
 Asn Thr Ser Thr Gly Arg Gln Phe Phe His His Met Thr Ser Trp Ser
 100 105 110

Leu Gln Gln Glu Tyr Ala Ile Asp Val Ala Ser Gly Leu Cys Val Gly
 115 120 125
 Leu Trp Gly Arg His Gly Val Glu Ile Asp Ser Leu Gly Phe Met Phe
 130 135 140
 Leu Arg Pro Ile Ala Ser Ala Arg Met Ile Asn Val Arg Tyr Pro Thr
 145 150 155 160
 Leu Gly Leu Glu Thr Ala Gly Ile Val Pro Val Thr Leu Asp Ser Met
 165 170 175
 Ser Asp Ser Asn Asn Ser Ala Ser Met Pro Lys Asn Trp Ser Phe Gln
 180 185 190
 Gly Ser Arg Asp Val Thr Ile Ser Ser Ser Trp Asn Ile Thr Ala Gly
 195 200 205
 Ile Glu Leu His Ala Ser Ile Asn Val Ser Ala Gly Val Pro Met Leu
 210 215 220
 Ala Asn Val Asp Val Gln Tyr Gly Trp Thr Ile Ser Ser Thr Ser Ser
 225 230 235 240
 Tyr Ser Thr Ser His Ser Glu Thr Arg Ser Leu Ser Trp Gln Asn Ser
 245 250 255
 Gly Val Leu Glu Pro Gly Gln Trp Val Ser Leu Gln Ala Leu Thr Arg
 260 265 270
 Arg Gly Thr Ile Thr Leu Pro Tyr Gln Ala Thr Met Gln Ile Thr Leu
 275 280 285
 Gln Asn Gly Val Val Phe Thr Tyr Pro Ile Ala Ala Gln Tyr Ala Gly
 290 295 300
 Val Asp Phe Thr Ser Val Glu Ile Val Ser Leu Gly Thr Lys Asp Val
 305 310 315 320
 Gly Ser Gly His Ser Ala Thr Asn Lys Asp Val Gly Arg Ile Val Ala
 325 330 335
 Asn Gly Thr Ala Thr Thr Ser Ala Pro Pro Gln Tyr Val Arg Pro Val
 340 345 350
 Lys Leu Ser Val Gly Ala Thr Tyr Ile Asn Asp Thr Asn Asn Ile Thr
 355 360 365
 Gln Glu Val Asp Ser Thr Ala Thr Ser Val Glu Glu Leu Thr Leu Met
 370 375 380
 His
 385
 <210> 39
 <211> 1161
 <212> DNA

<213> 楔叶铁线蕨

<400> 39

atgtcgacgg ccatctttca aacacccgtg catgtgatag gagtcaagg cggatctgag 60
 ttcttttaca atgcaggcgc gagcgggccc atcttgagga ggatcggagt gtgggcgggc 120
 aggtcgttcc tgggaggcat ccgttctggt tggacaggcc tggattcccc catcacctac 180
 ggcactccta actccggctc ctacagagag ttacttttg aagatggcga gcgcatcacc 240
 agtctctccc tatggggcaa tggaataggt acacgcagcg gtggcattag gttcaacacc 300
 agcacgggaa ggcagttctt ccacatatg acctcttggg gcttgcagca agagtacgca 360
 atcgatgtag cgtccggctt atgcgtaggc ctgtggggaa ggcacggcgt ggaaatcgat 420
 tccttgggct tcatgttctt gcgccccata gctccgctc gcatgatcaa tgtgagatat 480
 cctactctag gcctggagac ggcaggcatt gtgccagtec cgctggactc cctgagccac 540
 agcaacaatt ctgcctcctt gcccaagaat tggccattcc agggcagccc aaaggggacc 600
 atatacctct cttggagtat actggcgggc attgagcttc ctgcctccat caacgtctcg 660
 gcgggggtcc ctatgctggc caatgtggac gtgcaatatg gatggacat cagcagcacc 720
 tcgtcctata gcaccagcca ctcggagact cgcagcctta gttggcagaa ttccggcgtc 780
 ttggagcctg gtcagtgggt ctctctgcaa gccctcagc ggagaggaac catcacccata 840
 ccctaccagg ccaccatgca aatcacctc cagaacggcg tcgttttcac ctaccaatc 900
 gctgctcagt acgcaggagt ggattttaca agcgtcgaga ttgtgagcct agggacaaaa 960
 gatgtaggct ctggtcactc ggccaccaac aaggatgtcg gccgcatcgt tgccaatggt 1020
 acagctacaa ctagcgcacc gccccaatat gtccgcctg tcaagttaag tgtaggagca 1080
 acttacatca atgacaccaa taatatcact caggaagttg acagtacagc tactagtgta 1140
 gaagagctta ccctcatgca t 1161

<210> 40

<211> 387

<212> PRT

<213> 楔叶铁线蕨

<400> 40

Met Ser Thr Ala Ile Phe Gln Thr Pro Val His Val Ile Gly Gly Gln
 1 5 10 15
 Gly Gly Ser Glu Phe Phe Tyr Asn Ala Gly Ala Ser Gly Arg Ile Leu
 20 25 30
 Arg Arg Ile Gly Val Trp Ala Gly Arg Ser Phe Leu Gly Gly Ile Arg
 35 40 45
 Ser Trp Trp Thr Gly Leu Asp Ser Pro Ile Thr Tyr Gly Thr Pro Asn
 50 55 60
 Ser Gly Ser Tyr Arg Glu Phe Thr Phe Glu Asp Gly Glu Arg Ile Thr
 65 70 75 80
 Ser Leu Ser Leu Trp Gly Asn Gly Ile Gly Thr Arg Ser Gly Gly Ile
 85 90 95

Arg Phe Asn Thr Ser Thr Gly Arg Gln Phe Phe His His Met Thr Ser
 100 105 110
 Trp Ser Leu Gln Gln Glu Tyr Ala Ile Asp Val Ala Ser Gly Leu Cys
 115 120 125
 Val Gly Leu Trp Gly Arg His Gly Val Glu Ile Asp Ser Leu Gly Phe
 130 135 140
 Met Phe Leu Arg Pro Ile Ala Ser Ala Arg Met Ile Asn Val Arg Tyr
 145 150 155 160
 Pro Thr Leu Gly Leu Glu Thr Ala Gly Ile Val Pro Val Pro Leu Asp
 165 170 175
 Ser Leu Ser His Ser Asn Asn Ser Ala Ser Leu Pro Lys Asn Trp Pro
 180 185 190
 Phe Gln Gly Ser Pro Lys Gly Thr Ile Ser Ser Ser Trp Ser Ile Leu
 195 200 205
 Ala Gly Ile Glu Leu Pro Ala Ser Ile Asn Val Ser Ala Gly Val Pro
 210 215 220
 Met Leu Ala Asn Val Asp Val Gln Tyr Gly Trp Thr Ile Ser Ser Thr
 225 230 235 240
 Ser Ser Tyr Ser Thr Ser His Ser Glu Thr Arg Ser Leu Ser Trp Gln
 245 250 255
 Asn Ser Gly Val Leu Glu Pro Gly Gln Trp Val Ser Leu Gln Ala Leu
 260 265 270
 Thr Arg Arg Gly Thr Ile Thr Leu Pro Tyr Gln Ala Thr Met Gln Ile
 275 280 285
 Thr Leu Gln Asn Gly Val Val Phe Thr Tyr Pro Ile Ala Ala Gln Tyr
 290 295 300
 Ala Gly Val Asp Phe Thr Ser Val Glu Ile Val Ser Leu Gly Thr Lys
 305 310 315 320
 Asp Val Gly Ser Gly His Ser Ala Thr Asn Lys Asp Val Gly Arg Ile
 325 330 335
 Val Ala Asn Gly Thr Ala Thr Thr Ser Ala Pro Pro Gln Tyr Val Arg
 340 345 350
 Pro Val Lys Leu Ser Val Gly Ala Thr Tyr Ile Asn Asp Thr Asn Asn
 355 360 365
 Ile Thr Gln Glu Val Asp Ser Thr Ala Thr Ser Val Glu Glu Leu Thr
 370 375 380
 Leu Met His
 385
 <210> 41

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

<210> 43

<211> 1221

<212> DNA

<213> 澳大利亚桫欏

<400> 43

atgtctatct ttcagacgcc cgtgcatgtg ataggaggtc aggggtggagg ggcgttctcg 60
 tacaatgcag gcgcgagcgg gcgcgtcttg aggaggatcg gtgtgtgggc gggcggctgg 120
 tacctgggag gcatccggtt gtggtggaca ggctggatg actccattac ctacggcact 180
 gctaaactccg gctcctacag ggagttcacc ttcgaggatg gcgagcgcac caccagtctc 240
 tccctctggg gcaacggagc aggtacacgc agtggtggca tcaggttccg caccaccggg 300
 ggaagggagt tcttccacta catgacctct tggggcctcc agcaagagta cccaatagat 360
 gtagcgtcgg gcttgtgcgt ggggtgtcatc ggcaggcacg gggatcacat tgattccctg 420
 ggcttcatgt tcttgcgcac catagcctcc gctcgcacga tcaatgtcag ctaccaacc 480

ctggacctgg agactgcagg cattgtgcca gtcacgctgg actccatgag cgacagcaac 540
aatgccggca ccatctccaa gaactggaca ttcggaggca gcagaagtgt gaccatatcc 600
tcctcctggg ctatcaccgc aggcattgag ctccatgcca gcatcactgt cacagccggg 660
atccccacgg tggcggagg gcaaggggaa tacggatggt ccatcagcag cagctccacc 720
tacaccacta gccatgagga gactcgcacc cttagctggg agaattccgg agtcttgtag 780
cccggcgagt ggatctctct gcaagccctc acacggagag gaaccatctc cctgccttac 840
caggctacca tgcaaatcac cctccagaac ggcgcctct tcacctatcc gatcaccgct 900
ctttacgccg gtagcgatta caccaacgtc cagattgtga gcacggggac cagacatcta 960
gattacgata acgtgcgctc agctggcggc cgccgattag tatcgccat cagcaacaaa 1020
ggcagcttgc cgaccgctgc cactacttct gtgattgcgc cgccccgtta tgtccaccct 1080
gttaacatac cagcagtgcc ttatacgtct gtcattgaac cagtcaaagt tgtggccacg 1140
agagcagcac ctactagcat taatgacgac aacataaagc aggaacctct agtagctacc 1200
gaagagcgta cgcttgata c 1221

<210> 44

<211> 407

<212> PRT

<213> 澳大利亚桫椤

<400> 44

Met Ser Ile Phe Gln Thr Pro Val His Val Ile Gly Gly Gln Gly Gly
1 5 10 15
Gly Ala Phe Ser Tyr Asn Ala Gly Ala Ser Gly Arg Val Leu Arg Arg
20 25 30
Ile Gly Val Trp Ala Gly Gly Trp Tyr Leu Gly Gly Ile Arg Leu Trp
35 40 45
Trp Thr Gly Leu Asp Asp Ser Ile Thr Tyr Gly Thr Ala Asn Ser Gly
50 55 60
Ser Tyr Arg Glu Phe Thr Phe Glu Asp Gly Glu Arg Ile Thr Ser Leu
65 70 75 80
Ser Leu Trp Gly Asn Gly Ala Gly Thr Arg Ser Gly Gly Ile Arg Phe
85 90 95
Arg Thr Thr Gly Gly Arg Glu Phe Phe His Tyr Met Thr Ser Trp Gly
100 105 110
Leu Gln Gln Glu Tyr Pro Ile Asp Val Ala Ser Gly Leu Cys Val Gly
115 120 125
Val Ile Gly Arg His Gly Asp His Ile Asp Ser Leu Gly Phe Met Phe
130 135 140
Leu Arg Thr Ile Ala Ser Ala Arg Met Ile Asn Val Ser Tyr Pro Thr
145 150 155 160
Leu Asp Leu Glu Thr Ala Gly Ile Val Pro Val Thr Leu Asp Ser Met

	165		170		175
Ser Asp Ser Asn Asn Ala Gly Thr Ile Ser Lys Asn Trp Thr Phe Gly					
	180		185		190
Gly Ser Arg Ser Val Thr Ile Ser Ser Ser Trp Ala Ile Thr Ala Gly					
	195		200		205
Ile Glu Leu His Ala Ser Ile Thr Val Thr Ala Gly Ile Pro Thr Val					
	210		215		220
Ala Glu Val Gln Gly Glu Tyr Gly Trp Ser Ile Ser Ser Ser Ser Thr					
225		230		235	240
Tyr Thr Thr Ser His Glu Glu Thr Arg Thr Leu Ser Trp Glu Asn Ser					
	245		250		255
Gly Val Leu Gln Pro Gly Glu Trp Ile Ser Leu Gln Ala Leu Thr Arg					
	260		265		270
Arg Gly Thr Ile Ser Leu Pro Tyr Gln Ala Thr Met Gln Ile Thr Leu					
	275		280		285
Gln Asn Gly Ala Leu Phe Thr Tyr Pro Ile Thr Ala Leu Tyr Ala Gly					
	290		295		300
Val Asp Tyr Thr Asn Val Gln Ile Val Ser Thr Gly Thr Arg His Leu					
305		310		315	320
Asp Tyr Asp His Val Arg Ser Ala Gly Gly Arg Arg Leu Val Ser Ala					
	325		330		335
Ile Ser Asn Lys Gly Ser Leu Pro Thr Ala Ala Thr Thr Ser Val Ile					
	340		345		350
Ala Pro Pro Arg Tyr Val His Pro Val Asn Ile Pro Ala Val Pro Tyr					
	355		360		365
Thr Ser Val Ile Glu Pro Val Lys Val Val Ala Thr Arg Ala Ala Pro					
	370		375		380
Thr Ser Ile Asn Asp Asp Asn Ile Lys Gln Glu Pro Leu Val Ala Thr					
385		390		395	400
Glu Glu Arg Thr Leu Val Tyr					
	405				

<210> 45

<211> 1221

<212> DNA

<213> 澳大利亚桫欏

<400> 45

atgtctatct ttcagacgcc cgtgcatgtg ataggagtc aggttgagg ggcgttctcg	60
tacaatgcag gcgcgagcgg gcgcgtcttg aggaggatcg gtgtgtgggc ggcggttg	120
tacctgggag gcatccggtt gtggtggaca ggctggatg actccattac ctacggcact	180

gctaactccg gctcctacag ggagttcacc ttcgaggatg gcgagcgcac caccagtctc 240
 tcctcttggg gcaacggagc aggtacacgc agtgggtggca tcaggttccg caccaccggg 300
 ggaagggagt tcttccacta catgacctct tggggcctcc agcaagagta cccaatagat 360
 gtagcgtcgg gcttgtgctg ggggtgcatc ggcaggcagc gggatcacat tgattccctg 420
 ggcttcatgt tcttgcgcac catagcctcc gctcgcata tcaatgtcag ctaccaaac 480
 ctggacctgg agactgcagg cattgtgcca gtcacgctgg actccatgag cgacagcaac 540
 aatgccggca ccatctccaa gaactggaca ttcggaggca gcagaagtgt gaccatatcc 600
 tcctcctggg ctatcaccgc aggcattgag ctccatgcca gcatcactgt cacagccggg 660
 atccccacgg tggcggaggt gcaaggggaa tacggatggt ccatcagcag cagctccacc 720
 tacaccacta gccatgagga gactcgcacc cttagctggg agaattccgg agtcttgcag 780
 cccggcgagt ggatctctct gcaagcctc acacggagag gaaccatctc cctgcctac 840
 caggctacca tgcaaatcac cctccagaac ggcgcctct tcacctatcc gatcaccgct 900
 ctttacgccg gactcgatta caccaacgtc cagattgtga gcacggggac cagacatcta 960
 gattacgata acgtgcgctc agctggcggc cgccgattag tatcgccat cagcaacaaa 1020
 ggcagcttgc cgaccgctgc cactacttct gtgattgcgc cgccccgta tgtccacct 1080
 gttaacatac cagcagtget ttatacgtct gtcattgaac cagtcaaagt tgtggccacg 1140
 agagcagcac ctactagcat taatgacgac aacataaagc aggaacctct agtagctacc 1200
 gaagagcgta cgcttgata c 1221

<210> 46

<211> 407

<212> PRT

<213> 澳大利亚桫欏

<400> 46

Met Ser Ile Phe Gln Thr Pro Val His Val Ile Gly Gly Gln Gly Gly
 1 5 10 15
 Gly Ala Phe Ser Tyr Asn Ala Gly Ala Ser Gly Arg Val Leu Arg Arg
 20 25 30
 Ile Gly Val Trp Ala Gly Gly Trp Tyr Leu Gly Gly Ile Arg Leu Trp
 35 40 45
 Trp Thr Gly Leu Asp Asp Ser Ile Thr Tyr Gly Thr Ala Asn Ser Gly
 50 55 60
 Ser Tyr Arg Glu Phe Thr Phe Glu Asp Gly Glu Arg Ile Thr Ser Leu
 65 70 75 80
 Ser Leu Trp Gly Asn Gly Ala Gly Thr Arg Ser Gly Gly Ile Arg Phe
 85 90 95
 Arg Thr Thr Gly Gly Arg Glu Phe Phe His Tyr Met Thr Ser Trp Gly
 100 105 110
 Leu Gln Gln Glu Tyr Pro Ile Asp Val Ala Ser Gly Leu Cys Val Gly
 115 120 125

Val Ile Gly Arg His Gly Asp His Ile Asp Ser Leu Gly Phe Met Phe
 130 135 140
 Leu Arg Thr Ile Ala Ser Ala Arg Met Ile Asn Val Ser Tyr Pro Thr
 145 150 155 160
 Leu Asp Leu Glu Thr Ala Gly Ile Val Pro Val Thr Leu Asp Ser Met
 165 170 175
 Ser Asp Ser Asn Asn Ala Gly Thr Ile Ser Lys Asn Trp Thr Phe Gly
 180 185 190
 Gly Ser Arg Ser Val Thr Ile Ser Ser Ser Trp Ala Ile Thr Ala Gly
 195 200 205
 Ile Glu Leu His Ala Ser Ile Thr Val Thr Ala Gly Ile Pro Thr Val
 210 215 220
 Ala Glu Val Gln Gly Glu Tyr Gly Trp Ser Ile Ser Ser Ser Ser Thr
 225 230 235 240
 Tyr Thr Thr Ser His Glu Glu Thr Arg Thr Leu Ser Trp Glu Asn Ser
 245 250 255
 Gly Val Leu Gln Pro Gly Glu Trp Ile Ser Leu Gln Ala Leu Thr Arg
 260 265 270
 Arg Gly Thr Ile Ser Leu Pro Tyr Gln Ala Thr Met Gln Ile Thr Leu
 275 280 285
 Gln Asn Gly Ala Leu Phe Thr Tyr Pro Ile Thr Ala Leu Tyr Ala Gly
 290 295 300
 Val Asp Tyr Thr Asn Val Gln Ile Val Ser Thr Gly Thr Arg His Leu
 305 310 315 320
 Asp Tyr Asp His Val Arg Ser Ala Gly Gly Arg Arg Leu Val Ser Ala
 325 330 335
 Ile Ser Asn Lys Gly Ser Leu Pro Thr Ala Ala Thr Thr Ser Val Ile
 340 345 350
 Ala Pro Pro Arg Tyr Val His Pro Val Asn Ile Pro Ala Val Leu Tyr
 355 360 365
 Thr Ser Val Ile Glu Pro Val Lys Val Val Ala Thr Arg Ala Ala Pro
 370 375 380
 Thr Ser Ile Asn Asp Asp Asn Ile Lys Gln Glu Pro Leu Val Ala Thr
 385 390 395 400
 Glu Glu Arg Thr Leu Val Tyr
 405

<210> 47

<211> 1182

<212> DNA

<213> 楔叶铁线蕨

<400> 47

atgtcgatct atcaaacacc cgtgagcctg atcggaggac aaggcgaac ggcgttcacg 60
 tacaatgcag gcgagagcgg gcgcgtcttg aggaggattg ggggtgtgggc cgttgactcg 120
 gcgttgccgag gcatccgagt gtgggtggaca ggcttgatt ccccccttac ttacggcact 180
 gctaactccg gcttctacaa ggagttctcc tttcaggttg gcgagcgcac caccagtctc 240
 tccctatggg gcaatggagc aggtacacgc agtggtgcca ttaggtttta caccagcacg 300
 ggaagggagt tcttccacta catgacctct tggggcctga agcaagagta tccaattgat 360
 gtagtgatg gcttgtgcgt aggcgtgaca ggaaggcacg gtaccgacat cgatgccttg 420
 ggcttcatgt tctacgcac catgacctec gctcgcattg tcgatgtgac gtatcctacc 480
 ctgggcttcg atacggcagg cattgcgcca atcacgctgg actcctacag cgacgccaac 540
 caatctggct ccatttcgaa gaattggtcg ttcgaaggca gccgagaggt gaccgtatcc 600
 tcctcttggg gtgtcaccgc gggattgaa tttcacgcca gcgtcaccgt ctcggcgggg 660
 atcccgtgg tgctcgacgt ggatggcgag tttggatggg ccatcagtgc aagcgcacc 720
 tacaccacca actcctcgga gactcgcacc cttagtga ataattccgg cgttttgag 780
 cccggtcaat ggatctctct gcaggccgtc acgcggaagg gaaccatcaa cataccttac 840
 caggccaaca tgcaaatcac cctccagaac ggcgtcattt tcacctacgc acttgctggt 900
 cagtacgccg gactggacta caccgatgtc cagtttga atgacgggac caagaacgcc 960
 ggtcacgtgt caaccaccgc tgccaaaggc acgactgta caactactgc tgctaggatg 1020
 ggcgccctag ccaattccgt ccgcatgtc cgagcagcgt ctattcctag acctgtcaag 1080
 ttcagtgcag gagcaacta catcaatgac accaccaaca atactactca agaagttcac 1140
 agtagtgcac ctactggtgt ggaagagctt accctgtct ac 1182

<210> 48

<211> 394

<212> PRT

<213> 楔叶铁线蕨

<400> 48

Met Ser Ile Tyr Gln Thr Pro Val Ser Leu Ile Gly Gly Gln Gly Gly
 1 5 10 15
 Thr Ala Phe Thr Tyr Asn Ala Gly Glu Ser Gly Arg Val Leu Arg Arg
 20 25 30
 Ile Gly Val Trp Ala Val Asp Ser Ala Leu Arg Gly Ile Arg Val Trp
 35 40 45
 Trp Thr Gly Leu Asp Ser Pro Leu Thr Tyr Gly Thr Ala Asn Ser Gly
 50 55 60
 Phe Tyr Lys Glu Phe Ser Phe Gln Val Gly Glu Arg Ile Thr Ser Leu
 65 70 75 80
 Ser Leu Trp Gly Asn Gly Ala Gly Thr Arg Ser Gly Ala Ile Arg Phe
 85 90 95

Tyr Thr Ser Thr Gly Arg Glu Phe Phe His Tyr Met Thr Ser Trp Gly
 100 105 110
 Leu Lys Gln Glu Tyr Pro Ile Asp Val Val Asp Gly Leu Cys Val Gly
 115 120 125
 Val Thr Gly Arg His Gly Thr Asp Ile Asp Ala Leu Gly Phe Met Phe
 130 135 140
 Leu Arg Thr Met Thr Ser Ala Arg Met Val Asp Val Thr Tyr Pro Thr
 145 150 155 160
 Leu Gly Phe Asp Thr Ala Gly Ile Ala Pro Ile Thr Leu Asp Ser Tyr
 165 170 175
 Ser Asp Ala Asn Gln Ser Gly Ser Ile Ser Lys Asn Trp Ser Phe Glu
 180 185 190
 Gly Ser Arg Glu Val Thr Val Ser Ser Ser Trp Ser Val Thr Ala Gly
 195 200 205
 Ile Glu Phe His Ala Ser Val Thr Val Ser Ala Gly Ile Pro Leu Val
 210 215 220
 Leu Asp Val Asp Gly Glu Phe Gly Trp Ala Ile Ser Ala Ser Ala Thr
 225 230 235 240
 Tyr Thr Thr Asn Ser Ser Glu Thr Arg Thr Leu Lys Trp Asn Asn Ser
 245 250 255
 Gly Val Leu Glu Pro Gly Gln Trp Ile Ser Leu Gln Ala Val Thr Arg
 260 265 270
 Lys Gly Thr Ile Asn Ile Pro Tyr Gln Ala Asn Met Gln Ile Thr Leu
 275 280 285
 Gln Asn Gly Val Ile Phe Thr Tyr Ala Leu Ala Gly Gln Tyr Ala Gly
 290 295 300
 Val Asp Tyr Thr Asp Val Gln Val Val Asn Asp Gly Thr Lys Asn Ala
 305 310 315 320
 Gly His Val Ser Thr Thr Ala Ala Lys Gly Thr Thr Gly Thr Thr Thr
 325 330 335
 Ala Ala Arg Met Gly Ala Leu Ala Asn Ser Val Arg His Val Arg Ala
 340 345 350
 Ala Ser Ile Pro Arg Pro Val Lys Phe Ser Ala Gly Ala Thr Tyr Ile
 355 360 365
 Asn Asp Thr Thr Asn Asn Ile Thr Gln Glu Val His Ser Ser Ala Pro
 370 375 380
 Thr Gly Val Glu Glu Leu Thr Leu Val Tyr
 385 390

<210> 49

<211>	1190	
<212>	DNA	
<213>	楔叶铁线蕨	
<400>	49	
atgtcgactt	gtccatcttt	caaacacccg
cgttcacgta	caatgcaggc	gagagcgggc
ttgactcggc	gttgcgaggc	atccgagtgt
acggcactgc	taactccggc	ttctacaagg
ccagtctctc	cctatggggc	aatggagcag
ccagcacggg	aagggagttc	ttcactaca
caattgatgt	agtggatggc	ttgtgcgtag
atgccttggg	cttcatgttc	ctacgcacca
atcctaccct	gggcttcgat	acggcaggca
acgccaacca	atctggctcc	atttcgaaga
ccgtatcctc	ctcttggagt	gtcaccgcgg
cggcggggat	cccgctggtg	ctcgacgtgg
gcgccaccta	caccaccaac	tctcgggaga
ttttggagcc	cggatcaatg	atctctctgc
taccttacca	ggccaacatg	caaatcacc
ttgctgggtca	gtacgccgga	gtggactaca
agaacgccgg	tcacgtgtca	accaccgctg
ctaggatggg	cgccctagcc	aattccgtcc
ctgtcaagtt	cagtcagga	gcaacttaca
aagttcacag	tagtgcacct	actggtgtgg
		aagagcttac
		ccttgtctac
<210>	50	
<211>	396	
<212>	PRT	
<213>	楔叶铁线蕨	
<400>	50	
Met	Ser	Thr
	Ala	Ile
	Phe	Gln
	Thr	Pro
	Val	Ser
	Leu	Ile
	Gly	Gly
	Gln	
1		5
		10
		15
Gly	Gly	Thr
	Ala	Phe
	Thr	Tyr
	Asn	Ala
	Gly	Glu
	Ser	Gly
	Arg	Val
	Leu	
	20	25
	30	
Arg	Arg	Ile
	Gly	Val
	Trp	Ala
	Val	Asp
	Ser	Ala
	Leu	Arg
	Gly	Ile
	Arg	
	35	40
	45	
Val	Trp	Trp
	Thr	Gly
	Leu	Asp
	Ser	Pro
	Leu	Thr
	Tyr	Gly
	Thr	Ala
	Asn	
	50	55
	60	
Ser	Gly	Phe
	Tyr	Lys
	Glu	Phe
	Ser	Phe
	Gln	Val
	Gly	Glu
	Arg	Ile
	Thr	
	65	70
	75	80

Ser Leu Ser Leu Trp Gly Asn Gly Ala Gly Thr Arg Ser Gly Ala Ile
 85 90 95
 Arg Phe Tyr Thr Ser Thr Gly Arg Glu Phe Phe His Tyr Met Thr Ser
 100 105 110
 Trp Gly Leu Lys Gln Glu Tyr Pro Ile Asp Val Val Asp Gly Leu Cys
 115 120 125
 Val Gly Val Thr Gly Arg His Gly Thr Asp Ile Asp Ala Leu Gly Phe
 130 135 140
 Met Phe Leu Arg Thr Met Thr Ser Ala Arg Met Val Asp Val Thr Tyr
 145 150 155 160
 Pro Thr Leu Gly Phe Asp Thr Ala Gly Ile Ala Pro Ile Thr Leu Asp
 165 170 175
 Ser Tyr Ser Asp Ala Asn Gln Ser Gly Ser Ile Ser Lys Asn Trp Ser
 180 185 190
 Phe Glu Gly Ser Arg Glu Val Thr Val Ser Ser Ser Trp Ser Val Thr
 195 200 205
 Ala Gly Ile Glu Phe His Ala Ser Val Thr Val Ser Ala Gly Ile Pro
 210 215 220
 Leu Val Leu Asp Val Asp Gly Glu Phe Gly Trp Ala Ile Ser Ala Ser
 225 230 235 240
 Ala Thr Tyr Thr Thr Asn Ser Ser Glu Thr Arg Thr Leu Lys Trp Asn
 245 250 255
 Asn Ser Gly Val Leu Glu Pro Gly Gln Trp Ile Ser Leu Gln Ala Val
 260 265 270
 Thr Arg Lys Gly Thr Ile Asn Ile Pro Tyr Gln Ala Asn Met Gln Ile
 275 280 285
 Thr Leu Gln Asn Gly Val Ile Phe Thr Tyr Ala Leu Ala Gly Gln Tyr
 290 295 300
 Ala Gly Val Asp Tyr Thr Asp Val Gln Val Val Asn Asp Gly Thr Lys
 305 310 315 320
 Asn Ala Gly His Val Ser Thr Thr Ala Ala Lys Gly Thr Thr Gly Thr
 325 330 335
 Thr Thr Ala Ala Arg Met Gly Ala Leu Ala Asn Ser Val Arg His Val
 340 345 350
 Arg Ala Ala Ser Ile Pro Arg Pro Val Lys Phe Ser Ala Gly Ala Thr
 355 360 365
 Tyr Ile Asn Asp Thr Thr Asn Asn Ile Thr Gln Glu Val His Ser Ser
 370 375 380
 Ala Pro Thr Gly Val Glu Glu Leu Thr Leu Val Tyr

385	390	395	
<210>	51		
<211>	1221		
<212>	DNA		
<213>	澳大利亚桫欏		
<400>	51		
atgtctatct	ttcagacgac	cgtgcatgtg	ataggaggtc agggtggagg ggcgttctcg 60
tacaatgcag	gcgcgagcgg	gcgcgtcttg	aggaggatcg gtgtgtgggc ggcggctgg 120
tacctgggag	gcatccggtt	gtggtggaca	ggcctggatg actccattac ctacggcact 180
gctaactccg	gctcctacag	ggagttcacc	ttcaggatg gcgagcgcac caccagtctc 240
tccctctggg	gcaacggagc	aggtacacgc	agtggtggea tcaggttccg caccaccggg 300
ggaagggagt	tcttccaacta	catgacctct	tggggcctcc agcaagagta cccaatagat 360
gtagcgtcgg	gcttgtgcgt	gggtgtcatt	ggcaggcacg gggatcacat tgattccctg 420
ggcttcatgt	tcttgcgcac	catagcctcc	gctcgcattg tcaatgtcag ctaccaacc 480
ctggacctgg	agactgcagg	cattgtgcca	gtcacgctgg actccatgag cgacagcaac 540
aatgccggca	ccatctccaa	gaactggaca	ttcggaggca gcagaagtgt gaccatatcc 600
tcctcctggg	ctatcaccgc	aggcattgag	ctccatgcca gcactactgt cacagccggg 660
atccccacgg	tggcggaggt	gcaaggggaa	tacggatggt ccatcagcag cagctccacc 720
tacaccacta	gccatgagga	gactcgcacc	cttagctggg agaattccgg agtcttgcag 780
cccggcgagt	ggatctctct	gcaagccctc	acacggagag gaaccatctc cctgcctac 840
caggctacca	tgcaaatcac	cctccagaac	ggcgcctctc tcacctatcc gatcaccgct 900
ctttacgccg	gagtcgatta	caccaacgtc	cagattgtga gcacggggac cagacatcta 960
gattacgata	acgtgcgctc	agctggcggc	cgccgattag tatcggccat cagcaacaaa 1020
ggcagcttgc	cgaccgctgc	cactacttct	gtgattgcgc cgccccgta tgtccaccct 1080
gttaacatac	cagcagtgcc	ttatacgtct	gtcattgaac cagtcaaagt tgtggccacg 1140
agagcagcac	ctactagcat	taatgacgac	aacataaagc agaacctct agtagctacc 1200
gaagagcgta	cgcttgata	c	1221
<210>	52		
<211>	407		
<212>	PRT		
<213>	澳大利亚桫欏		
<400>	52		
Met Ser Ile Phe Gln Thr Thr Val His Val Ile Gly Gly Gln Gly Gly			
1	5	10	15
Gly Ala Phe Ser Tyr Asn Ala Gly Ala Ser Gly Arg Val Leu Arg Arg			
	20	25	30
Ile Gly Val Trp Ala Gly Gly Trp Tyr Leu Gly Gly Ile Arg Leu Trp			
	35	40	45
Trp Thr Gly Leu Asp Asp Ser Ile Thr Tyr Gly Thr Ala Asn Ser Gly			

50	55	60
Ser Tyr Arg Glu Phe Thr Phe Glu Asp Gly Glu Arg Ile Thr Ser Leu		
65	70	75
Ser Leu Trp Gly Asn Gly Ala Gly Thr Arg Ser Gly Gly Ile Arg Phe		
	85	90
Arg Thr Thr Gly Gly Arg Glu Phe Phe His Tyr Met Thr Ser Trp Gly		
	100	105
Leu Gln Gln Glu Tyr Pro Ile Asp Val Ala Ser Gly Leu Cys Val Gly		
	115	120
Val Ile Gly Arg His Gly Asp His Ile Asp Ser Leu Gly Phe Met Phe		
	130	135
Leu Arg Thr Ile Ala Ser Ala Arg Met Ile Asn Val Ser Tyr Pro Thr		
	145	150
Leu Asp Leu Glu Thr Ala Gly Ile Val Pro Val Thr Leu Asp Ser Met		
	165	170
Ser Asp Ser Asn Asn Ala Gly Thr Ile Ser Lys Asn Trp Thr Phe Gly		
	180	185
Gly Ser Arg Ser Val Thr Ile Ser Ser Ser Trp Ala Ile Thr Ala Gly		
	195	200
Ile Glu Leu His Ala Ser Ile Thr Val Thr Ala Gly Ile Pro Thr Val		
	210	215
Ala Glu Val Gln Gly Glu Tyr Gly Trp Ser Ile Ser Ser Ser Ser Thr		
	225	230
Tyr Thr Thr Ser His Glu Glu Thr Arg Thr Leu Ser Trp Glu Asn Ser		
	245	250
Gly Val Leu Gln Pro Gly Glu Trp Ile Ser Leu Gln Ala Leu Thr Arg		
	260	265
Arg Gly Thr Ile Ser Leu Pro Tyr Gln Ala Thr Met Gln Ile Thr Leu		
	275	280
Gln Asn Gly Ala Leu Phe Thr Tyr Pro Ile Thr Ala Leu Tyr Ala Gly		
	290	295
Val Asp Tyr Thr Asn Val Gln Ile Val Ser Thr Gly Thr Arg His Leu		
	305	310
Asp Tyr Asp His Val Arg Ser Ala Gly Gly Arg Arg Leu Val Ser Ala		
	325	330
Ile Ser Asn Lys Gly Ser Leu Pro Thr Ala Ala Thr Thr Ser Val Ile		
	340	345
Ala Pro Pro Arg Tyr Val His Pro Val Asn Ile Pro Ala Val Pro Tyr		
	355	360
		365

Thr Ser Val Ile Glu Pro Val Lys Val Val Ala Thr Arg Ala Ala Pro
 370 375 380
 Thr Ser Ile Asn Asp Asp Asn Ile Lys Gln Glu Pro Leu Val Ala Thr
 385 390 395 400
 Glu Glu Arg Thr Leu Val Tyr
 405

<210> 53

<211> 1083

<212> DNA

<213> 曲轴海金沙

<400> 53

atgtcgttgt atcagacacc cgtgacaata attgggggcc agggcggcaa ctcatTTTTct 60
 tacgagcaga gcagaaacgg gaagatcctg aggaagatcg ggggtgtgggc gggcgaatgg 120
 caactgcgag gcatccgcat ctggatgagc ggctccgaca gctcagtcac ctacggcaca 180
 gccaatgtgg gctcttataa ggagtacgag ttcaaggatg gcgagcgcac taccgTTTTg 240
 tctttatggg gcaatggTgc aggcacacgt tctggaggca ttagattcta caccacaaca 300
 ggaggccagt ttttccatta catgacatct tggggcttaa agcaagagta cccaatcgat 360
 gtggcatccg gtctttgtgt ggggatcttg ggaagagcta atgctgatat tgatgcatta 420
 gggttctatt tcctaaagtc catagcatct gctcgcagta tcaatgtaag ctaccctaca 480
 ttgagcttag agacagctgg aattattccc gtcacgcttg attcatacag tgactccaat 540
 aatgcaggct ctatttcaaa gaattggaca ttctctgcta gtcgggaagt gaagatctca 600
 tcatcatgga cggtcactac ggggatcgag tatcatgcca gtataactgt tcaagcaggg 660
 attccccttg ttgcggaagt gtcaggagag tttggatggc cggtgagtgt cacaggaagc 720
 tacacaacca cgcatgagga gactcgaacc cttagctggg atcaatccgg aacccttcaa 780
 ccagggcagt ggatctccat ccaagctacc actcggagag gaaacatcac agtaccctac 840
 caggaacca tggagattac cctccagtcc ggccaagtct tttcataccc catctcctca 900
 atgtattctg gcgTggatta taccagtgtc gaaataacca acaccggaac taaagcagca 960
 aaccaagtcg atgatcaagc tgctgatcca agcctacca ctacaactga taccaaggat 1020
 ggtgaggTac ttgagcagcc agataaagaa gtccaagagt ctaaactcat ctatcctagc 1080
 tga 1083

<210> 54

<211> 360

<212> PRT

<213> 曲轴海金沙

<400> 54

Met Ser Leu Tyr Gln Thr Pro Val Thr Ile Ile Gly Gly Gln Gly Gly
 1 5 10 15
 Asn Ser Phe Ser Tyr Glu Gln Ser Arg Asn Gly Lys Ile Leu Arg Lys
 20 25 30

Ile Gly Val Trp Ala Gly Glu Trp Gln Leu Arg Gly Ile Arg Ile Trp
 35 40 45
 Met Ser Gly Ser Asp Ser Ser Val Thr Tyr Gly Thr Ala Asn Val Gly
 50 55 60
 Ser Tyr Lys Glu Tyr Glu Phe Lys Asp Gly Glu Arg Ile Thr Arg Leu
 65 70 75 80
 Ser Leu Trp Gly Asn Gly Ala Gly Thr Arg Ser Gly Gly Ile Arg Phe
 85 90 95
 Tyr Thr Thr Thr Gly Gly Gln Phe Phe His Tyr Met Thr Ser Trp Gly
 100 105 110
 Leu Lys Gln Glu Tyr Pro Ile Asp Val Ala Ser Gly Leu Cys Val Gly
 115 120 125
 Ile Leu Gly Arg Ala Asn Ala Asp Ile Asp Ala Leu Gly Phe Tyr Phe
 130 135 140
 Leu Lys Ser Ile Ala Ser Ala Arg Met Ile Asn Val Ser Tyr Pro Thr
 145 150 155 160
 Leu Ser Leu Glu Thr Ala Gly Ile Ile Pro Val Thr Leu Asp Ser Tyr
 165 170 175
 Ser Asp Ser Asn Asn Ala Gly Ser Ile Ser Lys Asn Trp Thr Phe Ser
 180 185 190
 Gly Ser Arg Glu Val Lys Ile Ser Ser Ser Trp Thr Val Thr Thr Gly
 195 200 205
 Ile Glu Tyr His Ala Ser Ile Thr Val Gln Ala Gly Ile Pro Leu Val
 210 215 220
 Ala Glu Val Ser Gly Glu Phe Gly Trp Ser Val Ser Val Thr Gly Ser
 225 230 235 240
 Tyr Thr Thr Thr His Glu Glu Thr Arg Thr Leu Ser Trp Asp Gln Ser
 245 250 255
 Gly Thr Leu Gln Pro Gly Gln Trp Ile Ser Ile Gln Ala Thr Thr Arg
 260 265 270
 Arg Gly Asn Ile Thr Val Pro Tyr Gln Gly Thr Met Glu Ile Thr Leu
 275 280 285
 Gln Ser Gly Gln Val Phe Ser Tyr Pro Ile Ser Ser Met Tyr Ser Gly
 290 295 300
 Val Asp Tyr Thr Ser Val Glu Ile Thr Asn Thr Gly Thr Lys Ala Ala
 305 310 315 320
 Asn Gln Val Asp Asp Gln Ala Ala Asp Pro Ser Leu Thr Thr Thr Thr
 325 330 335
 Asp Thr Lys Asp Gly Glu Val Leu Glu Gln Pro Asp Lys Glu Val Gln

	340		345		350	
	Glu Ser Lys Leu Ile Tyr Pro Ser					
	355		360			
<210>	55					
<211>	1062					
<212>	DNA					
<213>	二叉鹿角蕨					
<400>	55					
	atgtcgtg	ttcagacacc	cgtgtatgtc	atcggagggc	aaggaggcaa	tcggtttact 60
	tacgatcaga	gcagaaacgg	gaggatcctg	cggaggattg	gggtgtgggc	gggcgagtgg 120
	caactgcg	gaatccgcgt	gtggatgacg	ggcaccgaca	ccccggccac	tttcggcacg 180
	gccacgggct	cttacagtga	atataccttc	gcggatggcg	agcgcatac	ccgcttgtcc 240
	ttgtggggca	acggggctgg	tacacgttca	ggaggcatca	gattctacac	cacaacagga 300
	ggttctttct	tccataaaat	gacatcttgg	ggcttaciaa	ccgagtatcc	aatcgacgtg 360
	gcactctggc	tttgtgtggg	gatcatggga	cgagctaata	ttgatgtgga	ttcattgggt 420
	gttttgttct	taaggacat	agcatctgct	cgtatgatca	atgtaagcta	ccctaccttg 480
	ggcttagagc	aagccggaat	catccctggt	acacttgatt	ccttcaatga	ctccaacaat 540
	gcaggtaacta	tttccaaaaa	ttggactttc	tcgggtagcc	gaaccgtgac	aatatcatca 600
	tcattggtctc	tcacttcagg	gatagagaca	catgcaagtg	tgagcgtgca	agcagggatc 660
	cccatggctc	cagaagtgag	tggagagtat	ggatggtctg	taagtgtatc	tgggacctat 720
	gcaaccactc	aagaggaaag	tcgaacccta	gcatgggacc	aatctggaac	cctacagcct 780
	gggcaatgga	tttactcca	agctaccact	cgaagaggaa	ccatcacatt	accctttcaa 840
	gcaaccatgg	aaatcacttt	gcagtctgga	acgatcttcc	aatatgcat	ctcctcaatg 900
	tactccggtg	tggattatac	tagtgtggat	ataactaaca	ctggaagtag	agcattagat 960
	caggttgagg	tcaaaactac	tgagcaaca	gttgaagggg	tcgaggatca	aaatgtacaa 1020
	cctaataaag	aagctaaaga	gtgcacactc	ctctttgctg	aa	1062
<210>	56					
<211>	354					
<212>	PRT					
<213>	二叉鹿角蕨					
<400>	56					
	Met Ser Leu Val Gln Thr Pro Val Tyr Val Ile Gly Gly Gln Gly Gly					
	1	5	10	15		
	Asn Ala Phe Thr Tyr Asp Gln Ser Arg Asn Gly Arg Ile Leu Arg Arg					
	20	25	30			
	Ile Gly Val Trp Ala Gly Glu Trp Gln Leu Arg Gly Ile Arg Val Trp					
	35	40	45			
	Met Thr Gly Thr Asp Thr Pro Ala Thr Phe Gly Thr Ala Thr Gly Ser					
	50	55	60			

<212>	DNA	
<213>	二叉鹿角蕨	
<400>	57	
atgtcgcctgg	ttcagacacc	cgtctatgtc atcggagggc aaggaggcaa tgcgttttct 60
tacgatcaga	gcagaaacgg	gaggatcctg cggaggatag ggggtgtggc gggcgagtgg 120
caactgcgcg	gaatccgcgt	gtggatgacg ggcaccgaca ccccggccac ctttggcacg 180
gccacgggct	cttatagtga	atataccttc acggatggcg agcgcacacac ccgcttgtcc 240
ttgtggggca	acggggctgg	tacacgttct ggaggcatta gattctacac cacaacagga 300
ggttcttttt	tccataaaat	gacatcttgg ggcttacaga ccgagtatcc aatcgatgtg 360
gcatctggtc	tttgtgtggg	gatcatggga cgagctaata ttgatgtgga ttcatgggtt 420
gttttgttct	taagaacat	agcatctgct cgtatgatca atgtaagcta ccctacctg 480
ggcttagagc	aagccggaat	catcctgtt acccttgatt cgtacaatga ctccaacaat 540
gcaggtacta	tttccaaaaa	ttggacttcc tcgggtagcc gaacagtgac aatatcatca 600
tcatggtcgc	tcacttcagg	gatagagaca catgcaagtg tgagcgtgca agcagggatc 660
cccatggttg	cagaagtgag	tggagagttt ggatggtctg ttagtgtatc tgggacctat 720
gcaaccactc	aagaggaaa	tcgaacccta acttgaacc aatctggaac cctagagcct 780
gggcaatgga	tctcactcca	agctaccact cgaagaggaa ccatcacatt accctttcaa 840
gcaaccatgg	aaatcacttt	gctgtctgga acgatcttcc aatatgcat ctctctatg 900
tactccggtg	tggattatac	tagtgtggat ataactaaca ctggaactag agcatcagat 960
catgttgagg	tcgaagctac	tgagcaacaa gtccaagggg tcaaagatca aagtgtacaa 1020
cctaataaag	aagctaaaga	gtgcacactc ctctttgctg aa 1062
<210>	58	
<211>	354	
<212>	PRT	
<213>	二叉鹿角蕨	
<400>	58	
Met Ser Leu Val Gln Thr Pro Val Tyr Val Ile Gly Gly Gln Gly Gly		
1	5	10 15
Asn Ala Phe Ser Tyr Asp Gln Ser Arg Asn Gly Arg Ile Leu Arg Arg		
	20	25 30
Ile Gly Val Trp Ala Gly Glu Trp Gln Leu Arg Gly Ile Arg Val Trp		
	35	40 45
Met Thr Gly Thr Asp Thr Pro Ala Thr Phe Gly Thr Ala Thr Gly Ser		
	50	55 60
Tyr Ser Glu Tyr Thr Phe Thr Asp Gly Glu Arg Ile Thr Arg Leu Ser		
65	70	75 80
Leu Trp Gly Asn Gly Ala Gly Thr Arg Ser Gly Gly Ile Arg Phe Tyr		
	85	90 95
Thr Thr Thr Gly Gly Ser Phe Phe His Lys Met Thr Ser Trp Gly Leu		

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

Ala Glu

<210> 59

<211> 1062

<212> DNA

<213> 未知

<220>

<223> 二叉鹿角蕨、小垂枝石松和女王鹿角蕨的混合物

<400> 59

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

Ala Glu

<210> 61

<211> 1062

<212> DNA

<213> 未知

<220>

<223> 二叉鹿角蕨、小垂枝石松和女王鹿角蕨的混合物

<400> 61

atgtcgctgg ttcagacacc cgtgtatgtc atcggagggc aaggaggcaa tgcgtttact

60

tacgatcaga gcagaaacgg gaggatcctg cggaggattg ggggtgtgggc gggcgagtgg 120
 caactgcgcg gaatccgct gtggatgacg ggcaccgaca ccccggccac tttcggcacg 180
 gccacgggct cttacagtga atataccttc gcggatggcg agcgcacac ccgcttgtcc 240
 ttgtggggca acggggctgg tacacgttca ggaggcatca gattctacac cacaacagga 300
 ggttctttct tccataaaat gacatcttgg ggcttaca aa ccgagtatcc aatcgacgtg 360
 gcatctggtc tttgtgtgg gatcatggga cgagctaatg ttgatgtgga ttcattgggt 420
 gttttgttct taaggacat agcatctgct cgtatgatca atgtaagcta ccctaccttg 480
 ggcttagagc aagccggaat catcctggtt acacttgatt cttcaatga ctccaacaat 540
 gcaggtacta tttccaaaaa ttggacttcc tcgggtagcc gaaccgtgac aatatcatca 600
 tcatggcttc tcaactcagg gatagagaca catgcaagtg tgagcgtgca agcagggatc 660
 cccatggtcg cagaagtgag tggagagtat ggatggctctg taagtgtatc tgggacctat 720
 gcaaccactc aagaggaaaag tcgaacceta gcatgggacc aatctggaac cctacagcct 780
 gggcaatgga tttcactcca agctaccact caaagaggaa ccatcacatt accctttcaa 840
 gcaaccatgg aaatcacttt gcagtctgga acgatcttcc aatatgcat ctctcaatg 900
 tactccggtg tggattatac tagtgtggat ataactaaca ctggaagtag agcattagat 960
 caggttgagg tcaaaaactac tgagcaacaa gttgaagggg tcgaggatca aatgtacaa 1020
 cctaataaag aagctaaaaga gtgcacactc ctctttgctg aa 1062

<210> 62

<211> 354

<212> PRT

<213> 未知

<220>

<223> 二叉鹿角蕨、小垂枝石松和女王鹿角蕨的混合物

<400> 62

Met Ser Leu Val Gln Thr Pro Val Tyr Val Ile Gly Gly Gln Gly Gly
 1 5 10 15
 Asn Ala Phe Thr Tyr Asp Gln Ser Arg Asn Gly Arg Ile Leu Arg Arg
 20 25 30
 Ile Gly Val Trp Ala Gly Glu Trp Gln Leu Arg Gly Ile Arg Val Trp
 35 40 45
 Met Thr Gly Thr Asp Thr Pro Ala Thr Phe Gly Thr Ala Thr Gly Ser
 50 55 60
 Tyr Ser Glu Tyr Thr Phe Ala Asp Gly Glu Arg Ile Thr Arg Leu Ser
 65 70 75 80
 Leu Trp Gly Asn Gly Ala Gly Thr Arg Ser Gly Gly Ile Arg Phe Tyr
 85 90 95
 Thr Thr Thr Gly Gly Ser Phe Phe His Lys Met Thr Ser Trp Gly Leu
 100 105 110
 Gln Thr Glu Tyr Pro Ile Asp Val Ala Ser Gly Leu Cys Val Gly Ile

ttgtggggca acggggctgg tacacgttca ggaggcatca gattctacac cacaacagga 300
 ggttctttct tccataaaat gacatcttgg ggcttaciaa ccgagtatcc aatcgacgtg 360
 gcatctggtc tttgtgtggg gatcatggga cgagctaattg ttgatgtgga ttcatgggt 420
 gttttgttct taaggacat agcatctgct cgtatgatca atgtaagcta ccctaccttg 480
 ggcttagagc aagccggaat catccctggt acacttgatt cttcaatga ctccaacaat 540
 gcaggtacta tttccaaaaa ttggacttcc tcgggtagcc gaaccgtgac aatatcatca 600
 tcattggtctc tcaacttcagg gatagagaca catgcaagtg tgagcgtgca agcagggatc 660
 cccatggctc cagaagtgag tggagagtat ggatggctctg taagtgtatc tgggacctat 720
 gcaaccactc aagaggaaaag tcgaacctc gcatgggacc aatctggaac cctacagcct 780
 gggcaatgga tttcactcca agctaccact cgaagaggaa ccatcacatt accctttcaa 840
 gcaaccatgg aatcaacttt gcagtctgga acgatcttcc aatatgcat ctctcaatg 900
 tactccggtg tggattatac tagtgtggat ataactaaca ctggaagtag agcattagat 960
 caggttgagg tcaaaaactac tgagcaacaa gttgaagggg tcgaggatca aatgtacaa 1020
 cctaataaag aagctaaaga gtgcacactc ctctttgctg aa 1062

<210> 64

<211> 354

<212> PRT

<213> 二叉鹿角蕨

<400> 64

Met Ser Leu Val Gln Thr Pro Val Tyr Val Ile Gly Gly Gln Gly Gly
 1 5 10 15
 Asn Ala Phe Thr Tyr Asp Gln Ser Arg Asn Gly Arg Ile Leu Arg Arg
 20 25 30
 Ile Gly Val Trp Ala Gly Glu Trp Gln Leu Arg Gly Ile Arg Val Trp
 35 40 45
 Met Thr Gly Thr Asp Thr Pro Ala Thr Phe Gly Thr Ala Thr Gly Ser
 50 55 60
 Tyr Ser Glu Tyr Thr Phe Ala Asp Gly Glu Arg Ile Thr Arg Leu Ser
 65 70 75 80
 Leu Trp Gly Asn Gly Ala Gly Thr Arg Ser Gly Gly Ile Arg Phe Tyr
 85 90 95
 Thr Thr Thr Gly Gly Ser Phe Phe His Lys Met Thr Ser Trp Gly Leu
 100 105 110
 Gln Thr Glu Tyr Pro Ile Asp Val Ala Ser Gly Leu Cys Val Gly Ile
 115 120 125
 Met Gly Arg Ala Asn Val Asp Val Asp Ser Leu Gly Val Leu Phe Leu
 130 135 140
 Arg Thr Ile Ala Ser Ala Arg Met Ile Asn Val Ser Tyr Pro Thr Leu
 145 150 155 160

gcaggtacta tttccaaaaa ttggactttc tccggtagcc gaaccgtgac aatatcatca 600
 tcattggtctc tcacttcagg gatagagaca catgcaagtg tgagcgtgca agcagggatc 660
 cccatggctcg cagaagtgag tggagagtat ggatggctctg taagtgtatc tgggacctat 720
 gcaaccactc aagaggaaag tcgaacccta gcatgggacc aatctggaac cctacagcct 780
 gggcaatgga tttcactcca agctaccact cgaagaggaa ccatcacatt accctttcaa 840
 gcaaccatgg aatcactttt gctgtctgga acgatctttc aatatgcatc ctctctatg 900
 tactccgggtg tggattatac tagtgtggat ataactaaca ctggaagtag agcattagat 960
 caggttgagg tcaaaaactac tgagcaacaa gttgaagggg tcgaggatca aatgtacaa 1020
 cctaataaag aagctaaaga gtgcacactc ctctttgctg aa 1062

<210> 66

<211> 354

<212> PRT

<213> 二叉鹿角蕨

<400> 66

Met Ser Leu Val Gln Thr Pro Val Tyr Val Ile Gly Gly Gln Gly Gly
 1 5 10 15
 Asn Ala Phe Thr Tyr Asp Gln Ser Arg Asn Gly Arg Ile Leu Arg Arg
 20 25 30
 Ile Gly Val Trp Ala Gly Glu Trp Gln Leu Arg Gly Ile Arg Val Trp
 35 40 45
 Met Thr Gly Thr Asp Thr Pro Ala Thr Phe Gly Thr Ala Thr Gly Ser
 50 55 60
 Tyr Ser Glu Tyr Thr Phe Ala Asp Gly Glu Arg Ile Thr Arg Leu Ser
 65 70 75 80
 Leu Trp Gly Asn Gly Ala Gly Thr Arg Ser Gly Gly Ile Arg Phe Tyr
 85 90 95
 Thr Thr Thr Gly Gly Ser Phe Phe His Lys Met Thr Ser Trp Gly Leu
 100 105 110
 Gln Thr Glu Tyr Pro Ile Asp Val Ala Ser Gly Leu Cys Val Gly Ile
 115 120 125
 Met Gly Arg Ala Asn Val Asp Val Asp Ser Leu Gly Val Leu Phe Leu
 130 135 140
 Arg Thr Ile Ala Ser Ala Arg Met Ile Asn Val Ser Tyr Pro Thr Leu
 145 150 155 160
 Gly Leu Glu Gln Ala Gly Ile Ile Pro Val Thr Leu Asp Ser Phe Asn
 165 170 175
 Asp Ser Asn Asn Ala Gly Thr Ile Ser Lys Asn Trp Thr Phe Ser Gly
 180 185 190
 Ser Arg Thr Val Thr Ile Ser Ser Ser Trp Ser Leu Thr Ser Gly Ile

195	200	205
Glu Thr His Ala Ser Val Ser Val Gln Ala Gly Ile Pro Met Val Ala		
210	215	220
Glu Val Ser Gly Glu Tyr Gly Trp Ser Val Ser Val Ser Gly Thr Tyr		
225	230	235
Ala Thr Thr Gln Glu Glu Ser Arg Thr Leu Ala Trp Asp Gln Ser Gly		
245	250	255
Thr Leu Gln Pro Gly Gln Trp Ile Ser Leu Gln Ala Thr Thr Arg Arg		
260	265	270
Gly Thr Ile Thr Leu Pro Phe Gln Ala Thr Met Glu Ile Thr Leu Leu		
275	280	285
Ser Gly Thr Ile Phe Gln Tyr Ala Ile Ser Ser Met Tyr Ser Gly Val		
290	295	300
Asp Tyr Thr Ser Val Asp Ile Thr Asn Thr Gly Ser Arg Ala Leu Asp		
305	310	315
Gln Val Glu Val Lys Thr Thr Glu Gln Gln Val Glu Gly Val Glu Asp		
325	330	335
Gln Asn Val Gln Pro Asn Lys Glu Ala Lys Glu Cys Thr Leu Leu Phe		
340	345	350

Ala Glu

<210> 67

<211> 1062

<212> DNA

<213> 二叉鹿角蕨

<400> 67

atgtcgcctgg ttcagacacc cgtctatgtc atcggagggc aaggaggcaa tgcgttttct	60
tacgatcaga gcagaaacgg gaggatcctg cggaggatag ggggtgtggc gggcgagtgg	120
caactgcgcg gaatccgct gtggatgacg ggcaccgaca ccccgccac ctttggcacg	180
gccacgggct cttatagtga atatacttc acggatggcg agcgcacac ccgcttgtcc	240
ttgtggggca acggggctgg tacacgttct ggaggcatta gattctacac cacaacagga	300
ggttcttttt tccataaaat gacatcttgg ggcttacaga ccgagtatcc aatcgatgtg	360
gcatctggtc tttgtgtggg gatcatggga cgagctaatg ttgatgtgga ttattgggt	420
gttttgttct taagaacat agcatctgct cgtatgatca atgtaagcta ccctacctg	480
ggcttagagc aagccggaat catcctgtt acccttgatt cgtacaatga ctccaacaat	540
gcaggtaacta tttccaaaaa ttggacttcc tcgggtagcc gaaccgtgac aatatcatca	600
tcattgtctc tcaattcagg gatagagaca catgcaagtg tgagcgtgca agcagggatc	660
cccatggctc cagaagtgag tggagagtat ggatggtctg taagtgtatc tgggacctat	720
gcaaccactc aagaggaaag tcgaacccta gcatgggacc aatctggaac cctacagcct	780
gggcaatgga tttcactcca agctaccact cgaagaggaa ccatcacatt accctttcaa	840

gcaaccatgg	aaatcacttt	gcagtctgga	acgatctttc	aatatgccat	ctcctcaatg	900
tactccgggtg	tggattatac	tagtgtggat	ataactaaca	ctggaagtag	agcattagat	960
caggttgagg	tcaaaactac	tgagcaacaa	gttgaagggg	tcgaggatca	aaatgtacaa	1020
cctaataaag	aagctaaaga	gtgcacactc	ctctttgctg	aa		1062
<210>	68					
<211>	354					
<212>	PRT					
<213>	二叉鹿角蕨					
<400>	68					
Met Ser Leu Val Gln Thr Pro Val Tyr Val Ile Gly Gly Gln Gly Gly						
1	5	10	15			
Asn Ala Phe Ser Tyr Asp Gln Ser Arg Asn Gly Arg Ile Leu Arg Arg						
	20	25	30			
Ile Gly Val Trp Ala Gly Glu Trp Gln Leu Arg Gly Ile Arg Val Trp						
	35	40	45			
Met Thr Gly Thr Asp Thr Pro Ala Thr Phe Gly Thr Ala Thr Gly Ser						
	50	55	60			
Tyr Ser Glu Tyr Thr Phe Thr Asp Gly Glu Arg Ile Thr Arg Leu Ser						
65	70	75	80			
Leu Trp Gly Asn Gly Ala Gly Thr Arg Ser Gly Gly Ile Arg Phe Tyr						
	85	90	95			
Thr Thr Thr Gly Gly Ser Phe Phe His Lys Met Thr Ser Trp Gly Leu						
	100	105	110			
Gln Thr Glu Tyr Pro Ile Asp Val Ala Ser Gly Leu Cys Val Gly Ile						
	115	120	125			
Met Gly Arg Ala Asn Val Asp Val Asp Ser Leu Gly Val Leu Phe Leu						
	130	135	140			
Arg Thr Ile Ala Ser Ala Arg Met Ile Asn Val Ser Tyr Pro Thr Leu						
145	150	155	160			
Gly Leu Glu Gln Ala Gly Ile Ile Pro Val Thr Leu Asp Ser Tyr Asn						
	165	170	175			
Asp Ser Asn Asn Ala Gly Thr Ile Ser Lys Asn Trp Thr Phe Ser Gly						
	180	185	190			
Ser Arg Thr Val Thr Ile Ser Ser Ser Trp Ser Leu Thr Ser Gly Ile						
	195	200	205			
Glu Thr His Ala Ser Val Ser Val Gln Ala Gly Ile Pro Met Val Ala						
	210	215	220			
Glu Val Ser Gly Glu Tyr Gly Trp Ser Val Ser Val Ser Gly Thr Tyr						
225	230	235	240			

Ala Thr Thr Gln Glu Glu Ser Arg Thr Leu Ala Trp Asp Gln Ser Gly
 245 250 255
 Thr Leu Gln Pro Gly Gln Trp Ile Ser Leu Gln Ala Thr Thr Arg Arg
 260 265 270
 Gly Thr Ile Thr Leu Pro Phe Gln Ala Thr Met Glu Ile Thr Leu Gln
 275 280 285
 Ser Gly Thr Ile Phe Gln Tyr Ala Ile Ser Ser Met Tyr Ser Gly Val
 290 295 300
 Asp Tyr Thr Ser Val Asp Ile Thr Asn Thr Gly Ser Arg Ala Leu Asp
 305 310 315 320
 Gln Val Glu Val Lys Thr Thr Glu Gln Gln Val Glu Gly Val Glu Asp
 325 330 335
 Gln Asn Val Gln Pro Asn Lys Glu Ala Lys Glu Cys Thr Leu Leu Phe
 340 345 350

Ala Glu

<210> 69

<211> 1062

<212> DNA

<213> 二叉鹿角蕨

<400> 69

atgtcgcctgg ttcagacacc cgtctatgtc atcggagggc aaggaggcaa tgcgttttct 60
 tacgatcaga gcagaaacgg gaggatcctg cggaggatag ggggtgtgggc gggcgagtgg 120
 caactgcgcg gaatccgct gtggatgacg ggcaccgaca ccccgccac ctttggcacg 180
 gccacgggct cttatagtga atatacctt acggatggcg agcgcacac ccgcttgtcc 240
 ttgtggggca acggggctgg tacacgttct ggaggcatta gattctacac cacaacagga 300
 ggttctttct tccataaaat gacatcttgg ggcttacaac cagagtatcc aatcgacgtg 360
 gcatctggtc tttgtgtggg gatcatggga cgagctaatg ttgatgtgga ttcattgggt 420
 gttttgttct taaggacat agcatctgct cgtatgatca atgtaagcta ccctaccttg 480
 ggcttagagc aagccggaat catcctggtt acattgatt cttcaatga ctccaacaat 540
 gcagtaacta tttccaaaaa ttggacttcc tcgggtagcc gaaccgtgac aatatcatca 600
 tcatggcttc tcacttcagg gatagagaca catgcaagtg tgagcgtgca agcagggatc 660
 cccatggctc cagaagtgag tggagagtat ggatggctctg taagtgtatc tgggacctat 720
 gcaaccactc aagaggaaaag tcgaacccta gcatgggacc aatctggaac cctacagcct 780
 gggcaatgga tttcactcca agctaccact cgaagaggaa ccatcacatt accctttcaa 840
 gcaaccatgg aaatcacttt gcagtctgga acgatcttcc aatatgcat ctctcaatg 900
 tactccggtg tggattatac tagtgtggat ataactaaca ctggaagtag agcattagat 960
 caggttgagg tcaaaaactac tgagcaacaa gttgaagggg tcgaggatca aatgtacaa 1020
 cctaataaag aagctaaaaga gtgcacactc ctctttgctg aa 1062

<210> 70

<211> 354
 <212> PRT
 <213> 二叉鹿角蕨
 <400> 70
 Met Ser Leu Val Gln Thr Pro Val Tyr Val Ile Gly Gly Gln Gly Gly
 1 5 10 15
 Asn Ala Phe Ser Tyr Asp Gln Ser Arg Asn Gly Arg Ile Leu Arg Arg
 20 25 30
 Ile Gly Val Trp Ala Gly Glu Trp Gln Leu Arg Gly Ile Arg Val Trp
 35 40 45
 Met Thr Gly Thr Asp Thr Pro Ala Thr Phe Gly Thr Ala Thr Gly Ser
 50 55 60
 Tyr Ser Glu Tyr Thr Phe Thr Asp Gly Glu Arg Ile Thr Arg Leu Ser
 65 70 75 80
 Leu Trp Gly Asn Gly Ala Gly Thr Arg Ser Gly Gly Ile Arg Phe Tyr
 85 90 95
 Thr Thr Thr Gly Gly Ser Phe Phe His Lys Met Thr Ser Trp Gly Leu
 100 105 110
 Gln Thr Glu Tyr Pro Ile Asp Val Ala Ser Gly Leu Cys Val Gly Ile
 115 120 125
 Met Gly Arg Ala Asn Val Asp Val Asp Ser Leu Gly Val Leu Phe Leu
 130 135 140
 Arg Thr Ile Ala Ser Ala Arg Met Ile Asn Val Ser Tyr Pro Thr Leu
 145 150 155 160
 Gly Leu Glu Gln Ala Gly Ile Ile Pro Val Thr Leu Asp Ser Phe Asn
 165 170 175
 Asp Ser Asn Asn Ala Gly Thr Ile Ser Lys Asn Trp Thr Phe Ser Gly
 180 185 190
 Ser Arg Thr Val Thr Ile Ser Ser Ser Trp Ser Leu Thr Ser Gly Ile
 195 200 205
 Glu Thr His Ala Ser Val Ser Val Gln Ala Gly Ile Pro Met Val Ala
 210 215 220
 Glu Val Ser Gly Glu Tyr Gly Trp Ser Val Ser Val Ser Gly Thr Tyr
 225 230 235 240
 Ala Thr Thr Gln Glu Glu Ser Arg Thr Leu Ala Trp Asp Gln Ser Gly
 245 250 255
 Thr Leu Gln Pro Gly Gln Trp Ile Ser Leu Gln Ala Thr Thr Arg Arg
 260 265 270
 Gly Thr Ile Thr Leu Pro Phe Gln Ala Thr Met Glu Ile Thr Leu Gln

	275		280		285	
	Ser Gly Thr Ile Phe Gln Tyr Ala Ile Ser Ser Met Tyr Ser Gly Val					
	290		295		300	
	Asp Tyr Thr Ser Val Asp Ile Thr Asn Thr Gly Ser Arg Ala Leu Asp					
	305		310		315	320
	Gln Val Glu Val Lys Thr Thr Glu Gln Gln Val Glu Gly Val Glu Asp					
		325		330		335
	Gln Asn Val Gln Pro Asn Lys Glu Ala Lys Glu Cys Thr Leu Leu Phe					
		340		345		350
	Ala Glu					
<210>	71					
<211>	1062					
<212>	DNA					
<213>	二叉鹿角蕨					
<400>	71					
	atgtcgctgg ttcagacacc cgtctatgtc atcggagggc aaggaggcaa tgcgttttct					60
	tacgatcaga gcagaaacgg gaggatcctg cggaggatag ggggtgtggc gggcgagtgg					120
	caactgcgcg gaatccgcgt gtggatgacg ggcaccgaca ccccggccac ctttggcacg					180
	gccacgggct cttatagtga atatacctt acggatggcg agcgcacac ccgcttgtcc					240
	ttgtggggca acggggctgg tacacgttct ggaggcatta gattctacac cacaacagga					300
	ggttcttttt tccataaaat gacatcttgg ggcttacaga ccgagtatcc aatcgatgtg					360
	gcatctggtc tttgtgtggg gatcatggga cgagctaatg ttgatgtgga ttattgggt					420
	gttttgttct taagaacat agcatctgct cgtatgatca atgtaagcta ccctacctg					480
	ggcttagagc aagccggaat catccctggt acccttgatt cgtacaatga ctccaacaat					540
	gcaggtacta tttcaaaaa ttggactttc tcgggtagcc gaacagtgac aatatcatca					600
	tcatggtcgc tcacttcagg gatagagaca catgcaagtg tgagcgtgca agcagggatc					660
	cccatgggtg cagaagtgag tggagagttt ggatggtctg ttagtgatc tgggacctat					720
	gcaaccactc aagaggaaag tcgaacctc acttgaacc aatctggaac cctagacct					780
	gggcaatgga tctcactcca agctaccact cgaagaggaa ccatcacatt acccttcaa					840
	gcaaccatgg aatcacttt gctgtctgga acgatcttc aatatgcat ctctcaatg					900
	tactccggtg tggattatac tagtgtggat ataactaaca ctggaagtag agcattagat					960
	caggttgagg tcaaaaactac tgagcaaca gttgaagggg tcgaggatca aaatgtacaa					1020
	cctaataaag aagctaaaga gtgcacactc ctctttgctg aa					1062
<210>	72					
<211>	354					
<212>	PRT					
<213>	二叉鹿角蕨					
<400>	72					
	Met Ser Leu Val Gln Thr Pro Val Tyr Val Ile Gly Gly Gln Gly Gly					

1	5	10	15
Asn Ala Phe Ser Tyr Asp Gln Ser Arg Asn Gly Arg Ile Leu Arg Arg			
	20	25	30
Ile Gly Val Trp Ala Gly Glu Trp Gln Leu Arg Gly Ile Arg Val Trp			
	35	40	45
Met Thr Gly Thr Asp Thr Pro Ala Thr Phe Gly Thr Ala Thr Gly Ser			
	50	55	60
Tyr Ser Glu Tyr Thr Phe Thr Asp Gly Glu Arg Ile Thr Arg Leu Ser			
65	70	75	80
Leu Trp Gly Asn Gly Ala Gly Thr Arg Ser Gly Gly Ile Arg Phe Tyr			
	85	90	95
Thr Thr Thr Gly Gly Ser Phe Phe His Lys Met Thr Ser Trp Gly Leu			
	100	105	110
Gln Thr Glu Tyr Pro Ile Asp Val Ala Ser Gly Leu Cys Val Gly Ile			
	115	120	125
Met Gly Arg Ala Asn Val Asp Val Asp Ser Leu Gly Val Leu Phe Leu			
	130	135	140
Arg Thr Ile Ala Ser Ala Arg Met Ile Asn Val Ser Tyr Pro Thr Leu			
145	150	155	160
Gly Leu Glu Gln Ala Gly Ile Ile Pro Val Thr Leu Asp Ser Tyr Asn			
	165	170	175
Asp Ser Asn Asn Ala Gly Thr Ile Ser Lys Asn Trp Thr Phe Ser Gly			
	180	185	190
Ser Arg Thr Val Thr Ile Ser Ser Ser Trp Ser Leu Thr Ser Gly Ile			
	195	200	205
Glu Thr His Ala Ser Val Ser Val Gln Ala Gly Ile Pro Met Val Ala			
	210	215	220
Glu Val Ser Gly Glu Phe Gly Trp Ser Val Ser Val Ser Gly Thr Tyr			
225	230	235	240
Ala Thr Thr Gln Glu Glu Ser Arg Thr Leu Thr Trp Asn Gln Ser Gly			
	245	250	255
Thr Leu Glu Pro Gly Gln Trp Ile Ser Leu Gln Ala Thr Thr Arg Arg			
	260	265	270
Gly Thr Ile Thr Leu Pro Phe Gln Ala Thr Met Glu Ile Thr Leu Leu			
	275	280	285
Ser Gly Thr Ile Phe Gln Tyr Ala Ile Ser Ser Met Tyr Ser Gly Val			
	290	295	300
Asp Tyr Thr Ser Val Asp Ile Thr Asn Thr Gly Ser Arg Ala Leu Asp			
305	310	315	320

Met Thr Gly Thr Asp Thr Pro Ala Thr Phe Gly Thr Ala Thr Gly Ser
 50 55 60
 Tyr Ser Glu Tyr Thr Phe Ala Asp Gly Glu Arg Ile Thr Arg Leu Ser
 65 70 75 80
 Leu Trp Gly Asn Gly Ala Gly Thr Arg Ser Gly Gly Ile Arg Phe Tyr
 85 90 95
 Thr Thr Thr Gly Gly Ser Phe Phe His Lys Met Thr Ser Trp Gly Leu
 100 105 110
 Gln Thr Glu Tyr Pro Ile Asp Val Ala Ser Gly Leu Cys Val Gly Ile
 115 120 125
 Met Gly Arg Ala Asn Val Asp Val Asp Ser Leu Gly Val Leu Phe Leu
 130 135 140
 Arg Thr Ile Ala Ser Ala Arg Met Ile Asn Val Ser Tyr Pro Thr Leu
 145 150 155 160
 Gly Leu Glu Gln Ala Gly Ile Ile Pro Val Thr Leu Asp Ser Phe Asn
 165 170 175
 Asp Ser Asn Asn Ala Gly Thr Ile Ser Lys Asn Trp Thr Phe Ser Gly
 180 185 190
 Ser Arg Thr Val Thr Ile Ser Ser Ser Trp Ser Leu Thr Ser Gly Ile
 195 200 205
 Glu Thr His Ala Ser Val Ser Val Gln Ala Gly Ile Pro Met Val Ala
 210 215 220
 Glu Val Ser Gly Glu Tyr Gly Trp Ser Val Ser Val Ser Gly Thr Tyr
 225 230 235 240
 Ala Thr Thr Gln Glu Glu Ser Arg Thr Leu Ala Trp Asp Gln Ser Gly
 245 250 255
 Thr Leu Gln Pro Gly Gln Trp Ile Ser Leu Gln Ala Thr Thr Arg Arg
 260 265 270
 Gly Thr Ile Thr Leu Pro Phe Gln Ala Thr Met Glu Ile Thr Leu Gln
 275 280 285
 Ser Gly Thr Ile Phe Gln Tyr Val Ile Ser Ser Met Tyr Ser Gly Val
 290 295 300
 Asp Tyr Thr Ser Val Asp Ile Thr Asn Thr Gly Ser Arg Ala Leu Asp
 305 310 315 320
 Gln Val Glu Val Lys Thr Thr Glu Gln Gln Val Glu Gly Val Glu Asp
 325 330 335
 Gln Asn Val Gln Pro Asn Lys Glu Ala Lys Glu Cys Thr Leu Leu Phe
 340 345 350
 Ala Glu

<210>	75	
<211>	1248	
<212>	DNA	
<213>	对马耳蕨	
<400>	75	
atgtctatct	accagacacc	ggtttcagtg attggaggca cgggtggatc agcgttctct 60
tacaatgcag	gcgcgagcgg	gcgcatcttg aggaagatcg gagtgtgggc aggcggtgg 120
tacctgggag	gcatccgggt	gtggtggaca ggccttgata cccctagtac cttcggcacg 180
gccaatgtcg	gctcctacaa	ggaatacacc ttcgaggacg gggagcgcac caccagtctc 240
tctctctggg	gcaacgggtg	aggtacgcgt tctggtggca tcaggttccg caccaccaag 300
ggaagtgagt	ttttccaacta	catgacatca tgggggttga agcaagagta cccaatggat 360
gtagcgtcgg	gcctgtgcgt	gggtgtgata ggcaggcatg gcgaacacat cgattccctg 420
ggcttcatgt	tcctgcgctc	catagcctct gctcgcata tcaatgtgag ctacccgacc 480
ttggccctcg	agacggctgg	tattgtgcc gtcacgctgg actccctgac cgacaacaac 540
aatgcgggta	ccatcgccaa	gaactgggca ttacgaggca gtcgagaggt gacaatgtcc 600
tccacctggg	cggttacatc	gggcatagag ctctatgcc gcgttaccgt gacggcgggg 660
gtccctacgg	ttgccgaggt	gcaaggggag ttcggatgga aagtgagcac cagcgcgacc 720
tactcgacca	cttaccagga	aactcggagc cttcagtggg agcagtcggg agtcttacag 780
cctggagaat	ggatctctat	acaagctctc acgaggagag gaaccataag cctgcctac 840
cagggcacca	tgcaaattac	cctccaatcg ggcactgtgt tcacctacc aatcagtgtc 900
ctgtacgctg	gagtggatta	caccagcgtt gagatagtaa atctgggaac ttatgtatca 960
tccaataata	tatcaggaga	agctatcccc aggcaattac ccgtcagcag cttcagcttg 1020
ccggctacta	atattgcaaa	tggggcggcc tgggccggtg ctaatgcaaa tggggccttg 1080
gcgcccggtg	ctcgagctct	aatcaacggg gagcctatca aacctatta cagtaatgtc 1140
cttccacaca	ctctaaccac	tccgcaggat caggatcacc agctgtctgt tatcaaacct 1200
cattacaaaa	atatccttga	acttgtccat cttctggatt ggccaact 1248
<210>	76	
<211>	416	
<212>	PRT	
<213>	对马耳蕨	
<400>	76	
Met Ser Ile Tyr Gln Thr Pro Val Ser Val Ile Gly Gly Thr Gly Gly		
1	5	10 15
Ser Ala Phe Ser Tyr Asn Ala Gly Ala Ser Gly Arg Ile Leu Arg Lys		
	20	25 30
Ile Gly Val Trp Ala Gly Gly Trp Tyr Leu Gly Gly Ile Arg Val Trp		
	35	40 45
Trp Thr Gly Leu Asp Thr Pro Ser Thr Phe Gly Thr Ala Asn Val Gly		
	50	55 60

Ser Tyr Lys Glu Tyr Thr Phe Glu Asp Gly Glu Arg Ile Thr Ser Leu																			
65					70					75									80
Ser Leu Trp Gly Asn Gly Ala Gly Thr Arg Ser Gly Gly Ile Arg Phe																			
					85					90									95
Arg Thr Thr Lys Gly Ser Glu Phe Phe His Tyr Met Thr Ser Trp Gly																			
					100					105									110
Leu Lys Gln Glu Tyr Pro Met Asp Val Ala Ser Gly Leu Cys Val Gly																			
					115					120									125
Val Ile Gly Arg His Gly Glu His Ile Asp Ser Leu Gly Phe Met Phe																			
					130					135									140
Leu Arg Ser Ile Ala Ser Ala Arg Met Ile Asn Val Ser Tyr Pro Thr																			
					145					150									155
Leu Ala Leu Glu Thr Ala Gly Ile Val Pro Val Thr Leu Asp Ser Leu																			
					165					170									175
Thr Asp Asn Asn Asn Ala Gly Thr Ile Ala Lys Asn Trp Ala Leu Arg																			
					180					185									190
Gly Ser Arg Glu Val Thr Met Ser Ser Thr Trp Ser Val Thr Ser Gly																			
					195					200									205
Ile Glu Leu Tyr Ala Ser Val Thr Val Thr Ala Gly Val Pro Thr Val																			
					210					215									220
Ala Glu Val Gln Gly Glu Phe Gly Trp Lys Val Ser Thr Ser Ala Thr																			
					225					230									235
Tyr Ser Thr Thr Tyr Gln Glu Thr Arg Ser Leu Gln Trp Glu Gln Ser																			
					245					250									255
Gly Val Leu Gln Pro Gly Glu Trp Ile Ser Ile Gln Ala Leu Thr Arg																			
					260					265									270
Arg Gly Thr Ile Ser Leu Pro Tyr Gln Gly Thr Met Gln Ile Thr Leu																			
					275					280									285
Gln Ser Gly Thr Val Phe Thr Tyr Pro Ile Ser Ala Leu Tyr Ala Gly																			
					290					295									300
Val Asp Tyr Thr Ser Val Glu Ile Val Asn Leu Gly Thr Tyr Val Ser																			
					305					310									315
Ser Asn Asn Ile Ser Gly Glu Ala Ile Pro Arg Gln Leu Pro Val Ser																			
					325					330									335
Ser Phe Ser Leu Pro Ala Thr Asn Ile Ala Asn Gly Ala Ala Trp Ala																			
					340					345									350
Gly Ala Asn Ala Asn Gly Ala Leu Ala Ala Gly Thr Arg Ala Leu Ile																			
					355					360									365
Asn Gly Glu Pro Ile Lys Pro His Tyr Ser Asn Val Leu Pro His Thr																			

	370		375		380														
	Leu	Thr	Thr	Pro	Gln	Asp	Gln	Asp	His	Gln	Leu	Ser	Val	Ile	Lys	Pro			
	385					390					395					400			
	His	Tyr	Lys	Asn	Ile	Leu	Glu	Leu	Val	His	Leu	Leu	Asp	Trp	Pro	Thr			
					405					410						415			
<210>	77																		
<211>	1344																		
<212>	DNA																		
<213>	对马耳蕨																		
<400>	77																		
	atgtctatct	accagacacc	ggtttcagt	attggaggca	cgggtggatc	agcgttctct													60
	tacaatgcag	gcgcgagcgg	gcgcatcttg	aggaagatcg	gagtgtgggc	aggcgggtgg													120
	tacctgggag	gcatccgggt	gtggtggaca	ggccttgata	cccctagtac	cttcggcacg													180
	gccaatgtcg	gctcctacaa	ggaatacacc	ttcgaggacg	gggagcgcac	caccagtctc													240
	tctctctggg	gcaacggtgc	aggtacgcgt	tctggtggca	tcaggttccg	caccaccaag													300
	ggaagtgagt	ttttccacta	catgacatca	tgggggttga	agcaagagta	cccaatggat													360
	gtagcgtcgg	gcctgtgcgt	gggtgtgatc	ggcaggcatg	gcgaacacat	cgattccctg													420
	ggcttcatgt	tcttgcgctc	catagcctct	gctcgcacga	tcaatgtgag	ctacccgacc													480
	ttggccctcg	agacggctgg	tattgtgcc	gtcacgctgg	actccctgac	cgacaacaac													540
	aatgcgggta	ccatcgccaa	gaactgggca	ttacgaggca	gtcgagaggt	gacaatgtcc													600
	tccacctggg	cggttacatc	gggcatagag	ctctatgcc	gcgttacctg	gacggcgggg													660
	gtccctacgg	ttgccgaggt	gcaaggggag	ttcgatgga	aagtgagcac	cagcgcgacc													720
	tactcgacca	cttaccagga	aactcggagc	cttcagtggg	agcagtcggg	agtcttacag													780
	cctggagaat	ggatctctat	acaagctctc	acgaggagag	gaaccataag	cctgccttac													840
	cagggcacca	tgcaaattac	cctccaatcg	ggcactgtgt	tcacctacc	aatcagtgtc													900
	ctgtacgctg	gagtggatta	caccagcgtt	gagatagtaa	atctgggaac	ttatgtatca													960
	tccaataata	tatcaggaga	agctatcccc	aggcaattac	ccgtcagcag	cttcagcttg													1020
	ccggctacta	atattgcaaa	tggggcggcc	tgggccggtg	ctaattgcaa	tggggccttg													1080
	gcggccggta	ctcgagctct	aatcaacggg	gagcctatca	aacctatta	cagtaatgtc													1140
	cttccacaca	ctctaaccac	tccgcaggat	caggatcacc	agctgtctgt	tatcaaacct													1200
	cattacaaaa	atataccttga	tggggacaat	actaattatc	agccccagcc	ccagccccag													1260
	ggagtggtcg	aagagcgtac	acttgtgctt	tagacttgct	catcttctgg	attggccaac													1320
	ttaattaatg	tatgaaataa	aagg																1344
<210>	78																		
<211>	430																		
<212>	PRT																		
<213>	对马耳蕨																		
<400>	78																		
	Met	Ser	Ile	Tyr	Gln	Thr	Pro	Val	Ser	Val	Ile	Gly	Gly	Thr	Gly	Gly			

1	5	10	15
Ser Ala Phe Ser Tyr Asn Ala Gly Ala Ser Gly Arg Ile Leu Arg Lys			
	20	25	30
Ile Gly Val Trp Ala Gly Gly Trp Tyr Leu Gly Gly Ile Arg Val Trp			
	35	40	45
Trp Thr Gly Leu Asp Thr Pro Ser Thr Phe Gly Thr Ala Asn Val Gly			
	50	55	60
Ser Tyr Lys Glu Tyr Thr Phe Glu Asp Gly Glu Arg Ile Thr Ser Leu			
65	70	75	80
Ser Leu Trp Gly Asn Gly Ala Gly Thr Arg Ser Gly Gly Ile Arg Phe			
	85	90	95
Arg Thr Thr Lys Gly Ser Glu Phe Phe His Tyr Met Thr Ser Trp Gly			
	100	105	110
Leu Lys Gln Glu Tyr Pro Met Asp Val Ala Ser Gly Leu Cys Val Gly			
	115	120	125
Val Ile Gly Arg His Gly Glu His Ile Asp Ser Leu Gly Phe Met Phe			
	130	135	140
Leu Arg Ser Ile Ala Ser Ala Arg Met Ile Asn Val Ser Tyr Pro Thr			
145	150	155	160
Leu Ala Leu Glu Thr Ala Gly Ile Val Pro Val Thr Leu Asp Ser Leu			
	165	170	175
Thr Asp Asn Asn Asn Ala Gly Thr Ile Ala Lys Asn Trp Ala Leu Arg			
	180	185	190
Gly Ser Arg Glu Val Thr Met Ser Ser Thr Trp Ser Val Thr Ser Gly			
	195	200	205
Ile Glu Leu Tyr Ala Ser Val Thr Val Thr Ala Gly Val Pro Thr Val			
	210	215	220
Ala Glu Val Gln Gly Glu Phe Gly Trp Lys Val Ser Thr Ser Ala Thr			
225	230	235	240
Tyr Ser Thr Thr Tyr Gln Glu Thr Arg Ser Leu Gln Trp Glu Gln Ser			
	245	250	255
Gly Val Leu Gln Pro Gly Glu Trp Ile Ser Ile Gln Ala Leu Thr Arg			
	260	265	270
Arg Gly Thr Ile Ser Leu Pro Tyr Gln Gly Thr Met Gln Ile Thr Leu			
	275	280	285
Gln Ser Gly Thr Val Phe Thr Tyr Pro Ile Ser Ala Leu Tyr Ala Gly			
	290	295	300
Val Asp Tyr Thr Ser Val Glu Ile Val Asn Leu Gly Thr Tyr Val Ser			
305	310	315	320

Ser Asn Asn Ile Ser Gly Glu Ala Ile Pro Arg Gln Leu Pro Val Ser
 325 330 335
 Ser Phe Ser Leu Pro Ala Thr Asn Ile Ala Asn Gly Ala Ala Trp Ala
 340 345 350
 Gly Ala Asn Ala Asn Gly Ala Leu Ala Ala Gly Thr Arg Ala Leu Ile
 355 360 365
 Asn Gly Glu Pro Ile Lys Pro His Tyr Ser Asn Val Leu Pro His Thr
 370 375 380
 Leu Thr Thr Pro Gln Asp Gln Asp His Gln Leu Ser Val Ile Lys Pro
 385 390 395 400
 His Tyr Lys Asn Ile Leu Asp Gly Asp Asn Thr Asn Tyr Gln Pro Gln
 405 410 415
 Pro Gln Pro Gln Gly Val Val Glu Glu Arg Thr Leu Val Leu
 420 425 430

<210> 79

<211> 1242

<212> DNA

<213> 兔脚蕨

<400> 79

atgtctatct atcagacacc catttcagt atcggaggca cgggtggatc agccttctct 60
 tacaatgcag gcgcgagcgg gcgcatcttg aggaagatcg gagtgtgggc gggcgggtgg 120
 tacctgggag gcatccgggt gtggtggaca ggcttgata ccctagtac ctteggcacg 180
 gccaatgtcg gctcctacaa ggaatacacc ttcgaggacg gggagcgcac caccagtctc 240
 tctctctggg gcaacgggtgc aggtacgcgt tctggtggca tcaggttccg caccaccaag 300
 ggaagtgagt ttttccacta catgacatca tgggggttga aacaagagta cccaatcgat 360
 gtagcggcgg gcctgtgcgt ggggtgtgatc ggcaggcatg gcaaacacat cgattccctg 420
 ggcttcatgt tcctgcgctc catagcgtct gctcgcatga tcaatgtgag ctaccggacc 480
 ttggccctcg agacggctgg tattgtgcc gtcacgctgg actccctgac cgacagcaac 540
 aatgcaggta ccatctccaa gaactgggca ttgcgaggca gtcgagaggt gacgatgtcc 600
 tccacctggg cggttacatc gggcatagag ctgtatgcca gcgtgaccgt gacggcgggg 660
 gtccctacgg ttgccgaggt gcaaggggag ttcggatgga gagtgagcac cagcgcgacc 720
 tactcgacca ctcacacgga aactcgacg ctteagtgagg aacagtcggg agtgttacag 780
 cctggagagt ggatctctct acaagctctg acgaggagag gaaacataag cctgccttac 840
 cagggcacca tgcaaatcac cctgcaatcg ggcactgtgt ttacctacc aatcagtgtc 900
 ctgtacgctg gagtggatta caccaacggt gagatagtaa atctgggaac tttttagca 960
 tccaataata tatcagccgg agaatttatc cccaggcaac ccatcagctt gccggcggtc 1020
 actactaata ctaatgcaaa tggggcctgg actaatgcag gggccttggc cggtactact 1080
 cgagctgtaa tcaacgagga acccatcaaa cctcattaca ctagtaatca ggatcatcag 1140
 ctgtctgtta tcaaacctca ttacaaaaat ataaatatcc aggatgggga caatactact 1200

tatcagcccc agggagtggc cgaagagcgc tcacttgtct tt 1242

<210> 80

<211> 414

<212> PRT

<213> 兔脚蕨

<400> 80

Met Ser Ile Tyr Gln Thr Pro Ile Ser Val Ile Gly Gly Thr Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Ala Phe Ser Tyr Asn Ala Gly Ala Ser Gly Arg Ile Leu Arg Lys
 20 25 30
 Ile Gly Val Trp Ala Gly Gly Trp Tyr Leu Gly Gly Ile Arg Val Trp
 35 40 45
 Trp Thr Gly Leu Asp Thr Pro Ser Thr Phe Gly Thr Ala Asn Val Gly
 50 55 60
 Ser Tyr Lys Glu Tyr Thr Phe Glu Asp Gly Glu Arg Ile Thr Ser Leu
 65 70 75 80
 Ser Leu Trp Gly Asn Gly Ala Gly Thr Arg Ser Gly Gly Ile Arg Phe
 85 90 95
 Arg Thr Thr Lys Gly Ser Glu Phe Phe His Tyr Met Thr Ser Trp Gly
 100 105 110
 Leu Lys Gln Glu Tyr Pro Ile Asp Val Ala Ala Gly Leu Cys Val Gly
 115 120 125
 Val Ile Gly Arg His Gly Glu His Ile Asp Ser Leu Gly Phe Met Phe
 130 135 140
 Leu Arg Ser Ile Ala Ser Ala Arg Met Ile Asn Val Ser Tyr Pro Thr
 145 150 155 160
 Leu Ala Leu Glu Thr Ala Gly Ile Val Pro Val Thr Leu Asp Ser Leu
 165 170 175
 Thr Asp Ser Asn Asn Ala Gly Thr Ile Ser Lys Asn Trp Ala Leu Arg
 180 185 190
 Gly Ser Arg Glu Val Thr Met Ser Ser Thr Trp Ser Val Thr Ser Gly
 195 200 205
 Ile Glu Leu Tyr Ala Ser Val Thr Val Thr Ala Gly Val Pro Thr Val
 210 215 220
 Ala Glu Val Gln Gly Glu Phe Gly Trp Arg Val Ser Thr Ser Ala Thr
 225 230 235 240
 Tyr Ser Thr Thr His Thr Glu Thr Arg Thr Leu Gln Trp Glu Gln Ser
 245 250 255
 Gly Val Leu Gln Pro Gly Glu Trp Ile Ser Leu Gln Ala Leu Thr Arg

	260		265		270	
Arg Gly Asn Ile Ser Leu Pro Tyr Gln Gly Thr Met Gln Ile Thr Leu						
	275		280		285	
Gln Ser Gly Thr Val Phe Thr Tyr Pro Ile Ser Ala Leu Tyr Ala Gly						
	290		295		300	
Val Asp Tyr Thr Asn Val Glu Ile Val Asn Leu Gly Thr Phe Val Ala						
305		310		315		320
Ser Asn Asn Ile Ser Ala Gly Glu Phe Ile Pro Arg Gln Pro Ile Ser						
	325		330		335	
Leu Pro Ala Ala Thr Thr Asn Thr Asn Ala Asn Gly Ala Trp Thr Asn						
	340		345		350	
Ala Gly Ala Leu Ala Gly Thr Thr Arg Ala Val Ile Asn Glu Glu Pro						
	355		360		365	
Ile Lys Pro His Tyr Thr Ser Asn Gln Asp His Gln Leu Ser Val Ile						
	370		375		380	
Lys Pro His Tyr Lys Asn Ile Asn Ile Gln Asp Gly Asp Asn Thr Thr						
385		390		395		400
Tyr Gln Pro Gln Gly Val Val Glu Glu Arg Ser Leu Val Phe						
	405		410			

<210> 81

<211> 1059

<212> DNA

<213> 连珠蕨

<400> 81

atggcgctgt atcagacacc tgtgtctatt atcggagggc aaggtggcac atcgtttact	60
tatgatcaga gcccgaacgg gaagatcatg aggaagattg gggtttgggc tggcgagtgg	120
caactgcgtg gcatccgcat atgggtttct ggctccgacg acccaaccac ctttggcaca	180
gcctcgggct cttataatga gtatacattc gcggatggcg agaccatcac cagtttgtcc	240
ttgtggggca atggtgcagg tacacgctct ggagccatta gattctacac ctcaacagga	300
ggctcatttt tcccataaat gacgtcttgg ggcttaaaga cagagtatcc aattgatgtg	360
gcatcgggtc tttgtgtggg gatcatggga cgagctgggt atgacattga cgctttgggg	420
ttcttattcc taagaacct aacatctgct cgtatgatca atgtaacct cccaacctg	480
ggcttagagg aagctgcaat taccctgtc aaccttgatt catacaatga cgctaataat	540
gcaggtacta tttccaagag ttggaacttt tctggtagtc gaacagtgc agtatcagag	600
tcttggacgc tcaactgcggg gatagaggta cacgctaccg tgagtgttca agcagggatc	660
cctctgttg cagaggtgaa cggagagtat ggatggctcat tgagtacaac aggaagctat	720
gcaaccaccc aagaagagag cgcacccta agttggaacc aatctggaac cttggagcca	780
gggcaatgga tttccatcca agctaccact cgaagaggaa ccataacatt accctacaa	840
ggaacctatg agatcacct acagtctggc actaagtttc aatacccat atcctctaca	900

tacactggtg tggattacac tagtgttgac atagttagca ttggatctag agtattgaat 960
 caagctaagg ttgaagctac taataaaaaa gctttagaag gagatccaaa tgtccagcct 1020
 agtaaagaag ttcaagaatg caaactccta tatattgaa 1059
 <210> 82
 <211> 353
 <212> PRT
 <213> 连珠蕨
 <400> 82
 Met Ala Leu Tyr Gln Thr Pro Val Ser Ile Ile Gly Gly Gln Gly Gly
 1 5 10 15
 Thr Ser Phe Thr Tyr Asp Gln Ser Pro Asn Gly Lys Ile Met Arg Lys
 20 25 30
 Ile Gly Val Trp Ala Gly Glu Trp Gln Leu Arg Gly Ile Arg Ile Trp
 35 40 45
 Val Ser Gly Ser Asp Asp Pro Thr Thr Phe Gly Thr Ala Ser Gly Ser
 50 55 60
 Tyr Asn Glu Tyr Thr Phe Ala Asp Gly Glu Thr Ile Thr Ser Leu Ser
 65 70 75 80
 Leu Trp Gly Asn Gly Ala Gly Thr Arg Ser Gly Ala Ile Arg Phe Tyr
 85 90 95
 Thr Ser Thr Gly Gly Ser Phe Phe Pro Lys Met Thr Ser Trp Gly Leu
 100 105 110
 Lys Thr Glu Tyr Pro Ile Asp Val Ala Ser Gly Leu Cys Val Gly Ile
 115 120 125
 Met Gly Arg Ala Gly Asp Asp Ile Asp Ala Leu Gly Phe Leu Phe Leu
 130 135 140
 Arg Thr Ile Thr Ser Ala Arg Met Ile Asn Val Thr Tyr Pro Thr Leu
 145 150 155 160
 Gly Leu Glu Glu Ala Ala Ile Ile Pro Val Thr Leu Asp Ser Tyr Asn
 165 170 175
 Asp Ala Asn Asn Ala Gly Thr Ile Ser Lys Ser Trp Thr Phe Ser Gly
 180 185 190
 Ser Arg Thr Val Thr Val Ser Glu Ser Trp Thr Leu Thr Ala Gly Ile
 195 200 205
 Glu Val His Ala Thr Val Ser Val Gln Ala Gly Ile Pro Leu Val Ala
 210 215 220
 Glu Val Asn Gly Glu Tyr Gly Trp Ser Leu Ser Thr Thr Gly Ser Tyr
 225 230 235 240
 Ala Thr Thr Gln Glu Glu Ser Arg Thr Leu Ser Trp Asn Gln Ser Gly

	245	250	255	
Thr Leu Glu Pro Gly Gln Trp Ile Ser Ile Gln Ala Thr Thr Arg Arg				
	260	265	270	
Gly Thr Ile Thr Leu Pro Tyr Gln Gly Thr Met Glu Ile Thr Leu Gln				
	275	280	285	
Ser Gly Thr Lys Phe Gln Tyr Pro Ile Ser Ser Thr Tyr Thr Gly Val				
	290	295	300	
Asp Tyr Thr Ser Val Asp Ile Val Ser Ile Gly Ser Arg Val Leu Asn				
305	310	315	320	
Gln Ala Lys Val Glu Ala Thr Asn Lys Lys Ala Leu Glu Gly Asp Pro				
	325	330	335	
Asn Val Gln Pro Ser Lys Glu Val Gln Glu Cys Lys Leu Leu Tyr Ile				
	340	345	350	
Glu				
<210>	83			
<211>	1059			
<212>	DNA			
<213>	连珠蕨			
<400>	83			
atggcgctgt atcagacacc tgtgtctatt atcggagggc aaggtggcac atcgtttact				60
tatgatcaga gcccgaacgg gaagatcatg aggaagattg gggtttgggc tggcgagtgg				120
caactgcgtg gcatccgcat atgggtttct ggctccgacg acccaaccac ctttggcaca				180
gcctcgggct cttataatga gtatacttc gcggatggcg agaccatcac cagtttgtcc				240
ttgtggggca atgggtcagg tacacgctct ggagccatta gattctacac ctcaacagga				300
ggctcatttt tcccaaaaat gacgtcttgg gacttaaaga cagagtatcc aattgatgtg				360
gcatcgggtc tttgtgtggg gatcatggga cgagctgggtg atgacattga cgctttgggg				420
ttcttattcc taagaacat aacatctgct cgtatgatca atgtaacctt cccaacctg				480
ggcttagagg aagctgcaat tatccctgtc acacttgatt catacaatga cgctaataat				540
gcaggtacta tttccaagag ttggactttt tctggtagtc gaacagtgac agtatcagag				600
tcttggacgc tcaactgcgg gatagaggta cacgctaccg tgagtgttca agcagggatc				660
cctcttgttg cagagtgaa cggagagtat ggatggteat tgagtacaac aggaagctat				720
gcaaccaccc aagaagagag ccgcacceta agttggaacc aatctggaac cttggagcca				780
gggcaatgga tttccatcca agctaccact cgaagaggaa ccataacatt accctaccaa				840
ggaaccatgg agatcaccet acagtetggc actaagtttc aatacccat atcctctaca				900
tacactgggtg tggattacac tagtgttgac atagttagca ttggatctag agtattgaat				960
caagctaagg ttgaagctac taataaaaaa gctttagaag gagatccaaa tgtccagcct				1020
agtaaagaag ttcaagaatg caaactccta tatattgaa				1059
<210>	84			
<211>	353			

<212> PRT
 <213> 连珠蕨
 <400> 84
 Met Ala Leu Tyr Gln Thr Pro Val Ser Ile Ile Gly Gly Gln Gly Gly
 1 5 10 15
 Thr Ser Phe Thr Tyr Asp Gln Ser Pro Asn Gly Lys Ile Met Arg Lys
 20 25 30
 Ile Gly Val Trp Ala Gly Glu Trp Gln Leu Arg Gly Ile Arg Ile Trp
 35 40 45
 Val Ser Gly Ser Asp Asp Pro Thr Thr Phe Gly Thr Ala Ser Gly Ser
 50 55 60
 Tyr Asn Glu Tyr Thr Phe Ala Asp Gly Glu Thr Ile Thr Ser Leu Ser
 65 70 75 80
 Leu Trp Gly Asn Gly Ala Gly Thr Arg Ser Gly Ala Ile Arg Phe Tyr
 85 90 95
 Thr Ser Thr Gly Gly Ser Phe Phe Pro Lys Met Thr Ser Trp Asp Leu
 100 105 110
 Lys Thr Glu Tyr Pro Ile Asp Val Ala Ser Gly Leu Cys Val Gly Ile
 115 120 125
 Met Gly Arg Ala Gly Asp Asp Ile Asp Ala Leu Gly Phe Leu Phe Leu
 130 135 140
 Arg Thr Ile Thr Ser Ala Arg Met Ile Asn Val Thr Tyr Pro Thr Leu
 145 150 155 160
 Gly Leu Glu Glu Ala Ala Ile Ile Pro Val Thr Leu Asp Ser Tyr Asn
 165 170 175
 Asp Ala Asn Asn Ala Gly Thr Ile Ser Lys Ser Trp Thr Phe Ser Gly
 180 185 190
 Ser Arg Thr Val Thr Val Ser Glu Ser Trp Thr Leu Thr Ala Gly Ile
 195 200 205
 Glu Val His Ala Thr Val Ser Val Gln Ala Gly Ile Pro Leu Val Ala
 210 215 220
 Glu Val Asn Gly Glu Tyr Gly Trp Ser Leu Ser Thr Thr Gly Ser Tyr
 225 230 235 240
 Ala Thr Thr Gln Glu Glu Ser Arg Thr Leu Ser Trp Asn Gln Ser Gly
 245 250 255
 Thr Leu Glu Pro Gly Gln Trp Ile Ser Ile Gln Ala Thr Thr Arg Arg
 260 265 270
 Gly Thr Ile Thr Leu Pro Tyr Gln Gly Thr Met Glu Ile Thr Leu Gln
 275 280 285

Ser Gly Thr Lys Phe Gln Tyr Pro Ile Ser Ser Thr Tyr Thr Gly Val
 290 295 300
 Asp Tyr Thr Ser Val Asp Ile Val Ser Ile Gly Ser Arg Val Leu Asn
 305 310 315 320
 Gln Ala Lys Val Glu Ala Thr Asn Lys Lys Ala Leu Glu Gly Asp Pro
 325 330 335
 Asn Val Gln Pro Ser Lys Glu Val Gln Glu Cys Lys Leu Leu Tyr Ile
 340 345 350

Glu

<210> 85

<211> 1059

<212> DNA

<213> 连珠蕨

<400> 85

atggcgctgt atcagacacc tgtgtatgtc atcggagggc aaggtggcaa ctcgttcaca 60
 tatgatcaga gcaggaacgg gaaggtcttg aggaagattg gtgtgtgggc tggtagtggt 120
 caactgcgcg gtatccgggt atggatgtct ggttccgata gcccagccac cttcggcaca 180
 gcctcgggct cttataatga gtatacattt gcagatgggt agcgcacac ccgtttgtcc 240
 ttgtggggca atggtgctgg tacacgttct gggggcatta gattctacac cacgactgga 300
 ggctcatttt ttgctaaaat gacatcttgg ggcttaciaa ctgagtatcc aatcgatgtg 360
 gcatctggtc tttgtgttgg gatactggga cgagctaatg ttgacattga ttcattgggt 420
 ttcattgtcc ttcgaacat agcatctgct cgtatgatca atgtaagtta cccaacattg 480
 ggcttagagc aagctggaat tgtgcctgtc acgcttgatt cgtacaacga ttccaacaat 540
 gcaggtaciaa tttccaagaa ttggactttc tccggaagtc gaacagtgac aatatcatct 600
 tcatggacgc tcaactcggg catagaggca catgctactg tgagtgttca agcggggatc 660
 cccttggttg cagaagtgag cggagagttt ggatggatcat taagtgttac aggaagctac 720
 acaaccaccc aagaggagag tcgaacactc acgtggaacc aatccggaac ctagagcca 780
 gggcaatgga tttccctcca agcgaccact cgtagaggtta ccatcacctt accctatcaa 840
 gggacatgg agataactct acagtctgga actgtatttc aatacccat ctcttctatg 900
 tatgccggtg tggattatac tagtgttgac attaccaaca ctggaactag agcattgaat 960
 cgggttgaga ctgaagctat tgatcaacia gccctggaag gagaccagaa tgtccaacct 1020
 agtaaagacg tccaggaatg caaactctc tttactgat 1059

<210> 86

<211> 353

<212> PRT

<213> 连珠蕨

<400> 86

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

Asn Ser Phe Thr Tyr Asp Gln Ser Arg Asn Gly Lys Val Leu Arg Lys																			
Ile Gly Val Trp Ala Gly Glu Trp Gln Leu Arg Gly Ile Arg Val Trp																			
Met Ser Gly Ser Asp Ser Pro Ala Thr Phe Gly Thr Ala Ser Gly Ser																			
Tyr Asn Glu Tyr Thr Phe Ala Asp Gly Glu Arg Ile Thr Arg Leu Ser																			
Leu Trp Gly Asn Gly Ala Gly Thr Arg Ser Gly Gly Ile Arg Phe Tyr																			
Thr Thr Thr Gly Gly Ser Phe Phe Ala Lys Met Thr Ser Trp Gly Leu																			
Gln Thr Glu Tyr Pro Ile Asp Val Ala Ser Gly Leu Cys Val Gly Ile																			
Leu Gly Arg Ala Asn Val Asp Ile Asp Ser Leu Gly Phe Met Phe Leu																			
Arg Thr Ile Ala Ser Ala Arg Met Ile Asn Val Ser Tyr Pro Thr Leu																			
Gly Leu Glu Gln Ala Gly Ile Val Pro Val Thr Leu Asp Ser Tyr Asn																			
Asp Ser Asn Asn Ala Gly Thr Ile Ser Lys Asn Trp Thr Phe Ser Gly																			
Ser Arg Thr Val Thr Ile Ser Ser Ser Trp Thr Leu Thr Ser Gly Ile																			
Glu Ala His Ala Thr Val Ser Val Gln Ala Gly Ile Pro Leu Val Ala																			
Glu Val Ser Gly Glu Phe Gly Trp Ser Leu Ser Val Thr Gly Ser Tyr																			
Thr Thr Thr Gln Glu Glu Ser Arg Thr Leu Thr Trp Asn Gln Ser Gly																			
Thr Leu Glu Pro Gly Gln Trp Ile Ser Leu Gln Ala Thr Thr Arg Arg																			
Gly Thr Ile Thr Leu Pro Tyr Gln Gly Thr Met Glu Ile Thr Leu Gln																			
Ser Gly Thr Val Phe Gln Tyr Pro Ile Ser Ser Met Tyr Ala Gly Val																			
Asp Tyr Thr Ser Val Asp Ile Thr Asn Thr Gly Thr Arg Ala Leu Asn																			
Arg Val Glu Thr Glu Ala Ile Asp Gln Gln Ala Arg Glu Gly Asp Gln																			

	325	330	335	
	Asn Val Gln Pro Ser Lys Asp Val Gln Glu Cys Lys Leu Leu Phe Thr			
	340	345	350	
Asp				
<210>	87			
<211>	1098			
<212>	DNA			
<213>	连珠蕨			
<400>	87			
atggcgctgt atcagacacc cgtgtatgtc atcggagggc aaggaggcaa tgcgtttact				60
tacgatcaga gcagaaacgg gaggatcctg cggaggattg ggggtgtgggc gggcgagtgg				120
caactgcgcg gaatccgcgt gtggatgacg ggcaccgaca ccccggccac ttteggcacg				180
gccacgggct cttacagtga atataccttc gcggatggcg agcgcatac ccgcttgtcc				240
ttgtggggca acggggctgg tacacgttca ggaggcatca gattctacac cacaacagga				300
ggttctttct tccataaaat gacatcttgg ggcttaciaa ccgagtatcc aatcgacgtg				360
gcatctggtc tttgtgtggg gatcatggga cgagctaata ttgatgtgga ttcattgggt				420
gttttgttct taaggaccat agcatctgct cgtatgatca atgtaagcta ccctaccttg				480
ggcttagagc aagccggaat catccctgtt acaacttgatt ccttcaatga ctccaacaat				540
gcaggtacta tttccaaaaa ttggactttc tcgggtagcc gaaccgtgac aatatcatca				600
tcatggtctc tcacttcagg gatagagaca catgcaagtg tgagcgtgca agcagggatc				660
cccatggtcg cagaagtgag tggagagtat ggatggtctg taagtgtatc tgggacctat				720
gcaaccactc aagaggaaag tcgaacccta gcatgggacc aatctggaac cctacagcct				780
gggcaatgga tttcactcca agctaccact cgaagaggaa ccatcacatt accctttcaa				840
gcaaccatgg aaatcacttt gcagtctgga acgatcttcc aatatgcat ctctcaatg				900
tactccggtg tggattatac tagtgtggat ataactaaca ctggaagtag agcattagat				960
caggttgagg tcaaaactac tgagcaacia gttgaagggg tcgaggatca aaatgtacia				1020
cctaataaag aagctaaaga gtgcacactc ctctttgctg aaggcgcagc ttaccatac				1080
gatgtgccag attatgct				1098
<210>	88			
<211>	360			
<212>	PRT			
<213>	连珠蕨			
<400>	88			
Met Ala Leu Tyr Gln Thr Pro Val Tyr Val Ile Gly Gly Gln Gly Gly				
1	5	10	15	
Asn Ala Phe Thr Tyr Asp Gln Ser Arg Asn Gly Arg Ile Leu Arg Arg				
	20	25	30	
Ile Gly Val Trp Ala Gly Glu Trp Gln Leu Arg Gly Ile Arg Val Trp				
	35	40	45	

Met Thr Gly Thr Asp Thr Pro Ala Thr Phe Gly Thr Ala Thr Gly Ser
 50 55 60
 Tyr Ser Glu Tyr Thr Phe Ala Asp Gly Glu Arg Ile Thr Arg Leu Ser
 65 70 75 80
 Leu Trp Gly Asn Gly Ala Gly Thr Arg Ser Gly Gly Ile Arg Phe Tyr
 85 90 95
 Thr Thr Thr Gly Gly Ser Phe Phe His Lys Met Thr Ser Trp Gly Leu
 100 105 110
 Gln Thr Glu Tyr Pro Ile Asp Val Ala Ser Gly Leu Cys Val Gly Ile
 115 120 125
 Met Gly Arg Ala Asn Val Asp Val Asp Ser Leu Gly Val Leu Phe Leu
 130 135 140
 Arg Thr Ile Ala Ser Ala Arg Met Ile Asn Val Ser Tyr Pro Thr Leu
 145 150 155 160
 Gly Leu Glu Gln Ala Gly Ile Ile Pro Val Thr Leu Asp Ser Phe Asn
 165 170 175
 Asp Ser Asn Asn Ala Gly Thr Ile Ser Lys Asn Trp Thr Phe Ser Gly
 180 185 190
 Ser Arg Thr Val Thr Ile Ser Ser Ser Trp Ser Leu Thr Ser Gly Ile
 195 200 205
 Glu Thr His Ala Ser Val Ser Val Gln Ala Gly Ile Pro Met Val Ala
 210 215 220
 Glu Val Ser Gly Glu Tyr Gly Trp Ser Val Ser Val Ser Gly Thr Tyr
 225 230 235 240
 Ala Thr Thr Gln Glu Glu Ser Arg Thr Leu Ala Trp Asp Gln Ser Gly
 245 250 255
 Thr Leu Gln Pro Gly Gln Trp Ile Ser Leu Gln Ala Thr Thr Arg Arg
 260 265 270
 Gly Thr Ile Thr Leu Pro Phe Gln Ala Thr Met Glu Ile Thr Leu Gln
 275 280 285
 Ser Gly Thr Ile Phe Gln Tyr Ala Ile Ser Ser Met Tyr Ser Gly Val
 290 295 300
 Asp Tyr Thr Ser Val Asp Ile Thr Asn Thr Gly Ser Arg Ala Leu Asp
 305 310 315 320
 Gln Val Glu Val Lys Thr Thr Glu Gln Gln Val Glu Gly Val Glu Asp
 325 330 335
 Gln Asn Val Gln Pro Asn Lys Glu Ala Lys Glu Cys Thr Leu Leu Phe
 340 345 350
 Ala Glu Gly Ala Ala Tyr Pro Tyr

<400> 91
atgcaatatg gcctggccaa tatggaagca agccccctga tcgagaagtt ccaatctcta 60
atggaagggtg gcatagatga gagcatcctt gcgactaagc ttgttggtgc tgaaggagat 120
gcttctcatt tgccaccacc tggagagacg cctagtgagg atggtgccgg caaggatcca 180
cccaatgaat cgctggagac tgaagatgta gaggagcatg ctgatgatag caaagcccgt 240
tctgctagtg tcatggcccc tctgcgcttc ataggcggcc ccggtgggtc gcaacgttcc 300
gtccgaggat ggaccaacgg cagggtcadc accaggatgc gtgtctacag ggccccgggg 360
actatcaaag cgtaccagat ctggctcaca gactctgctc cccagactca tgggtttcct 420
gggaacagcg acttcgccga gtacacgttc cgcaccggag agcgtcttac aagattaaca 480
ctgtggggaa acggaatggg cactcgtgct ggatggatcg agtttgagac gagcttgggt 540
ggaaggtttt catatggcat gagccattgg tcgctgagaa ctcttacc tgtcgacgtc 600
ggttctggca tccttgtggg ctacattttt aatgctggag aggacgtcga tgcacacggc 660
ttctggtttc tcaaccacat tgagcaggcc gagctacca atgtgaggta tccgactctt 720
ggatttgaca cggcaggtat tgtaccacag gccctggata cttccggtt cagaaacaac 780
tcatccacgc caagagactg ggacttcagc cggaacatga gcaggagcac tgagcggaca 840
tggtcgatca ccgtggatct tactgtccat gcgagcatca cggtgagtgc agggtttcca 900
ggcattgcaa acgtgagtgg tcagtatgga tgggagattg gggcgacggg gcatttcgaa 960
acaacagaga cgtccgagca cgacttgagc tggagcgtga gtgggagagt ccagcctggg 1020
gatgttgtcg atctcactgc gctcactcgg actggaacte ttaacattcc ttacgaaggt 1080
acgatggtgg tgaggatgag aaatggtgcc tccttcagct atgccgtgcg tggaacctac 1140
agaggcctta gctataccgg cacaaaaata aacgacaact caact 1185

<210> 92

<211> 395

<212> PRT

<213> *Selaginella victoriae*

<400> 92

Met Gln Tyr Gly Leu Ala Asn Met Glu Ala Ser Pro Leu Ile Glu Lys
1 5 10 15
Phe Gln Ser Leu Met Glu Gly Gly Ile Asp Glu Ser Ile Leu Ala Thr
 20 25 30
Lys Leu Val Gly Ala Glu Gly Asp Ala Ser His Leu Pro Pro Pro Gly
 35 40 45
Glu Thr Pro Ser Glu Asp Gly Ala Gly Lys Asp Pro Pro Asn Glu Ser
 50 55 60
Leu Glu Thr Glu Asp Val Glu Glu His Ala Asp Asp Ser Lys Ala Arg
65 70 75 80
Ser Ala Ser Val Met Ala Pro Leu Arg Phe Ile Gly Gly Pro Gly Gly
 85 90 95
Ser Gln Arg Ser Val Arg Gly Trp Thr Asn Gly Arg Val Ile Thr Arg

	100		105		110
Met Arg Val Tyr Arg Ala Arg Gly Thr Ile Lys Ala Tyr Gln Ile Trp					
	115		120		125
Leu Thr Asp Ser Ala Pro Gln Thr His Gly Val Pro Gly Asn Ser Asp					
	130		135		140
Phe Ala Glu Tyr Thr Phe Arg Thr Gly Glu Arg Leu Thr Arg Leu Thr					
145		150		155	160
Leu Trp Gly Asn Gly Met Gly Thr Arg Ala Gly Trp Ile Glu Phe Glu					
	165		170		175
Thr Ser Leu Gly Gly Arg Phe Ser Tyr Gly Met Ser His Trp Ser Leu					
	180		185		190
Arg Thr Pro Tyr Pro Val Asp Val Gly Ser Gly Ile Leu Val Gly Tyr					
	195		200		205
Ile Phe Asn Ala Gly Glu Asp Val Asp Ala His Gly Phe Trp Phe Leu					
	210		215		220
Asn His Ile Glu Gln Ala Glu Leu Thr Asn Val Arg Tyr Pro Thr Leu					
225		230		235	240
Gly Phe Asp Thr Ala Gly Ile Val Pro Thr Ala Leu Asp Thr Phe Arg					
	245		250		255
Phe Arg Asn Asn Ser Ser Thr Pro Arg Asp Trp Asp Phe Ser Arg Asn					
	260		265		270
Met Ser Arg Ser Thr Glu Arg Thr Trp Ser Ile Thr Val Asp Leu Thr					
	275		280		285
Val His Ala Ser Ile Thr Val Ser Ala Gly Phe Pro Gly Ile Ala Asn					
	290		295		300
Val Ser Gly Gln Tyr Gly Trp Glu Ile Gly Ala Thr Gly His Phe Glu					
305		310		315	320
Thr Thr Glu Thr Ser Glu His Asp Leu Ser Trp Ser Val Ser Gly Arg					
	325		330		335
Val Gln Pro Gly Asp Val Val Asp Leu Thr Ala Leu Thr Arg Thr Gly					
	340		345		350
Thr Leu Asn Ile Pro Tyr Glu Gly Thr Met Val Val Arg Met Arg Asn					
	355		360		365
Gly Ala Ser Phe Ser Tyr Ala Val Arg Gly Thr Tyr Arg Gly Leu Ser					
	370		375		380
Tyr Thr Gly Thr Lys Ile Asn Asp Asn Ser Thr					
385		390		395	
<210>	93				
<211>	1185				

<212> DNA	
<213> <i>Selaginella victoriae</i>	
<400> 93	
atgcaatatg gcctggccaa tatggaagca agccccctga tcgagaagtt ccaatctcta	60
atggaaggtg gcatagatga gagcatcctt gcgactaagc ttgttggtgc tgaaggagat	120
gcttctcatt tgccaccacc tggagagacg cctagtgagg atggtgccgg caaggatcca	180
cccaatgaat cgctggagac tgaagatgta gaggagcatg ctgatgatag caaagcccgt	240
tctgctagtg tcacggcccc tctgcgcttc ataggcggca ccggtgggtc gcaacgttcc	300
gtccgaggat ggaccaacgg cagggtcadc accaggatgc gtgtctacag ggccccgggg	360
actatcaaag cgtacaggat ctggctcaca gactctggtc ccgagactca tgggtttcct	420
gggaacagcg acttcgccga gtacacttcc cgcaccggag agcgtcttac aagattaaca	480
ctgtggggaa acggaatcgg cactcgtgct ggatggatcg agtttgagac cagcttgggt	540
ggaaggtttt catatggcat gagccattgg tcgctgagaa ctcttacc tgctgacgtc	600
ggttctggca tccttgtggg ttacattttt aatgctggag aggacgtcga tgcacacggc	660
ttctggttcc tcaaccacat tcagcaggcc gagctacca atgtgaggta tccgactctt	720
ggatttgaca cggcaggat tgtaccacag gccctggata cttccggtt cagaaacaac	780
tcatcaacgc caagagactg ggacttcagc cggaacatga gcaggagcac tgagcggaca	840
tggtcgatca ccgtggatct tactgtccat gcgagcatca ccgtgagtgc aggtttcca	900
ggcattgcaa acgtgagtgg tcagtatgga tgggagattg gggcgacggg gcatttcgaa	960
acaacagaga cgtccgagca cgacttgagc tggagcgtga gtgggagagt ccagcctggg	1020
gaatttgtcg atctcactgc gctcactcgg actggaacte ttaacattcc ttacgaaggt	1080
acgatggtgg tgaggatgag aaatggtgcc tccttcagct atgccgtgcg tggaaacctac	1140
agaggcctta gctataccgg cacaaaaata aacgacaact caact	1185
<210> 94	
<211> 395	
<212> PRT	
<213> <i>Selaginella victoriae</i>	
<400> 94	
Met Gln Tyr Gly Arg Ala Asn Met Glu Ala Ser Pro Leu Ile Glu Lys	
1 5 10 15	
Phe Gln Ser Leu Met Glu Gly Gly Ile Asp Glu Ser Ile Leu Ala Thr	
20 25 30	
Lys Leu Val Gly Ala Glu Gly Asp Ala Ser His Leu Pro Pro Pro Gly	
35 40 45	
Glu Thr Pro Ser Glu Asp Gly Ala Gly Lys Asp Pro Pro Asn Glu Ser	
50 55 60	
Leu Glu Thr Glu Asp Val Glu Glu His Ala Asp Asp Ser Lys Ala Arg	
65 70 75 80	
Ser Ala Ser Val Thr Ala Pro Leu Arg Phe Ile Gly Gly Thr Gly Gly	

	85	90	95
Ser Gln Arg	Ser Val Arg Gly Trp Thr Asn Gly Arg Val Ile Thr Arg		
	100	105	110
Met Arg Val Tyr Arg Ala Arg Gly Thr Ile Lys Ala Tyr Arg Ile Trp			
	115	120	125
Leu Thr Asp Ser Gly Pro Glu Thr His Gly Val Pro Gly Asn Ser Asp			
	130	135	140
Phe Ala Glu Tyr Thr Phe Arg Thr Gly Glu Arg Leu Thr Arg Leu Thr			
145	150	155	160
Leu Trp Gly Asn Gly Ile Gly Thr Arg Ala Gly Trp Ile Glu Phe Glu			
	165	170	175
Thr Ser Leu Gly Gly Arg Phe Ser Tyr Gly Met Ser His Trp Ser Leu			
	180	185	190
Arg Thr Pro Tyr Pro Val Asp Val Gly Ser Gly Ile Leu Val Gly Tyr			
	195	200	205
Ile Phe Asn Ala Gly Glu Asp Val Asp Ala His Gly Phe Trp Phe Leu			
	210	215	220
Asn His Ile Gln Gln Ala Glu Leu Thr Asn Val Arg Tyr Pro Thr Leu			
225	230	235	240
Gly Phe Asp Thr Ala Gly Ile Val Pro Thr Ala Leu Asp Thr Phe Arg			
	245	250	255
Phe Arg Asn Asn Ser Ser Thr Pro Arg Asp Trp Asp Phe Ser Arg Asn			
	260	265	270
Met Ser Arg Ser Thr Glu Arg Thr Trp Ser Ile Thr Val Asp Leu Thr			
	275	280	285
Val His Ala Ser Ile Thr Val Ser Ala Gly Phe Pro Gly Ile Ala Asn			
	290	295	300
Val Ser Gly Gln Tyr Gly Trp Glu Ile Gly Ala Thr Gly His Phe Glu			
305	310	315	320
Thr Thr Glu Thr Ser Glu His Asp Leu Ser Trp Ser Val Ser Gly Arg			
	325	330	335
Val Gln Pro Gly Glu Phe Val Asp Leu Thr Ala Leu Thr Arg Thr Gly			
	340	345	350
Thr Leu Asn Ile Pro Tyr Glu Gly Thr Met Val Val Arg Met Arg Asn			
	355	360	365
Gly Ala Ser Phe Ser Tyr Ala Val Arg Gly Thr Tyr Arg Gly Leu Ser			
	370	375	380
Tyr Thr Gly Thr Lys Ile Asn Asp Asn Ser Thr			
385	390	395	

<210>	95														
<211>	1185														
<212>	DNA														
<213>	<i>Selaginella victoriae</i>														
<400>	95														
atgcaatatg	gcctggccaa	tactgaagca agccccctga tcgagaagtt ccaagctcta 60													
atggaaggcg	gcatagatga	gagcatcctt gcgactaagc ttgttggtgc tgaaggagat 120													
gcatctcgtg	tgccaccacc	tggagagacg cctagtgagg atggtgccgg caaggatcca 180													
cccaatgaat	cgctggagac	tgaagatgta gaggagcatg ctgatgatag caaagcccgt 240													
tctgctagtg	tcaaggcccc	tctgcgcttc ataggcgcca ccggtgggtc gcaacgttcc 300													
gtccgaggat	ggaccaacgg	cagggtcadc accaggatgc gtgtctacag ggccccgggg 360													
actatcaaag	cgtacaggat	ctggctcaca gactctggtc ccgagactca tgggtttcct 420													
gggaacagcg	acttcgccga	gtacaacttc cgcaccggag agcgtcttac aagattaaca 480													
ctgtggggaa	acggaatcgg	cactcgtgct ggatggatcg agtttgagac cagcttggtt 540													
ggaaggtttt	catatggcat	gagccattgg tcgctgagaa ctctttacc tgtcgacgtc 600													
ggttctggca	tccttgtggg	ttacattttt aatgctggag aggacgtcga tgcacacggc 660													
ttctggtttc	tcaaccacat	tcagcaggcc gagctcacca atgtgaggta tccgactctt 720													
ggatttgaca	cggcaggtat	tgtaccacag gccctggata cttccggtt cagaaacaac 780													
tcatcaacgc	caagagactg	ggacttcagc cggaacatga gcaggagcac tgagcggaca 840													
tggtcgatca	ccgtggatct	tactgtccat gcgagcatca cggtgagtgc agggtttcca 900													
ggcattgcaa	acgtgagtgg	tcagtatgga tgggagattg gggcgacggg gcatttcgaa 960													
acaacagaga	cgtccgagca	cgacttgagc tggagcgtga gtgggagagt ccagcctggg 1020													
gaatttgtcg	atctcactgc	gctcactcgg actggaacte ttaacattcc ttacgaaggt 1080													
acgatggtgg	tgaggatgag	aaatggtgcc tccttcagct atgccgtgcg tggaaacctac 1140													
agaggcctta	gctataccgg	cacaaaaata aacgacaact caact 1185													
<210>	96														
<211>	395														
<212>	PRT														
<213>	<i>Selaginella victoriae</i>														
<400>	96														
Met	Gln	Tyr	Gly	Leu	Ala	Asn	Thr	Glu	Ala	Ser	Pro	Leu	Ile	Glu	Lys
1				5				10						15	
Phe	Gln	Ala	Leu	Met	Glu	Gly	Gly	Ile	Asp	Glu	Ser	Ile	Leu	Ala	Thr
			20					25					30		
Lys	Leu	Val	Gly	Ala	Glu	Gly	Asp	Ala	Ser	Arg	Val	Pro	Pro	Pro	Gly
			35				40					45			
Glu	Thr	Pro	Ser	Glu	Asp	Gly	Ala	Gly	Lys	Asp	Pro	Pro	Asn	Glu	Ser
	50					55				60					
Leu	Glu	Thr	Glu	Asp	Val	Glu	Glu	His	Ala	Asp	Asp	Ser	Lys	Ala	Arg

Tyr Thr Gly Thr Lys Ile Asn Asp Asn Ser Thr	
385	390 395
<210>	97
<211>	1188
<212>	DNA
<213>	<i>Selaginella victoriae</i>
<400>	97
atgcaatatg gcctggccaa tactgaagca agccccctga tcgagaagtt ccaagctcta	60
atggaaggcg gcatagatga gagcatcctt gcgactaagc ttgttggtgc tgaaggagat	120
gcttctcatt tgccaccacc tggagagacg cctagtgagg atggtgccgg caaggatcca	180
cccaatgaat cgctggagac tgaagatgta gaggagcatg ctgatgatag caaagcccgt	240
tctgctagta gtgtcacggc ccctctgctc ttcataggcg gcaccggtgg gtcgcaacgt	300
tccgtccgag gatggaccaa cggcagggtc atcaccagga tgcgtgtcta cagggcccgg	360
gggactatca aagcgtacag gatctggctc acagactctg gtcccagac tcatggtgtt	420
cctgggaaca gcgacttctc cgagtacact ttccgcaccg gagagcgtct tacaagatta	480
acactgtggg gaaacggaat cggcactcgt gctggatgga tcgagtttga gacgagcttg	540
ggtggaagg tttcatatgg catgagccat tggctcgtga gaactcctta ccctgtcgac	600
gtcggttctg gcatccttgt gggctacatt tttaatgctg gagaggaggt cgatgcacac	660
ggcttctggt ttctcaacca cattcagcag gccgagctca ccaatgtgag gtatccgact	720
cttggatttg acacggcagg tattgtacc acggccctgg ataccttccg gttcagaaac	780
aactcatcaa cgccaagaga ctgggacttc agccggaaca tgagcaggag cactgagcgg	840
acatggtcga tcaccgtgga tcttactgtc catgcgagca tcacggtgag tgcagggttt	900
ccaggcattg caaacgtgag tggtcagtat ggatgggaga ttggggcgac ggggcatttc	960
gaaacaacag agacgtccga gcacgacttg agctggagcg tgagtgggag agtccagcct	1020
ggagatgttg tcgatctcac tgcgctcact cggactggaa ctcttaacat tccttacgaa	1080
ggtacgatgg tggtaggat gagaaatggt gcctccttca gctatgccgt gcgtggaacc	1140
tacagaggcc ttagctatac cggcacaaaa ataaacgaca actcaact	1188
<210>	98
<211>	396
<212>	PRT
<213>	<i>Selaginella victoriae</i>
<400>	98
Met Gln Tyr Gly Leu Ala Asn Thr Glu Ala Ser Pro Leu Ile Glu Lys	
1	5 10 15
Phe Gln Ala Leu Met Glu Gly Gly Ile Asp Glu Ser Ile Leu Ala Thr	
	20 25 30
Lys Leu Val Gly Ala Glu Gly Asp Ala Ser His Leu Pro Pro Pro Gly	
	35 40 45
Glu Thr Pro Ser Glu Asp Gly Ala Gly Lys Asp Pro Pro Asn Glu Ser	

50	55	60
Leu Glu Thr Glu Asp Val	Glu Glu His Ala Asp	Asp Ser Lys Ala Arg
65	70	75
Ser Ala Ser Ser Val Thr	Ala Pro Leu Arg Phe	Ile Gly Gly Thr Gly
85	90	95
Gly Ser Gln Arg Ser Val	Arg Gly Trp Thr Asn	Gly Arg Val Ile Thr
100	105	110
Arg Met Arg Val Tyr Arg	Ala Arg Gly Thr Ile	Lys Ala Tyr Arg Ile
115	120	125
Trp Leu Thr Asp Ser Gly	Pro Glu Thr His Gly	Val Pro Gly Asn Ser
130	135	140
Asp Phe Ala Glu Tyr Thr	Phe Arg Thr Gly Glu	Arg Leu Thr Arg Leu
145	150	155
Thr Leu Trp Gly Asn Gly	Ile Gly Thr Arg Ala	Gly Trp Ile Glu Phe
165	170	175
Glu Thr Ser Leu Gly Gly	Arg Phe Ser Tyr Gly	Met Ser His Trp Ser
180	185	190
Leu Arg Thr Pro Tyr Pro	Val Asp Val Gly Ser	Gly Ile Leu Val Gly
195	200	205
Tyr Ile Phe Asn Ala Gly	Glu Glu Val Asp Ala	His Gly Phe Trp Phe
210	215	220
Leu Asn His Ile Gln Gln	Ala Glu Leu Thr Asn	Val Arg Tyr Pro Thr
225	230	235
Leu Gly Phe Asp Thr Ala	Gly Ile Val Pro Thr	Ala Leu Asp Thr Phe
245	250	255
Arg Phe Arg Asn Asn Ser	Ser Thr Pro Arg Asp	Trp Asp Phe Ser Arg
260	265	270
Asn Met Ser Arg Ser Thr	Glu Arg Thr Trp Ser	Ile Thr Val Asp Leu
275	280	285
Thr Val His Ala Ser Ile	Thr Val Ser Ala Gly	Phe Pro Gly Ile Ala
290	295	300
Asn Val Ser Gly Gln Tyr	Gly Trp Glu Ile Gly	Ala Thr Gly His Phe
305	310	315
Glu Thr Thr Glu Thr Ser	Glu His Asp Leu Ser	Trp Ser Val Ser Gly
325	330	335
Arg Val Gln Pro Gly Asp	Val Val Asp Leu Thr	Ala Leu Thr Arg Thr
340	345	350
Gly Thr Leu Asn Ile Pro	Tyr Glu Gly Thr Met	Val Val Arg Met Arg
355	360	365

Asn Gly Ala Ser Phe Ser Tyr Ala Val Arg Gly Thr Tyr Arg Gly Leu	
370	380
Ser Tyr Thr Gly Thr Lys Ile Asn Asp Asn Ser Thr	
385	395
<210> 99	
<211> 1185	
<212> DNA	
<213> <i>Selaginella victoriae</i>	
<400> 99	
atgcaatatg gcctggccaa tactgaagca agccccctga tcgagaagtt ccaagctcta	60
atggaaggcg gcatagatga gagcatcctt gcgactaagc ttgttggtgc tgaaggagat	120
gcatctcgtg tgccaccacc tggagagacg cctggtgagg atggtgccgg caaggatcca	180
cccaatgaat cgctggagac tgaagatgta gaggagcatg ctgatgatag caaagcccgt	240
tctgctagtg tcacggcccc tctgcgcttc ataggcggcc ccggtgggtc gcaacgttcc	300
gtccgaggat ggaccaacgg cagggtcadc accaggatgc gtgtctacag ggccccgggg	360
actatcaaag cgtaccagat ctggctcaca gactctggtc ccgagactca tgggtttcct	420
gggaacacgc acttcgccga gtacactttc cgcaccggag agcgtcttac aagattaaca	480
ctgtggggaa acggaatcgg cactcgtgct ggatggatcg agtttgagac gagcttggtt	540
ggaaggtttt catatggcat gagccattgg tcgctgagaa ctccttacc tgcgcacggt	600
ggttctggca tccttgtggg ctacattttc aatgctggag aggacgtcga tgcacacggc	660
ttctggtttc tcaaccacat tgagcaggcc gagtcacca atgtgaggta tccgactctt	720
ggatttgaca cggcaggtat tgtaccacg gccctggata cttccggtt cagaacaac	780
tcgtcaacgc caagagactg ggacttcagc cggaacatga gcaggagcac tgagcggaca	840
tggtcgatca ccgtggatct tactgtccat gcgagcatca cggtgagtgc agggtttcca	900
ggcattgcaa acgtgagtgg tcagtatgga tgggagattg gggcgacggg gcatttcgaa	960
acaacagaga cgtccgagca cgacttgagc tggagcgtga gtgggatagt ccagcctggg	1020
gatgttgtcg atctcactgc gctcactcgg actggaacte ttaacattcc ttacgaaggt	1080
acgatggtgg tgaggatgag aaatggtgcc tccttcagct atgccgtgcg tggaacctac	1140
agaggcctta gctataccgg cacaaaaata aacgacaact caact	1185
<210> 100	
<211> 395	
<212> PRT	
<213> <i>Selaginella victoriae</i>	
<400> 100	
Met Gln Tyr Gly Leu Ala Asn Thr Glu Ala Ser Pro Leu Ile Glu Lys	
1 5 10 15	
Phe Gln Ala Leu Met Glu Gly Gly Ile Asp Glu Ser Ile Leu Ala Thr	
20 25 30	
Lys Leu Val Gly Ala Glu Gly Asp Ala Ser Arg Val Pro Pro Pro Gly	

Thr Leu Asn Ile Pro Tyr Glu Gly Thr Met Val Val Arg Met Arg Asn	
355	360 365
Gly Ala Ser Phe Ser Tyr Ala Val Arg Gly Thr Tyr Arg Gly Leu Ser	
370	375 380
Tyr Thr Gly Thr Lys Ile Asn Asp Asn Ser Thr	
385	390 395
<210>	101
<211>	1185
<212>	DNA
<213>	卷柏属
<400>	101
atgcaatatg gcctggccaa tactgaagca agccccctga tcgagaagtt ccaagctcta	60
atggaaggcg gcatagatga gagcatcett gcgactaagc ttgttggtgc tgaaggagat	120
gcatctcgtg tgccaccacc tggagagacg cctggtgagg atggtgccgg caaggatcca	180
cccaatgaat cgctggagac tgaagatgta gaggagcatg ctgatgatag caaagcccgt	240
tctgctagtg tcacggcccc tctgcgcttc ataggcggcc ccggtgggtc gcaacgttcc	300
gtccgaggat ggaccaacgg cagggtcatc accaggatgc gtgtctacag ggcccggggg	360
actatcaaag cgtaccagat ctggctcaca gactctggtc ccgagactca tgggtttcct	420
gggaacacgc acttcgccga gtacactttc cgcaccggag agcgtcttac aagattaaca	480
ctgtggggaa acggaatcgg cactcgtgct ggatggatcg agtttgagac gagcttggtt	540
ggaaggtttt catatggcat gagccattgg tcgctgagaa cttcttacc tgtcgacgtt	600
ggttctggca tccttgtggg ctacattttc aatgctggag aggacgtcga tgcacacggc	660
ttctggtttc tcaaccacat tgagcaggcc gagtcacca atgtgaggta tccgactctt	720
ggatttgaca cggcaggat tgtaccacg gccctggata cttccggtt cagaaacaac	780
tcgtcaacgc caagagactg ggacttcagc cggaacatga gcaggagcac tgagcggaca	840
tggtcgatca ccgtggatct tactgtccat gcgagcatca cggtgagtgc agggtttcca	900
ggcattgcaa acgtgagtgg tcagtatgga tgggagattg gggcgacggg gcatttcgaa	960
acaacagaga cgtccgagca cgacttgagc tggagcgtga gtgggatagt ccagcctggg	1020
gatgttgtcg atctcactgc gctcactcgg actggaacte ttaacattcc ttacgaaggt	1080
acgatggtgg tgaggatgag aaatggtgcc tcttcagct atgccgtgcg tggaacctac	1140
agaggcctta gctataccgg cacaaaaata aacgacaact caact	1185
<210>	102
<211>	395
<212>	PRT
<213>	<i>Selaginella victoriae</i>
<400>	102
Met Gln Tyr Gly Leu Ala Asn Thr Glu Ala Ser Pro Leu Ile Glu Lys	
1	5 10 15
Phe Gln Ala Leu Met Glu Gly Gly Ile Asp Glu Ser Ile Leu Ala Thr	

Val Gln Pro Gly Asp Val Val Asp Leu Thr Ala Leu Thr Arg Thr Gly
 340 345 350
 Thr Leu Asn Ile Pro Tyr Glu Gly Thr Met Val Val Arg Met Arg Asn
 355 360 365
 Gly Ala Ser Phe Ser Tyr Ala Val Arg Gly Thr Tyr Arg Gly Leu Ser
 370 375 380
 Tyr Thr Gly Thr Lys Ile Asn Asp Asn Ser Thr
 385 390 395

<210> 103

<211> 1185

<212> DNA

<213> *Selaginella victoriae*

<400> 103

atgcaatatg gcctggccaa tatggaagca agccccctga tcgagaagtt ccaatctcta 60
 atggaaggtg gcatagatga gagcatcctt gcgactaagc ttgttggtgc tgaaggagat 120
 gcttctcatt tgccaccacc tggagagacg cctagtgagg atggtgccgg caaggatcca 180
 cccaatgaat cgctggagac tgaagatgta gaggagcatg ctgatgatag caaagcccgt 240
 tctgctagtg tcacggcccc tctgcgcttc ataggcggcc ccggtgggtc gcaacgttcc 300
 gtccgaggat ggaccaacgg cagggtcatc accaggatgc gtgtctacag ggccccgggg 360
 actatcaaag cgtaccagat ctggctcaca gactctgctc cccagactca tgggtttcct 420
 gggaacacgc acttcgccga gtacagttc cgcaccggag agcgtcttac aagattaaca 480
 ctgtggggaa acggaatggg cactcgtgct ggatggatcg agtttgagac gagcttggt 540
 ggaaggtttt catatggcat gagccattgg tcgctgagaa ctccttacc tgcacacggc 600
 ggttctggca tccttgtggg ctacatcttt aatgctggag aggacgtcga tgcacacggc 660
 ttctggtttc tcaaccacat tgagcaggcc gagctacca atgtgaggta tccgactctt 720
 ggatttgaca cggcaggtat tgtaccacg gcctggata cttccggtt cagaaacaac 780
 tcatccacgc caagagactg ggacttcagc cggaacatga gcaggagcac tgagcggaca 840
 tggtcgatca ccgtggatct tactgtccat gcgatcatca cggtgagtgc agggtttcca 900
 ggacattgcaa acgtgagtgg tcagtatgga tgggagattg gggcgacggg gcatttcgaa 960
 acaacagaga cgcccgagca cgacttgagc tggagcgtga gtgggagagt ccagcctggg 1020
 gatgttgtcg atctcactgc gctcactcgg actggaacte ttaacattcc ttacgaaggt 1080
 acgatggtgg tgaggatgag aaatggtgcc tecttcagct atgccgtgcg tggaacctac 1140
 agaggcctta gctataccgg cacaaaaata aacgacaact caact 1185

<210> 104

<211> 395

<212> PRT

<213> *Selaginella victoriae*

<400> 104

Met Gln Tyr Gly Leu Ala Asn Met Glu Ala Ser Pro Leu Ile Glu Lys

1	5	10	15
Phe Gln Ser Leu Met Glu Gly Gly Ile Asp Glu Ser Ile Leu Ala Thr			
	20	25	30
Lys Leu Val Gly Ala Glu Gly Asp Ala Ser His Leu Pro Pro Pro Gly			
	35	40	45
Glu Thr Pro Ser Glu Asp Gly Ala Gly Lys Asp Pro Pro Asn Glu Ser			
	50	55	60
Leu Glu Thr Glu Asp Val Glu Glu His Ala Asp Asp Ser Lys Ala Arg			
65	70	75	80
Ser Ala Ser Val Thr Ala Pro Leu Arg Phe Ile Gly Gly Pro Gly Gly			
	85	90	95
Ser Gln Arg Ser Val Arg Gly Trp Thr Asn Gly Arg Val Ile Thr Arg			
	100	105	110
Met Arg Val Tyr Arg Ala Arg Gly Thr Ile Lys Ala Tyr Gln Ile Trp			
	115	120	125
Leu Thr Asp Ser Ala Pro Gln Thr His Gly Val Pro Gly Asn Ser Asp			
	130	135	140
Phe Ala Glu Tyr Thr Phe Arg Thr Gly Glu Arg Leu Thr Arg Leu Thr			
145	150	155	160
Leu Trp Gly Asn Gly Met Gly Thr Arg Ala Gly Trp Ile Glu Phe Glu			
	165	170	175
Thr Ser Leu Gly Gly Arg Phe Ser Tyr Gly Met Ser His Trp Ser Leu			
	180	185	190
Arg Thr Pro Tyr Pro Val Asp Val Gly Ser Gly Ile Leu Val Gly Tyr			
	195	200	205
Ile Phe Asn Ala Gly Glu Asp Val Asp Ala His Gly Phe Trp Phe Leu			
	210	215	220
Asn His Ile Glu Gln Ala Glu Leu Thr Asn Val Arg Tyr Pro Thr Leu			
225	230	235	240
Gly Phe Asp Thr Ala Gly Ile Val Pro Thr Ala Leu Asp Thr Phe Arg			
	245	250	255
Phe Arg Asn Asn Ser Ser Thr Pro Arg Asp Trp Asp Phe Ser Arg Asn			
	260	265	270
Met Ser Arg Ser Thr Glu Arg Thr Trp Ser Ile Thr Val Asp Leu Thr			
	275	280	285
Val His Ala Ile Ile Thr Val Ser Ala Gly Phe Pro Gly Ile Ala Asn			
	290	295	300
Val Ser Gly Gln Tyr Gly Trp Glu Ile Gly Ala Thr Gly His Phe Glu			
305	310	315	320

<400> 106
 Met Gln Tyr Gly Leu Ala Asn Met Glu Ala Ser Pro Leu Ile Glu Lys
 1 5 10 15
 Phe Gln Ser Leu Met Glu Gly Gly Ile Asp Glu Ser Ile Leu Ala Thr
 20 25 30
 Lys Leu Val Gly Ala Glu Gly Asp Ala Ser His Leu Pro Pro Pro Gly
 35 40 45
 Glu Thr Pro Ser Glu Asp Gly Ala Gly Lys Asp Pro Pro Asn Glu Ser
 50 55 60
 Leu Glu Thr Glu Asp Val Glu Glu His Ala Asp Asp Ser Lys Ala Arg
 65 70 75 80
 Ser Ala Ser Val Thr Ala Pro Leu Arg Phe Ile Gly Gly Pro Gly Gly
 85 90 95
 Ser Gln Arg Ser Val Arg Gly Trp Thr Asn Gly Arg Val Ile Thr Arg
 100 105 110
 Met Arg Val Tyr Arg Ala Arg Gly Thr Ile Lys Ala Tyr Gln Ile Trp
 115 120 125
 Leu Thr Asp Ser Gly Pro Glu Thr His Gly Val Pro Gly Asn Ser Asp
 130 135 140
 Phe Ala Glu Tyr Thr Phe Arg Thr Gly Glu Arg Leu Thr Arg Leu Thr
 145 150 155 160
 Leu Trp Gly Asn Gly Ile Gly Thr Arg Ala Gly Trp Ile Glu Phe Glu
 165 170 175
 Thr Ser Leu Gly Gly Arg Phe Ser Tyr Gly Met Ser His Trp Ser Leu
 180 185 190
 Arg Thr Pro Tyr Pro Val Asp Val Gly Ser Gly Ile Leu Val Gly Tyr
 195 200 205
 Ile Phe Asn Ala Gly Glu Asp Val Asp Ala His Gly Phe Trp Phe Leu
 210 215 220
 Asn His Ile Glu Gln Ala Glu Leu Thr Asn Val Arg Tyr Pro Thr Phe
 225 230 235 240
 Gly Phe Asp Thr Ala Gly Ile Val Pro Thr Ala Leu Asp Thr Phe Arg
 245 250 255
 Phe Arg Asn Asn Ser Ser Thr Pro Arg Asp Trp Asp Phe Ser Arg Asn
 260 265 270
 Met Ser Arg Ser Thr Glu Arg Thr Trp Ser Ile Thr Val Asp Leu Thr
 275 280 285
 Val His Ala Ser Ile Thr Val Ser Ala Gly Phe Pro Gly Ile Ala Asn
 290 295 300

Thr Val His Ala Ser Ile Thr Val Ser Ala Gly Phe Pro Gly Ile Ala
 290 295 300
 Asn Val Ser Gly Gln Tyr Gly Trp Glu Ile Gly Ala Thr Gly His Phe
 305 310 315 320
 Glu Thr Thr Glu Thr Ser Glu His Asp Leu Ser Trp Ser Val Ser Gly
 325 330 335
 Arg Val Gln Pro Gly Asp Val Val Asp Leu Thr Ala Leu Thr Arg Thr
 340 345 350
 Gly Thr Leu Asn Ile Pro Tyr Glu Gly Thr Met Val Val Arg Met Arg
 355 360 365
 Asn Gly Ala Ser Phe Ser Tyr Ala Val Arg Gly Thr Tyr Arg Gly Leu
 370 375 380
 Ser Tyr Thr Asp Thr Lys Ile Asn Asp Asn Ser Thr
 385 390 395

<210> 109

<211> 1065

<212> DNA

<213> 二叉鹿角蕨

<400> 109

atgtcgctgg ttcagacacc cgtctatgtc atcggagggc aaggaggcaa tgcgtttact 60
 tacgatcaga gcagaaacgg gaggatcctg cggaggattg ggggtgtgggc gggcgagtgg 120
 caactgcgcg gaatccgct gtggatgacg ggcaccgaca ccccgccac tttcggcacg 180
 gccacgggct cttacagtga atatacctt gcggatggcg agcgcacac ccgcttgtcc 240
 ttgtggggca acggggctgg tacacgttca ggaggcatca gattctacac cacaacagga 300
 ggttctttct tccataaaat gacatcttgg ggcttaciaa ccgagtatcc aatcgacgtg 360
 gcatctggtc tttgtgtggg gatcatggga cgagctaatg ttgatgtgga ttattgggt 420
 gttttgttct taaggacat agcatctgct cgtatgatca atgtaagcta ccctaccttg 480
 ggcttagagc aagccggaat catccctgtt acacttgatt cttcaatga ctccaacaat 540
 gcaggtacta tttccaaaaa ttggactttc tcgggtagcc gaaccgtgac aatatcatca 600
 tcatggctgc tcacttcagg gatagagaca catgcaagtg tgagcgtgca agcagggatc 660
 cccatggttg cagaagtgag tggagagttt ggatggctctg ttagtgtatc tgggacctat 720
 gcaaccactc aagaggaaag tcgaacceta acttgaacc aatctggaac cctagagcct 780
 gggcaatgga tctcactcca agctaccact cgaagaggaa ccatcacatt accctttcaa 840
 gcaaccatgg aaatcacttt getgtctgga acgatcttc aatatgcat ctctctatg 900
 tactccggtg tggattatac tagtgtggat ataactaaca ctggaactag agcatcagat 960
 catgttgagg tcgaagctac tgagcaacaa gtccaagggg tcaaagatca aagtgtacaa 1020
 cctaataaag aagctaaaga gtgcacactc ctctttgctg aataa 1065

	1	50
PtIP-96Aa	(1)	-----
PtIP-96Ab	(1)	-----
PtIP-96Ac	(1)	-----
PtIP-96Ad	(1)	-----
PtIP-96Ae	(1)	-----
PtIP-96Af	(1)	-----
PtIP-96Ag	(1)	-----
PtIP-96Ah	(1)	-----
PtIP-96Ca	(1)	-----
PtIP-96Cb	(1)	-----
PtIP-96Cc	(1)	-----
PtIP-96Cd	(1)	-----
PtIP-96Ce	(1)	-----
PtIP-96Cf	(1)	-----
PtIP-96Cg	(1)	-----
PtIP-96Ch	(1)	-----
PtIP-96Da	(1)	-----
PtIP-96Db	(1)	-----
PtIP-96Dc	(1)	-----
PtIP-96Dd	(1)	-----
PtIP-96De	(1)	-----
PtIP-96Df	(1)	-----
PtIP-96Ea	(1)	-----
PtIP-96Eb	(1)	-----
PtIP-96Ec	(1)	-----
PtIP-96Ed	(1)	-----
PtIP-96Ee	(1)	-----
PtIP-96Ef	(1)	-----
PtIP-96Eg	(1)	-----
PtIP-96Eh	(1)	-----
PtIP-96Ei	(1)	-----
PtIP-96Ej	(1)	-----
PtIP-96Ek	(1)	-----
PtIP-96El	(1)	-----
PtIP-96Em	(1)	-----
PtIP-96En	(1)	-----
PtIP-96Eo	(1)	-----
PtIP-96Ep	(1)	-----
PtIP-96Eq	(1)	-----
PtIP-96Er	(1)	-----
PtIP-96Es	(1)	-----
PtIP-96Et	(1)	-----
PtIP-96Eu	(1)	-----
PtIP-96Ev	(1)	-----
PtIP-96Ha	(1)	MQYGLANTEASPLIEKFQALMEGGIDESILATKLVGAEGDASHLPPPGET
PtIP-96Hd	(1)	MQYGLANTEASPLIEKFQALMEGGIDESILATKLVGAEGDASRVPPPGET
PtIP-96He	(1)	MQYGLANTEASPLIEKFQALMEGGIDESILATKLVGAEGDASHLPPPGET
PtIP-96Hf	(1)	MQYGLANTEASPLIEKFQALMEGGIDESILATKLVGAEGDASRVPPPGET
PtIP-96Hg	(1)	MQYGLANTEASPLIEKFQALMEGGIDESILATKLVGAEGDASRVPPPGET
PtIP-96Hh	(1)	MQYGLANMEASPLIEKFQSLMEGGIDESILATKLVGAEGDASHLPPPGET
PtIP-96Hi	(1)	MQYGLANMEASPLIEKFQSLMEGGIDESILATKLVGAEGDASHLPPPGET
PtIP-96Hj	(1)	MQYGLANTEASPLIEKFQALMEGGIDESILATKLVGAEGDASHLPPPGET

图1A

	51	100
PtIP-96Aa	(1)	-----MSIHQTPVTLIGGRGGAAF
PtIP-96Ab	(1)	-----MSIHQTPVTLIGGRGGAAF
PtIP-96Ac	(1)	-----MSIHQTPVTLIGGRGGAAF
PtIP-96Ad	(1)	-----MSIHQTPVTLIGGRGGAAF
PtIP-96Ae	(1)	-----MSIHQTPVTLIGGRGGAAF
PtIP-96Af	(1)	-----MSIHQTPVTLIGGRGGAAF
PtIP-96Ag	(1)	-----MSIHQTPVTLIGGRGGAAF
PtIP-96Ah	(1)	-----MSIYQTPVTLIGGRGGAAF
PtIP-96Ca	(1)	-----MSTAIHQTPVHVIGGQGGSEF
PtIP-96Cb	(1)	-----MSTAIHQTPVHVIGGQGGSEF
PtIP-96Cc	(1)	-----MSIHQTPVHVIGGQGGSEF
PtIP-96Cd	(1)	-----MSTAIHQTPVHVIGGQGGSEF
PtIP-96Ce	(1)	-----MSIYQTPVHVIGGQGGSEF
PtIP-96Cf	(1)	-----MSIYQTPVHVIGGQGGSEF
PtIP-96Cg	(1)	-----MSIYQTPVHVIGGQGGSEF
PtIP-96Ch	(1)	-----MSTAIHQTPVHVIGGQGGSEF
PtIP-96Da	(1)	-----MSIVQSPIHVIGGSGGSAF
PtIP-96Db	(1)	-----MSIFQTPVHVIGGQGGGAF
PtIP-96Dc	(1)	-----MSIFQTPVHVIGGQGGGAF
PtIP-96Dd	(1)	-----MSIFQTPVHVIGGQGGGAF
PtIP-96De	(1)	-----MSIYQTPVSLIGGQGGTAF
PtIP-96Df	(1)	-----MSTAIHQTPVSLIGGQGGTAF
PtIP-96Ea	(1)	-----MALYQTPVYVIGGQGGNSF
PtIP-96Eb	(1)	-----MALYQTPVYVIGGQGGNSF
PtIP-96Ec	(1)	-----MSLVQTPVYVIGGQGGNAF
PtIP-96Ed	(1)	-----MSLVQTPVTLIGGQGGNSF
PtIP-96Ee	(1)	-----MSLVQTPVYVIGGQGGNAF
PtIP-96Ef	(1)	-----MSLVQTPVYVIGGQGGNAF
PtIP-96Eg	(1)	-----MSLVQTPVYVIGGQGGNAF
PtIP-96Eh	(1)	-----MSLVQTPVYVIGGQGGNAF
PtIP-96Ei	(1)	-----MSLVQTPVYVIGGQGGNAF
PtIP-96Ej	(1)	-----MSLVQTPVYVIGGQGGNAF
PtIP-96Ek	(1)	-----MSLVQTPVYVIGGQGGNAF
PtIP-96El	(1)	-----MSLVQTPVYVIGGQGGNAF
PtIP-96Em	(1)	-----MSLVQTPVYVIGGQGGNAF
PtIP-96En	(1)	-----MSLVQTPVYVIGGQGGNAF
PtIP-96Eo	(1)	-----MSIYQTPVSVIGGTGGSAF
PtIP-96Ep	(1)	-----MSIYQTPVSVIGGTGGSAF
PtIP-96Eq	(1)	-----MSIYQTPISVIGGTGGSAF
PtIP-96Er	(1)	-----MALYQTPVSIIGGQGGTSF
PtIP-96Es	(1)	-----MALYQTPVSIIGGQGGTSF
PtIP-96Et	(1)	-----MALYQTPVYVIGGQGGNSF
PtIP-96Eu	(1)	-----MALYQTPVYVIGGQGGNAF
PtIP-96Ev	(1)	-----MALYQTPVYVIGGQGGNSF
PtIP-96Ha	(51)	PSEDGAGKDPNESLETEDVEEHADDSKARSAS-VTAPLRFIGGPGGSQR
PtIP-96Hd	(51)	PSEDGAGKDPNESLETEDVEEHADDSKARSAS-VTAPLRFIGGPGGSQR
PtIP-96He	(51)	PSEDGAGKDPNESLETEDVEEHADDSKARSASSVTAPLRFIGGPGGSQR
PtIP-96Hf	(51)	PGEDGAGKDPNESLETEDVEEHADDSKARSAS-VTAPLRFIGGPGGSQR
PtIP-96Hg	(51)	PGEDGAGKDPNESLETEDVEEHADDSKARSAS-VTAPLRFIGGPGGSQR
PtIP-96Hh	(51)	PSEDGAGKDPNESLETEDVEEHADDSKARSAS-VTAPLRFIGGPGGSQR
PtIP-96Hi	(51)	PSEDGAGKDPNESLETEDVEEHADDSKARSAS-VTAPLRFIGGPGGSQR
PtIP-96Hj	(51)	PSEDGAGKDPNESLETEDVEEHADDSKARSASSVTAPLRFIGGPGGSQR

图1B

	101	150
PtIP-96Aa	(20)	TYNAGASCRILRRIGVWAGGSQLRGIRVWWTGLDSPITYGTPNVGSYQEF
PtIP-96Ab	(20)	TYNAGASCRILRRIGVWAGGSQLRGIRVWWTGLDSPITYGTPNVGSYQEF
PtIP-96Ac	(20)	TYNAGASCRILRRIGVWAGGSQLRGIRVWWTGLDSPITYGTPNVGSYQEF
PtIP-96Ad	(20)	TYNAGASCRILRRIGVWAGGSQLRGIRVWWTGLDSPITYGTPNVGSYQEF
PtIP-96Ae	(20)	TYNAGASCRILRRIGVWAGGSQLRGIRVWWTGLDSPITYGTPNVGSYQEF
PtIP-96Af	(20)	TYNAGASCRILRRIGVWAGGSQLRGIRVWWTGLDSPITYGTPNVGSYQEF
PtIP-96Ag	(20)	TYNAGASCRILRRIGVWAGGSQLRGIRVWWTGLDSPITYGTPNVGSYQEF
PtIP-96Ah	(20)	TYNAGASCRILRRIGVWAGGSQLRGIRVWWTGLDSPITYGTPNVGSYQEF
PtIP-96Ca	(22)	FYNAGASCRILRRIGVWAGRSFLGGIRS WWTGLDSPITYGTPNSGSYREF
PtIP-96Cb	(22)	FYNAGASCRILSRIGVWAGRSFLGGIRS WWTGLDSPITYGTPNSGSYREF
PtIP-96Cc	(20)	FYNAGASCRILRRIGVWAGRSFLGGIRS WWTGLDSPITYGTPNSGSYREF
PtIP-96Cd	(22)	FYNAGASCRILRRIGVWAGRSFLGGIRS WWTGLDSPITYGTPNSGSYREF
PtIP-96Ce	(20)	FYNAGASCRILRRIGVWAGRSFLGGIRS WWTGLDSPITYGTPNSGSYREF
PtIP-96Cf	(20)	FYNAGASCRILRRIGVWAGRSFLGGIRS WWTGLDSPITYGTPNSGSYREF
PtIP-96Cg	(20)	FYNAGASCRILRRIGVWAGRSFLGGIRS WWTGLDSPITYGTPNSGSYREF
PtIP-96Ch	(22)	FYNAGASCRILRRIGVWAGRSFLGGIRS WWTGLDSPITYGTPNSGSYREF
PtIP-96Da	(20)	SYNAGTNGRILRRIGVWAGGWFLGGIRLWWTGLDNPVLFGTANVGSYKEF
PtIP-96Db	(20)	SYNAGASCRVLRIGVWAGGWYLG GIRLWWTGLDSDITYGTANVGSYREF
PtIP-96Dc	(20)	SYNAGASCRVLRIGVWAGGWYLG GIRLWWTGLDSDITYGTANVGSYREF
PtIP-96Dd	(20)	SYNAGASCRVLRIGVWAGGWYLG GIRLWWTGLDSDITYGTANVGSYREF
PtIP-96De	(20)	TYNAGESCRVLRIGVWAVDSALRGIRVWWTGLDSPITYGTANSGFYKEF
PtIP-96Df	(22)	TYNAGESCRVLRIGVWAVDSALRGIRVWWTGLDSPITYGTANSGFYKEF
PtIP-96Ea	(20)	TYDQSRNCKVLTKIGVWAGEWQLRGIRVMSGSDSPITFGTA-SGSYSEY
PtIP-96Eb	(20)	TYDQSRNCKVLTKIGVWAGEWQLRGIRVMSGSDSPITFGTA-SGSYSEY
PtIP-96Ec	(20)	TYDQSRNCRILRRIGVWAGEWQLRGIRVMTGTDTPATFGTA-TGSYSEY
PtIP-96Ed	(20)	SYEQSRNCKILRKIGVWAGEWQLRGIRVMSGSDSPTYGTANVGSYKEY
PtIP-96Ee	(20)	TYDQSRNCRILRRIGVWAGEWQLRGIRVMTGTDTPATFGTA-TGSYSEY
PtIP-96Ef	(20)	SYDQSRNCRILRRIGVWAGEWQLRGIRVMTGTDTPATFGTA-TGSYSEY
PtIP-96Eg	(20)	SYDQSRNCRILRRIGVWAGEWQLRGIRVMTGTDTPATFGTA-TGSYSEY
PtIP-96Eh	(20)	TYDQSRNCRILRRIGVWAGEWQLRGIRVMTGTDTPATFGTA-TGSYSEY
PtIP-96Ei	(20)	TYDQSRNCRILRRIGVWAGEWQLRGIRVMTGTDTPATFGTA-TGSYSEY
PtIP-96Ej	(20)	TYDQSRNCRILRRIGVWAGEWQLRGIRVMTGTDTPATFGTA-TGSYSEY
PtIP-96Ek	(20)	SYDQSRNCRILRRIGVWAGEWQLRGIRVMTGTDTPATFGTA-TGSYSEY
PtIP-96El	(20)	SYDQSRNCRILRRIGVWAGEWQLRGIRVMTGTDTPATFGTA-TGSYSEY
PtIP-96Em	(20)	SYDQSRNCRILRRIGVWAGEWQLRGIRVMTGTDTPATFGTA-TGSYSEY
PtIP-96En	(20)	TYDQSRNCRILRRIGVWAGEWQLRGIRVMTGTDTPATFGTA-TGSYSEY
PtIP-96Eo	(20)	SYNAGASCRILRKIGVWAGGWYLG GIRVWWTGLDTPSTFGTANVGSYKEY
PtIP-96Ep	(20)	SYNAGASCRILRKIGVWAGGWYLG GIRVWWTGLDTPSTFGTANVGSYKEY
PtIP-96Eq	(20)	SYNAGASCRILRKIGVWAGGWYLG GIRVWWTGLDTPSTFGTANVGSYKEY
PtIP-96Er	(20)	TYDQSPNCKIMRKIGVWAGEWQLRGIRVMSGSDPTFGTA-SGSYNEY
PtIP-96Es	(20)	TYDQSPNCKIMRKIGVWAGEWQLRGIRVMSGSDPTFGTA-SGSYNEY
PtIP-96Et	(20)	TYDQSRNCKVLRKIGVWAGEWQLRGIRVMSGSDPATFGTA-SGSYNEY
PtIP-96Eu	(20)	TYDQSRNCRILRRIGVWAGEWQLRGIRVMTGTDTPATFGTA-TGSYSEY
PtIP-96Ev	(20)	TYDQSRNCKVLRKIGVWAGEWQLRGIRVMSGSDPATFGTA-SGSYNEY
PtIP-96Ha	(100)	SVRGWTNCRVITRMRVYRARGTIKAYQIWLTD SA-PQTHGVPGNSDFAEY
PtIP-96Hd	(100)	SVRGWTNCRVITRMRVYRARGTIKAYRIWLTD SG-PETHGVPGNSDFAEY
PtIP-96He	(101)	SVRGWTNCRVITRMRVYRARGTIKAYRIWLTD SG-PETHGVPGNSDFAEY
PtIP-96Hf	(100)	SVRGWTNCRVITRMRVYRARGTIKAYQIWLTD SG-PETHGVPGNSDFAEY
PtIP-96Hg	(100)	SVRGWTNCRVITRMRVYRARGTIKAYQIWLTD SG-PETHGVPGNSDFAEY
PtIP-96Hh	(100)	SVRGWTNCRVITRMRVYRARGTIKAYQIWLTD SA-PQTHGVPGNSDFAEY
PtIP-96Hi	(100)	SVRGWTNCRVITRMRVYRARGTIKAYQIWLTD SG-PETHGVPGNSDFAEY
PtIP-96Hj	(101)	SVRGWTNCRVITRMRVYRARGTIKAYRIWLTD SG-PETHGVPGNSDFAEY

图1C

	151	200
PtIP-96Aa	(70)	TFQDGERITSLSLWGNAGTRSGGIREYITTCRRRFHHMTSWGLKQEYPV
PtIP-96Ab	(70)	TFQDGERITSLSLWGNAGTRSGGIREYITTCRRRFHHMTSWGLKQEYPV
PtIP-96Ac	(70)	TFQDGERITSLSLWGNAGTRSGGIREYITTCRRRFHHMTSWGLKQEYPV
PtIP-96Ad	(70)	TFQDGERITSLSLWGNAGTRSGGIREYITTCRRRFHHMTSWGLKQEYPV
PtIP-96Ae	(70)	TFQDGERITSLSLWGNAGTRSGGIREYITTCRRRFHHMTSWGLKQEYPV
PtIP-96Af	(70)	TFQDGERITSLSLWGNAGTRSGGIREYITTCRRRFHHMTSWGLKQEYPV
PtIP-96Ag	(70)	TFQDGERITSLSLWGNAGTRSGGIREYITTCRRRFHHMTSWGLKQEYPV
PtIP-96Ah	(70)	TFQDGERITSLSLWGNAGTRSGGIREYITTCRRRFHHMTSWGLKQEYPV
PtIP-96Ca	(72)	TEEDGERITSLSLWGNAGTRSGGIREYITTCRRRFHHMTSWGLKQEYAI
PtIP-96Cb	(72)	TEEDGERITSLSLWGNAGTRSGGIREYITTCRRRFHHMTSWGLKQEYAI
PtIP-96Cc	(70)	TEEDGERITSLSLWGNAGTRSGGIREYITTCRRRFHHMTSWGLKQEYAI
PtIP-96Cd	(72)	TEEDGERITSLSLWGNAGTRSGGIREYITTCRRRFHHMTSWGLKQEYAI
PtIP-96Ce	(70)	TEEDGERITSLSLWGNAGTRSGGIREYITTCRRRFHHMTSWGLKQEYAI
PtIP-96Cf	(70)	TEEDGERITSLSLWGNAGTRSGGIREYITTCRRRFHHMTSWGLKQEYAI
PtIP-96Cg	(70)	TEEDGERITSLSLWGNAGTRSGGIREYITTCRRRFHHMTSWGLKQEYAI
PtIP-96Ch	(72)	TEEDGERITSLSLWGNAGTRSGGIREYITTCRRRFHHMTSWGLKQEYAI
PtIP-96Da	(70)	TEEDGERITSLSLWGNAGTRSGGIREYITTCRRRFHHMTSWGLKQEYPI
PtIP-96Db	(70)	TEEDGERITSLSLWGNAGTRSGGIREYITTCRRRFHHMTSWGLKQEYPI
PtIP-96Dc	(70)	TEEDGERITSLSLWGNAGTRSGGIREYITTCRRRFHHMTSWGLKQEYPI
PtIP-96Dd	(70)	TEEDGERITSLSLWGNAGTRSGGIREYITTCRRRFHHMTSWGLKQEYPI
PtIP-96De	(70)	SFOVGERITSLSLWGNAGTRSGAIREYITTCRRRFHHMTSWGLKQEYPI
PtIP-96Df	(72)	SFOVGERITSLSLWGNAGTRSGAIREYITTCRRRFHHMTSWGLKQEYPI
PtIP-96Ea	(69)	TEADGERITRLSLWGNAGTRSGAIREYITTCRRRFHHMTSWGLKQEYPI
PtIP-96Eb	(69)	TEADGERITRLSLWGNAGTRSGAIREYITTCRRRFHHMTSWGLKQEYPI
PtIP-96Ec	(69)	TEADGERITRLSLWGNAGTRSGGIREYITTCRRRFHHMTSWGLKQEYPI
PtIP-96Ed	(70)	TEADGERITRLSLWGNAGTRSGGIREYITTCRRRFHHMTSWGLKQEYPI
PtIP-96Ee	(69)	TEADGERITRLSLWGNAGTRSGGIREYITTCRRRFHHMTSWGLKQEYPI
PtIP-96Ef	(69)	TEADGERITRLSLWGNAGTRSGGIREYITTCRRRFHHMTSWGLKQEYPI
PtIP-96Eg	(69)	TEADGERITRLSLWGNAGTRSGGIREYITTCRRRFHHMTSWGLKQEYPI
PtIP-96Eh	(69)	TEADGERITRLSLWGNAGTRSGGIREYITTCRRRFHHMTSWGLKQEYPI
PtIP-96Ei	(69)	TEADGERITRLSLWGNAGTRSGGIREYITTCRRRFHHMTSWGLKQEYPI
PtIP-96Ej	(69)	TEADGERITRLSLWGNAGTRSGGIREYITTCRRRFHHMTSWGLKQEYPI
PtIP-96Ek	(69)	TEADGERITRLSLWGNAGTRSGGIREYITTCRRRFHHMTSWGLKQEYPI
PtIP-96El	(69)	TEADGERITRLSLWGNAGTRSGGIREYITTCRRRFHHMTSWGLKQEYPI
PtIP-96Em	(69)	TEADGERITRLSLWGNAGTRSGGIREYITTCRRRFHHMTSWGLKQEYPI
PtIP-96En	(69)	TEADGERITRLSLWGNAGTRSGGIREYITTCRRRFHHMTSWGLKQEYPI
PtIP-96Eo	(70)	TEEDGERITSLSLWGNAGTRSGGIREYITTCRRRFHHMTSWGLKQEYPM
PtIP-96Ep	(70)	TEEDGERITSLSLWGNAGTRSGGIREYITTCRRRFHHMTSWGLKQEYPM
PtIP-96Eq	(70)	TEEDGERITSLSLWGNAGTRSGGIREYITTCRRRFHHMTSWGLKQEYPI
PtIP-96Er	(69)	TEADGERITSLSLWGNAGTRSGAIREYITTCRRRFHHMTSWGLKQEYPI
PtIP-96Es	(69)	TEADGERITSLSLWGNAGTRSGAIREYITTCRRRFHHMTSWGLKQEYPI
PtIP-96Et	(69)	TEADGERITRLSLWGNAGTRSGGIREYITTCRRRFHHMTSWGLKQEYPI
PtIP-96Eu	(69)	TEADGERITRLSLWGNAGTRSGGIREYITTCRRRFHHMTSWGLKQEYPI
PtIP-96Ev	(69)	TEADGERITRLSLWGNAGTRSGGIREYITTCRRRFHHMTSWGLKQEYPI
PtIP-96Ha	(149)	TERTGERLTRLTLWGNAGTRAGWIDDETSIGGRFSYGMSHWSLRTYPV
PtIP-96Hd	(149)	TERTGERLTRLTLWGNAGTRAGWIDDETSIGGRFSYGMSHWSLRTYPV
PtIP-96He	(150)	TERTGERLTRLTLWGNAGTRAGWIDDETSIGGRFSYGMSHWSLRTYPV
PtIP-96Hf	(149)	TERTGERLTRLTLWGNAGTRAGWIDDETSIGGRFSYGMSHWSLRTYPV
PtIP-96Hg	(149)	TERTGERLTRLTLWGNAGTRAGWIDDETSIGGRFSYGMSHWSLRTYPV
PtIP-96Hh	(149)	TERTGERLTRLTLWGNAGTRAGWIDDETSIGGRFSYGMSHWSLRTYPV
PtIP-96Hi	(149)	TERTGERLTRLTLWGNAGTRAGWIDDETSIGGRFSYGMSHWSLRTYPV
PtIP-96Hj	(150)	TERTGERLTRLTLWGNAGTRAGWIDDETSIGGRFSYGMSHWSLRTYPV

图1D

		201	250
PtIP-96Aa	(120)	DVVDGVCVGLTGRGADIDALCFMFLRTMFSARMINVKYPTLGLLETAGIV	
PtIP-96Ab	(120)	DVVDGVCVGLTGRGADIDALCFMFLRTMFSARMINVKYPTLGLLETAGIV	
PtIP-96Ac	(120)	DVVDGVCVGLTGRGADIDALCFMFLRTMFSARMINVKYPTLGLLETAGIV	
PtIP-96Ad	(120)	DVVDGVCVGLTGRGADIDALCFMFLRTMFSARMINVKYPTLGLLETAGIV	
PtIP-96Ae	(120)	DVVDGVCVGLTGRGADIDALCFMFLRTMFSARMINVKYPTLGLLETAGIV	
PtIP-96Af	(120)	DVVDGVCVGLTGRGADIDALCFMFLRTMFSARMINVKYPTLGLLETAGIV	
PtIP-96Ag	(120)	DVVDGVCVGLTGRGADIDALCFMFLRTMFSARMINVKYPTLGLLETAGIV	
PtIP-96Ah	(120)	DVVDGVCVGLTGRGADIDALCFMFLRTMFSARMINVKYPTLGLLETAGIV	
PtIP-96Ca	(122)	DVASGLCVGLWGRHGVEIDSLGFMFLRPIASARMINVRYPTLGLLETAGIV	
PtIP-96Cb	(122)	DVASGLCVGLWGRHGVEIDSLGFMFLRPIASARMINVRYPTLGLLETAGIV	
PtIP-96Cc	(120)	DVASGLCVGLWGRHGVEIDSLGFMFLRPIASARMINVRYPTLGLLETAGIV	
PtIP-96Cd	(122)	DVASGLCVGLWGRHGVEIDSLGFMFLRPIASARMINVRYPTLGLLETAGIV	
PtIP-96Ce	(120)	DVASGLCVGLWGRHGVEIDSLGFMFLRPIASARMINVRYPTLGLLETAGIV	
PtIP-96Cf	(120)	DVASGLCVGLWGRHGVEIDSLGFMFLRPIASARMINVRYPTLGLLETAGIV	
PtIP-96Cg	(120)	DVASGLCVGLWGRHGVEIDSLGFMFLRPIASARMINVRYPTLGLLETAGIV	
PtIP-96Ch	(122)	DVASGLCVGLWGRHGVEIDSLGFMFLRPIASARMINVRYPTLGLLETAGIV	
PtIP-96Da	(120)	DVASGLCVGLIGRHGEHIDSLGFMFLRSIASARMINVSYPTLGLLETAGIV	
PtIP-96Db	(120)	DVASGLCVGVIGRHGDHIDSLGFMFLRTIASARMINVSYPTLDLETAGIV	
PtIP-96Dc	(120)	DVASGLCVGVIGRHGDHIDSLGFMFLRTIASARMINVSYPTLDLETAGIV	
PtIP-96Dd	(120)	DVASGLCVGVIGRHGDHIDSLGFMFLRTIASARMINVSYPTLDLETAGIV	
PtIP-96De	(120)	DVVDGLCVGVIGRHGTDIDALCFMFLRTMFSARMDVVTYPTLGFEDTAGIA	
PtIP-96Df	(122)	DVVDGLCVGVIGRHGTDIDALCFMFLRTMFSARMDVVTYPTLGFEDTAGIA	
PtIP-96Ea	(119)	DVASGLCVGIIGRASADIDSLGFMFLRTIASSRMINVSYPTLGLLEOAGII	
PtIP-96Eb	(119)	DVASGLCVGIIGRASADIDSLGFMFLRTIASSRMINVSYPTLGLLEOAGII	
PtIP-96Ec	(119)	DVASGLCVGIMGRANVDVDSLGVLEFLRTIASARMINVSYPTLGLLEOAGII	
PtIP-96Ed	(120)	DVASGLCVGILGRANADIDALCFYFLKSIASARMINVSYPTLSLETAGII	
PtIP-96Ee	(119)	DVASGLCVGIMGRANVDVDSLGVLEFLRTIASARMINVSYPTLGLLEOAGII	
PtIP-96Ef	(119)	DVASGLCVGIMGRANVDVDSLGVLEFLRTIASARMINVSYPTLGLLEOAGII	
PtIP-96Eg	(119)	DVASGLCVGIMGRANVDVDSLGVLEFLRTIASARMINVSYPTLGLLEOAGII	
PtIP-96Eh	(119)	DVASGLCVGIMGRANVDVDSLGVLEFLRTIASARMINVSYPTLGLLEOAGII	
PtIP-96Ei	(119)	DVASGLCVGIMGRANVDVDSLGVLEFLRTIASARMINVSYPTLGLLEOAGII	
PtIP-96Ej	(119)	DVASGLCVGIMGRANVDVDSLGVLEFLRTIASARMINVSYPTLGLLEOAGII	
PtIP-96Ek	(119)	DVASGLCVGIMGRANVDVDSLGVLEFLRTIASARMINVSYPTLGLLEOAGII	
PtIP-96El	(119)	DVASGLCVGIMGRANVDVDSLGVLEFLRTIASARMINVSYPTLGLLEOAGII	
PtIP-96Em	(119)	DVASGLCVGIMGRANVDVDSLGVLEFLRTIASARMINVSYPTLGLLEOAGII	
PtIP-96En	(119)	DVASGLCVGIMGRANVDVDSLGVLEFLRTIASARMINVSYPTLGLLEOAGII	
PtIP-96Eo	(120)	DVASGLCVGVIGRHGEHIDSLGFMFLRSIASARMINVSYPTLALETAGIV	
PtIP-96Ep	(120)	DVASGLCVGVIGRHGEHIDSLGFMFLRSIASARMINVSYPTLALETAGIV	
PtIP-96Eq	(120)	DVAAGLCVGVIGRHGEHIDSLGFMFLRSIASARMINVSYPTLALETAGIV	
PtIP-96Er	(119)	DVASGLCVGIMGRAGDDIDALCFLEFLRTIISARMINVITYPTLGLEEAAII	
PtIP-96Es	(119)	DVASGLCVGIMGRAGDDIDALCFLEFLRTIISARMINVITYPTLGLEEAAII	
PtIP-96Et	(119)	DVASGLCVGILGRANVDIDSLGFMFLRTIASARMINVSYPTLGLLEOAGIV	
PtIP-96Eu	(119)	DVASGLCVGIMGRANVDVDSLGVLEFLRTIASARMINVSYPTLGLLEOAGII	
PtIP-96Ev	(119)	DVASGLCVGILGRANVDIDSLGFMFLRTIASARMINVSYPTLGLLEOAGIV	
PtIP-96Ha	(199)	DVGSGIIVGYIFNAGEDVDAHCFWFLNHIEQAELETNVRYPTLGFEDTAGIV	
PtIP-96Hd	(199)	DVGSGIIVGYIFNAGEDVDAHCFWFLNHIEQAELETNVRYPTLGFEDTAGIV	
PtIP-96He	(200)	DVGSGIIVGYIFNAGEEVDDAHCFWFLNHIEQAELETNVRYPTLGFEDTAGIV	
PtIP-96Hf	(199)	DVGSGIIVGYIFNAGEDVDAHCFWFLNHIEQAELETNVRYPTLGFEDTAGIV	
PtIP-96Hg	(199)	DVGSGIIVGYIFNAGEDVDAHCFWFLNHIEQAELETNVRYPTLGFEDTAGIV	
PtIP-96Hh	(199)	DVGSGIIVGYIFNAGEDVDAHCFWFLNHIEQAELETNVRYPTLGFEDTAGIV	
PtIP-96Hi	(199)	DVGSGIIVGYIFNAGEDVDAHCFWFLNHIEQAELETNVRYPTLGFEDTAGIV	
PtIP-96Hj	(200)	DVGSGIIVGYIFNAGEEVDDAHCFWFLNHIEQAELETNVRYPTLGFEDTAGIV	

图1E

	251	300
PtIP-96Aa	(170)	PVTLD FMSDSN NASSISKW SFQGSREVTVSSSW STTTGIELHASITVSA
PtIP-96Ab	(170)	PVTLD FMSDSN NAGSISKW SFQGSREVTVSSSW STTTGIELHASITVSA
PtIP-96Ac	(170)	PVTLD FMSDSN NASSISKW SFQGSREVTVSSSW STTTGIELHASITVSA
PtIP-96Ad	(170)	PVTLD FMSDSN NASSISKW SFQGSREVTVSSSW STTTGIELHASITVSA
PtIP-96Ae	(170)	PVTLD FMSDSN NASSISKW SFQGSREVTVSSSW STTTGIELHASITVSA
PtIP-96Af	(170)	PVTLD FMSDSN NASSISKW SFQGSREVTVSSSW STTTGIELHASITVSA
PtIP-96Ag	(170)	PVTLD FMSDSN NASSISKW SFQGSREVTVSSSW STTTGIELHASITVSA
PtIP-96Ah	(170)	PVTLD FMSDSN NAGSISKW SFQGSREVTVSSSW STTTGIELHASITVSA
PtIP-96Ca	(172)	PVTLD SMSDSN N SAMPKNW SFQGSRDVTISSSW SITAGIELHASINVSA
PtIP-96Cb	(172)	PVTLD SMSDSN N SAMPKNW SFQGSRDVTISSSW SITAGIELHASINVSA
PtIP-96Cc	(170)	PVTLD SMSDSN N SAMPKNW SFQGSRDVTISSSW SITAGIELHASINVSA
PtIP-96Cd	(172)	PVTLD SMSDSN N SAMPKNW SFQGSRDVTISSSW SITAGIELHASINVSA
PtIP-96Ce	(170)	PVTLD SMSDSN N SAMPKNW SFQGSRDVTISSSW SITAGIELHASINVSA
PtIP-96Cf	(170)	PVTLD SMSDSN N SAMPKNW SFQGSRDVTISSSW SITAGIELHASINVSA
PtIP-96Cg	(170)	PVTLD SMSDSN N SAMPKNW SFQGSRDVTISSSW SITAGIELHASINVSA
PtIP-96Ch	(172)	PVELDSL SHSN N SALS PKNW PFGS PKGTI SSSW SILAGIELHASINVSA
PtIP-96Da	(170)	PVTLD SMSN N N SGLSPKNW PFGSREVTMSSTW SVTSGIELHASITVTA
PtIP-96Db	(170)	PVTLD SMSDSN NAGTISKW TFGGSR SVTISSSW WAITAGIELHASITVTA
PtIP-96Dc	(170)	PVTLD SMSDSN NAGTISKW TFGGSR SVTISSSW WAITAGIELHASITVTA
PtIP-96Dd	(170)	PVTLD SMSDSN NAGTISKW TFGGSR SVTISSSW WAITAGIELHASITVTA
PtIP-96De	(170)	PITLDSYSDAN QSGSISKW SFEGSREVTVSSSW SVTAGIELHASITVSA
PtIP-96Df	(172)	PITLDSYSDAN QSGSISKW SFEGSREVTVSSSW SVTAGIELHASITVSA
PtIP-96Ea	(169)	PVTLDSYND S NAGSISKW TFGSRTVTI SSSW WLTSGIEAHASVTVQA
PtIP-96Eb	(169)	PVTLDSYND S NAGSISKW TFGSRTVTI SSSW WLTSGIEAHASVTVQA
PtIP-96Ec	(169)	PVTLDSFNDS N NAGTISKW TFGSRTVTI SSSW WLTSGIEAHASVTVQA
PtIP-96Ed	(170)	PVTLDSYSD S NAGSISKW TFGSREVKI SSSW WVTGIEYHASITVQA
PtIP-96Ee	(169)	PVTLDSFNDS N NAGTISKW TFGSRTVTI SSSW WLTSGIEAHASVTVQA
PtIP-96Ef	(169)	PVTLDSYND S N NAGTISKW TFGSRTVTI SSSW WLTSGIEAHASVTVQA
PtIP-96Eg	(169)	PVTLDSFNDS N NAGTISKW TFGSRTVTI SSSW WLTSGIEAHASVTVQA
PtIP-96Eh	(169)	PVTLDSFNDS N NAGTISKW TFGSRTVTI SSSW WLTSGIEAHASVTVQA
PtIP-96Ei	(169)	PVTLDSFNDS N NAGTISKW TFGSRTVTI SSSW WLTSGIEAHASVTVQA
PtIP-96Ej	(169)	PVTLDSFNDS N NAGTISKW TFGSRTVTI SSSW WLTSGIEAHASVTVQA
PtIP-96Ek	(169)	PVTLDSYND S N NAGTISKW TFGSRTVTI SSSW WLTSGIEAHASVTVQA
PtIP-96El	(169)	PVTLDSFNDS N NAGTISKW TFGSRTVTI SSSW WLTSGIEAHASVTVQA
PtIP-96Em	(169)	PVTLDSYND S N NAGTISKW TFGSRTVTI SSSW WLTSGIEAHASVTVQA
PtIP-96En	(169)	PVTLDSFNDS N NAGTISKW TFGSRTVTI SSSW WLTSGIEAHASVTVQA
PtIP-96Eo	(170)	PVTLDSL TDN N NAGTIAKNW ALRGSREVTMSSTW SVTSGIELYASVTVTA
PtIP-96Ep	(170)	PVTLDSL TDN N NAGTIAKNW ALRGSREVTMSSTW SVTSGIELYASVTVTA
PtIP-96Eq	(170)	PVTLDSL TDN N NAGTISKW ALRGSREVTMSSTW SVTSGIELYASVTVTA
PtIP-96Er	(169)	PVTLDSYND AN NAGTISKW TFGSRTVTVSESW WLTAGIEVHATVSVQA
PtIP-96Es	(169)	PVTLDSYND AN NAGTISKW TFGSRTVTVSESW WLTAGIEVHATVSVQA
PtIP-96Et	(169)	PVTLDSYND S N NAGTISKW TFGSRTVTI SSSW WLTSGIEAHATVSVQA
PtIP-96Eu	(169)	PVTLDSFNDS N NAGTISKW TFGSRTVTI SSSW WLTSGIEAHATVSVQA
PtIP-96Ev	(169)	PVTLDSYND S N NAGTISKW TFGSRTVTI SSSW WLTSGIEAHATVSVQA
PtIP-96Ha	(249)	PTALDTFRFRNNS -STPRD WDFSRNMSRSTERTW SITVDLTVHASITVSA
PtIP-96Hd	(249)	PTALDTFRFRNNS -STPRD WDFSRNMSRSTERTW SITVDLTVHASITVSA
PtIP-96He	(250)	PTALDTFRFRNNS -STPRD WDFSRNMSRSTERTW SITVDLTVHASITVSA
PtIP-96Hf	(249)	PTALDTFRFRNNS -STPRD WDFSRNMSRSTERTW SITVDLTVHASITVSA
PtIP-96Hg	(249)	PTALDTFRFRNNS -STPRD WDFSRNMSRSTERTW SITVDLTVHASITVSA
PtIP-96Hh	(249)	PTALDTFRFRNNS -STPRD WDFSRNMSRSTERTW SITVDLTVHASITVSA
PtIP-96Hi	(249)	PTALDTFRFRNNS -STPRD WDFSRNMSRSTERTW SITVDLTVHASITVSA
PtIP-96Hj	(250)	PTALDTFRFRNNS -STPRD WDFSRNMSRSTERTW SITVDLTVHASITVSA

图1F

	301	350
PtIP-96Aa	(220)	GIPLVANVEGQYGWAISTSSSTYTTNHSETRTLWQNSGVLEPGQWISLQA
PtIP-96Ab	(220)	GIPLVANVEGQYGWAISTSSSTYTTNHSETRTLWQNSGVLEPGQWISLQA
PtIP-96Ac	(220)	GIPLVANVEGQYGWAISTSSSTYTTNHSETRTLWQNSGVLEPGQWISLQA
PtIP-96Ad	(220)	GIPLVANVEGQYGWAISTSSSTYTTNHSETRTLWQNSGVLEPGQWISLQA
PtIP-96Ae	(220)	GIPLVANVEGQYGWAISTSSSTYTTNHSETRTLWQNSGVLEPGQWISLQA
PtIP-96Af	(220)	GIPLVANVEGQYGWAISTSSSTYTTNHSETRTLWQNSGVLEPGQWISLQA
PtIP-96Ag	(220)	GIPLVANVEGQYGWGISSTSSSTYTTNHSETRTLWQNSGVLEPGQWISLQA
PtIP-96Ah	(220)	GIPLVANVEGQYGWAISTSSSTYTTNHSETRTLWQNSGVLEPGQWISLQA
PtIP-96Ca	(222)	GVPMLANVDVQYGWFISSSTSSYSTSHSETRSLWQNSGVLEPGQWVSLQA
PtIP-96Cb	(222)	GVPMLANVDVQYGWFISSSTSSYSTSHSETRSLWQNSGVLEPGQWVSLQA
PtIP-96Cc	(220)	GVPMLANVDVQYGWFISSSTSSYSTSHSETRSLWQNSGVLEPGQWVSLQA
PtIP-96Cd	(222)	GVPMLANVDVQYGWFISSSTSSYSTSHSETRSLWQNSGVLEPGQWVSLQA
PtIP-96Ce	(220)	GVPMLANVDVQYGWFISSSTSSYSTSHSETRSLWQNSGVLEPGQWVSLQA
PtIP-96Cf	(220)	GVPMLANVDVQYGWFISSSTSSYSTSHSETRSLWQNSGVLEPGQWVSLQA
PtIP-96Cg	(220)	GVPMLANVDVQYGWFISSSTSSYSTSHSETRSLWQNSGVLEPGQWVSLQA
PtIP-96Ch	(222)	GVPMLANVDVQYGWFISSSTSSYSTSHSETRSLWQNSGVLEPGQWVSLQA
PtIP-96Da	(220)	GIPVVAEVGQYGVAVSTSSSTFSHTHETRSLWQNSGVLEPGQWISLQA
PtIP-96Db	(220)	GIPVVAEVGQYGVAVSTSSSTFSHTHETRSLWQNSGVLEPGQWISLQA
PtIP-96Dc	(220)	GIPVVAEVGQYGVAVSTSSSTFSHTHETRSLWQNSGVLEPGQWISLQA
PtIP-96Dd	(220)	GIPVVAEVGQYGVAVSTSSSTFSHTHETRSLWQNSGVLEPGQWISLQA
PtIP-96De	(220)	GIPLVLDVDFGEGWASASATYTTNSSETRTLWQNSGVLEPGQWISLQA
PtIP-96Df	(222)	GIPLVLDVDFGEGWASASATYTTNSSETRTLWQNSGVLEPGQWISLQA
PtIP-96Ea	(219)	GIPVVAEVSGEFGWSVSVSGSYTSTOESRTLWQNSGVLEPGQWISLQA
PtIP-96Eb	(219)	GIPVVAEVSGEFGWSVSVSGSYTSTOESRTLWQNSGVLEPGQWISLQA
PtIP-96Ec	(219)	GIPVVAEVSGEFGWSVSVSGTYATTOESRTLWQNSGVLEPGQWISLQA
PtIP-96Ed	(220)	GIPLVAEVSGEFGWSVSVTGSYTTTHEETRSLWQNSGVLEPGQWISLQA
PtIP-96Ee	(219)	GIPVVAEVSGEYGVAVSTSSSTFSHTHETRSLWQNSGVLEPGQWISLQA
PtIP-96Ef	(219)	GIPVVAEVSGEYGVAVSTSSSTFSHTHETRSLWQNSGVLEPGQWISLQA
PtIP-96Eg	(219)	GIPVVAEVSGEYGVAVSTSSSTFSHTHETRSLWQNSGVLEPGQWISLQA
PtIP-96Eh	(219)	GIPVVAEVSGEYGVAVSTSSSTFSHTHETRSLWQNSGVLEPGQWISLQA
PtIP-96Ei	(219)	GIPVVAEVSGEYGVAVSTSSSTFSHTHETRSLWQNSGVLEPGQWISLQA
PtIP-96Ej	(219)	GIPVVAEVSGEYGVAVSTSSSTFSHTHETRSLWQNSGVLEPGQWISLQA
PtIP-96Ek	(219)	GIPVVAEVSGEYGVAVSTSSSTFSHTHETRSLWQNSGVLEPGQWISLQA
PtIP-96El	(219)	GIPVVAEVSGEYGVAVSTSSSTFSHTHETRSLWQNSGVLEPGQWISLQA
PtIP-96Em	(219)	GIPVVAEVSGEYGVAVSTSSSTFSHTHETRSLWQNSGVLEPGQWISLQA
PtIP-96En	(219)	GIPVVAEVSGEYGVAVSTSSSTFSHTHETRSLWQNSGVLEPGQWISLQA
PtIP-96Eo	(220)	GVPVVAEVGQYGVAVSTSSSTFSHTHETRSLWQNSGVLEPGQWISLQA
PtIP-96Ep	(220)	GVPVVAEVGQYGVAVSTSSSTFSHTHETRSLWQNSGVLEPGQWISLQA
PtIP-96Eq	(220)	GVPVVAEVGQYGVAVSTSSSTFSHTHETRSLWQNSGVLEPGQWISLQA
PtIP-96Er	(219)	GIPLVAEVNGEYGVAVSTSSSTFSHTHETRSLWQNSGVLEPGQWISLQA
PtIP-96Es	(219)	GIPLVAEVNGEYGVAVSTSSSTFSHTHETRSLWQNSGVLEPGQWISLQA
PtIP-96Et	(219)	GIPLVAEVSGEFGWSVSVTGSYTTTHEETRSLWQNSGVLEPGQWISLQA
PtIP-96Eu	(219)	GIPVVAEVSGEYGVAVSTSSSTFSHTHETRSLWQNSGVLEPGQWISLQA
PtIP-96Ev	(219)	GIPLVAEVSGEFGWSVSVTGSYTTTHEETRSLWQNSGVLEPGQWISLQA
PtIP-96Ha	(298)	GEPGIANVSGQYGEIGATGHFETTETSEHDLSWSVSGRVOPGDVVDLTA
PtIP-96Hd	(298)	GEPGIANVSGQYGEIGATGHFETTETSEHDLSWSVSGRVOPGDVVDLTA
PtIP-96He	(299)	GEPGIANVSGQYGEIGATGHFETTETSEHDLSWSVSGRVOPGDVVDLTA
PtIP-96Hf	(298)	GEPGIANVSGQYGEIGATGHFETTETSEHDLSWSVSGRVOPGDVVDLTA
PtIP-96Hg	(298)	GEPGIANVSGQYGEIGATGHFETTETSEHDLSWSVSGRVOPGDVVDLTA
PtIP-96Hh	(298)	GEPGIANVSGQYGEIGATGHFETTETSEHDLSWSVSGRVOPGDVVDLTA
PtIP-96Hi	(298)	GEPGIANVSGQYGEIGATGHFETTETSEHDLSWSVSGRVOPGDVVDLTA
PtIP-96Hj	(299)	GEPGIANVSGQYGEIGATGHFETTETSEHDLSWSVSGRVOPGDVVDLTA

图1G


```

351
PtIP-96Aa (270) LTRRGTTITLEYQATMQITLQNGTVEYTPITAQYAGVDYTSVEIVSQGTRD
PtIP-96Ab (270) LTRRGTTITLEYQATMQITLQNGTVEYTPITAQYAGVDYTSVEIVSQGTRD
PtIP-96Ac (270) LTRRGTTITLEYQATMQITLQNGTVEYTPITAQYAGVDYTSVEIVSQGTRD
PtIP-96Ad (270) LTRRGTTITLEYQATMQITLQNGTVEYTPITAQYAGVDYTSVEIVSQGTRD
PtIP-96Ae (270) LTRRGTTITLEYQATMQITLQNGTVEYTPITAQYAGVDYTSVEIVSQGTRD
PtIP-96Af (270) LTRRGTTITLEYQATMQITLQNGTVEYTPITAQYAGVDYTSVEIVSQGTRD
PtIP-96Ag (270) LTRRGTTITLEYQATMQITLQNGTVEYTPITAQYAGVDYTSVEIVSQGTRD
PtIP-96Ah (270) LTRRGTTITLEYQATMQITLQNGTVEYTPITAQYAGVDYTSVEIVSQGTRD
PtIP-96Ca (272) LTRRGTTITLEYQATMQITLQNGVVEYTPIAAQYAGVDFTSVEIVSLGTKD
PtIP-96Cb (272) LTRRGTTITLEYQATMQITLQNGVVEYTPIAAQYAGVDFTSVEIVSLGTKD
PtIP-96Cc (270) LTRRGTTITLEYQATMQITLQNGVVEYTPIAAQYAGVDFTSVEIVSLGTKD
PtIP-96Cd (272) LTRRGTTITLEYQATMQITLQNGVVEYTPIAAQYAGVDFTSVEIVSLGTKD
PtIP-96Ce (270) LTRRGTTITLEYQATMQITLQNGVVEYTPIAAQYAGVDFTSVEIVSLGTKD
PtIP-96Cf (270) LTRRGTTITLEYQATMQITLQNGVVEYTPIAAQYAGVDFTSVEIVSLGTKD
PtIP-96Cg (270) LTRRGTTITLEYQATMQITLQNGVVEYTPIAAQYAGVDFTSVEIVSLGTKD
PtIP-96Ch (272) LTRRGTTITLEYQATMQITLQNGVVEYTPIAAQYAGVDFTSVEIVSLGTKD
PtIP-96Da (270) LTRRGYISLPEYQATMQITLQNGAVETYPITAMAGVDYTSVELVHLLDWP
PtIP-96Db (270) LTRRGYISLPEYQATMQITLQNGALEYTPITALYAGVDYTNVQIVSTGTRH
PtIP-96Dc (270) LTRRGYISLPEYQATMQITLQNGALEYTPITALYAGVDYTNVQIVSTGTRH
PtIP-96Dd (270) LTRRGYISLPEYQATMQITLQNGALEYTPITALYAGVDYTNVQIVSTGTRH
PtIP-96De (270) VTRKGTINIPYQANMQITLQNGVIEYALAGQYAGVDYTSVQVVDNDGTKN
PtIP-96Df (272) VTRKGTINIPYQANMQITLQNGVIEYALAGQYAGVDYTSVQVVDNDGTKN
PtIP-96Ea (269) TTRRGTTITLEYQGTMEITLQSGTVEYQPISSMYSVDYTSVDIINTGTGRA
PtIP-96Eb (269) TTRRGTTITLEYQGTMEITLQSGTVEYQPISSMYSVDYTSVDIINTGTGRA
PtIP-96Ec (269) TTRRGTTITLEYQGTMEITLQSGTVEYQPISSMYSVDYTSVDIINTGTGRA
PtIP-96Ed (270) TTRRGYITVPEYQGTMEITLQSGVVEYQPISSMYSVDYTSVEIINTGTGA
PtIP-96Ee (269) TTRRGTTITLEYQGTMEITLQSGTVEYQPISSMYSVDYTSVDIINTGSRA
PtIP-96Ef (269) TTRRGTTITLEYQGTMEITLQSGTVEYQPISSMYSVDYTSVDIINTGTGRA
PtIP-96Eg (269) TTRRGTTITLEYQGTMEITLQSGTVEYQPISSMYSVDYTSVDIINTGSRA
PtIP-96Eh (269) TTRRGTTITLEYQGTMEITLQSGTVEYQPISSMYSVDYTSVDIINTGSRA
PtIP-96Ei (269) TTRRGTTITLEYQGTMEITLQSGTVEYQPISSMYSVDYTSVDIINTGSRA
PtIP-96Ej (269) TTRRGTTITLEYQGTMEITLQSGTVEYQPISSMYSVDYTSVDIINTGSRA
PtIP-96Ek (269) TTRRGTTITLEYQGTMEITLQSGTVEYQPISSMYSVDYTSVDIINTGSRA
PtIP-96El (269) TTRRGTTITLEYQGTMEITLQSGTVEYQPISSMYSVDYTSVDIINTGSRA
PtIP-96Em (269) TTRRGTTITLEYQGTMEITLQSGTVEYQPISSMYSVDYTSVDIINTGSRA
PtIP-96En (269) TTRRGTTITLEYQGTMEITLQSGTVEYQPISSMYSVDYTSVDIINTGSRA
PtIP-96Eo (270) LTRRGYISLPEYQGTMQITLQSGTVEYTPISALYAGVDYTSVEIVNLGTYV
PtIP-96Ep (270) LTRRGYISLPEYQGTMQITLQSGTVEYTPISALYAGVDYTSVEIVNLGTYV
PtIP-96Eq (270) LTRRGYISLPEYQGTMQITLQSGTVEYTPISALYAGVDYTNVEIVNLGTYV
PtIP-96Er (269) TTRRGTTITLEYQGTMEITLQSGTVEYQPISSMYSVDYTSVDIVSIGSRV
PtIP-96Es (269) TTRRGTTITLEYQGTMEITLQSGTVEYQPISSMYSVDYTSVDIVSIGSRV
PtIP-96Et (269) TTRRGTTITLEYQGTMEITLQSGTVEYQPISSMYSVDYTSVDIINTGTGRA
PtIP-96Eu (269) TTRRGTTITLEYQGTMEITLQSGTVEYQPISSMYSVDYTSVDIINTGSRA
PtIP-96Ev (269) TTRRGTTITLEYQGTMEITLQSGTVEYQPISSMYSVDYTSVDIINTGTGRA
PtIP-96Ha (348) LTRIGTLNIPYEGTMVVRMRNCASESYAVRGTYRGLSYTGTKINDNST--
PtIP-96Hd (348) LTRIGTLNIPYEGTMVVRMRNCASESYAVRGTYRGLSYTGTKINDNST--
PtIP-96He (349) LTRIGTLNIPYEGTMVVRMRNCASESYAVRGTYRGLSYTGTKINDNST--
PtIP-96Hf (348) LTRIGTLNIPYEGTMVVRMRNCASESYAVRGTYRGLSYTGTKINDNST--
PtIP-96Hg (348) LTRIGTLNIPYEGTMVVRMRNCASESYAVRGTYRGLSYTGTKINDNST--
PtIP-96Hh (348) LTRIGTLNIPYEGTMVVRMRNCASESYAVRGTYRGLSYTGTKINDNST--
PtIP-96Hi (348) LTRIGTLNIPYEGTMVVRMRNCASESYAVRGTYRGLSYTGTKINDNST--
PtIP-96Hj (349) LTRIGTLNIPYEGTMVVRMRNCASESYAVRGTYRGLSYTGTKINDNST--

```

图1H

	401	450
PtIP-96Aa	(320) LGSDHLAINKDVRVYIAAANGAAVGTTTNAPPHYVHPIRGAPIVEPVKFS	
PtIP-96Ab	(320) LGSDHLAINKDVRVYIAAANGAAVGTTTNAPPHYVHPIRGAPIVEPVKFS	
PtIP-96Ac	(320) LGSDHLAINKDVRVYIAAANGAAVGTTTNAPPHYVHPIRGAPIVEPVKFS	
PtIP-96Ad	(320) LGSDHLAINKDVRVYIAAANGAAVGTTTNAPPHYVHPIRGAPIVETVKFS	
PtIP-96Ae	(320) LGSDHLAINKDVRVYIAAANGAAVGTTTNAPPHYVHPIRGAPIVEPVKFS	
PtIP-96Af	(320) LGSDHLAINKDVRVYIAAANGAAVGTTTNAPPHYVHPIRGAPIVEPVKFS	
PtIP-96Ag	(320) LGSDHLAINKDVRVYIAAANGAAVGTTTNAPPHYVHPIRGAPIVEPVKFS	
PtIP-96Ah	(320) LGSDHLAINKDVHYIAAANGAAVGTTTNAPPHYVHPIRGAPIVEPVKFS	
PtIP-96Ca	(322) VSGGHSATNKDVGRIVAN-----GTATTSAPPQYVR-----P-VKLS	
PtIP-96Cb	(322) VSGGHSATNKDVGRIVAN-----GTATTSAPPQYVR-----P-VKLS	
PtIP-96Cc	(320) VSGGHSATNKDVGRIVAN-----GTATTSAPPQYVR-----P-VKLS	
PtIP-96Cd	(322) VSGGHSATNKDVGRIVAN-----GTATTSAPPQYVR-----P-VKLS	
PtIP-96Ce	(320) VSGGHSATNKDVGRIVAN-----GTATTSAPPQYVR-----P-VKLS	
PtIP-96Cf	(320) VSGGHSATNKDVGRIVAN-----GTATTSAPPQYVR-----P-VKLS	
PtIP-96Cg	(320) VSGGHSATNKDVGRIVAN-----GTATTSAPPQYVR-----P-VKLS	
PtIP-96Ch	(322) VSGGHSATNKDVGRIVAN-----GTATTSAPPQYVR-----P-VKLS	
PtIP-96Da	(320) T-----	
PtIP-96Db	(320) LDYDHVRSAGGRR-----LVSAISNKGSLPTAATTSVIAPPRVHVP	
PtIP-96Dc	(320) LDYDHVRSAGGRR-----LVSAISNKGSLPTAATTSVIAPPRVHVP	
PtIP-96Dd	(320) LDYDHVRSAGGRR-----LVSAISNKGSLPTAATTSVIAPPRVHVP	
PtIP-96De	(320) AGHVSTTAAKGTGTGTTTA-----ARMGALANSVRHVRAASIPRPVKFS	
PtIP-96Df	(322) AGHVSTTAAKGTGTGTTTA-----ARMGALANSVRHVRAASIPRPVKFS	
PtIP-96Ea	(319) LKQVEVQATDQQSQ-----	
PtIP-96Eb	(319) LKQVEVQATDQQSQ-----	
PtIP-96Ec	(319) SDHVEVEATEQQVQG-----	
PtIP-96Ed	(320) ANQVDDQAADPSLTITTTD-----	
PtIP-96Ee	(319) LDQVEVKTTEQQVEG-----	
PtIP-96Ef	(319) SDHVEVEATEQQVQG-----	
PtIP-96Eg	(319) LDQVEVKTTEQQVEG-----	
PtIP-96Eh	(319) LDQVEVKTTEQQVEG-----	
PtIP-96Ei	(319) LDQVEVKTTEQQVEG-----	
PtIP-96Ej	(319) LDQVEVKTTEQQVEG-----	
PtIP-96Ek	(319) LDQVEVKTTEQQVEG-----	
PtIP-96El	(319) LDQVEVKTTEQQVEG-----	
PtIP-96Em	(319) LDQVEVKTTEQQVEG-----	
PtIP-96En	(319) LDQVEVKTTEQQVEG-----	
PtIP-96Eo	(320) SSNNISGEAIPRQLPVSSF-SLPATNIANGAAWAGANANGALAAGTRALI	
PtIP-96Ep	(320) SSNNISGEAIPRQLPVSSF-SLPATNIANGAAWAGANANGALAAGTRALI	
PtIP-96Eq	(320) ASNNISAGEFIPROPISLP-AATTNTNANGAWTN----AGALAGTTRAVI	
PtIP-96Er	(319) LNQAKVEATNKKAL-----	
PtIP-96Es	(319) LNQAKVEATNKKAL-----	
PtIP-96Et	(319) LNRVETEAIQQAR-----	
PtIP-96Eu	(319) LDQVEVKTTEQQVEG-----	
PtIP-96Ev	(319) LNRVETEAIQQAR-----	
PtIP-96Ha	(396) -----	
PtIP-96Hd	(396) -----	
PtIP-96He	(397) -----	
PtIP-96Hf	(396) -----	
PtIP-96Hg	(396) -----	
PtIP-96Hh	(396) -----	
PtIP-96Hi	(396) -----	
PtIP-96Hj	(397) -----	

图11

	451	500
PtIP-96Aa	(370) VGATYINDTDN-----	ITQEVDTT
PtIP-96Ab	(370) VGATYINDTDN-----	ITQEVDTT
PtIP-96Ac	(370) VGATYINDTDN-----	ITQEVDTT
PtIP-96Ad	(370) VGATYINDTDN-----	ITQEVDTT
PtIP-96Ae	(370) VGATYINDTDN-----	ITQEVDTT
PtIP-96Af	(370) VGATYINDTDN-----	ITQEVDTT
PtIP-96Ag	(370) VGATYINDTDN-----	ITQEVDTT
PtIP-96Ah	(370) VGATYINDTDN-----	ITQEVDTT
PtIP-96Ca	(358) VGATYINDTNN-----	ITQEVDST
PtIP-96Cb	(358) VGATYINDTNN-----	ITQEVDST
PtIP-96Cc	(356) VGATYINDTNN-----	ITQEVDST
PtIP-96Cd	(358) VGATYINDTNN-----	ITQEVDST
PtIP-96Ce	(356) VGATYINDTNN-----	ITQEVDST
PtIP-96Cf	(356) VGATYINDTNN-----	ITQEVDST
PtIP-96Cg	(356) VGATYINDTNN-----	ITQEVDST
PtIP-96Ch	(358) VGATYINDTNN-----	ITQEVDST
PtIP-96Da	(321) -----	-----
PtIP-96Db	(361) VNIPAVPYTS-----	VIEP--VKVVATRAAPTSINDDNIKQE
PtIP-96Dc	(361) VNIPAVLYTS-----	VIEP--VKVVATRAAPTSINDDNIKQE
PtIP-96Dd	(361) VNIPAVPYTS-----	VIEP--VKVVATRAAPTSINDDNIKQE
PtIP-96De	(363) AGATYINDTNN-----	ITQEVHSS
PtIP-96Df	(365) AGATYINDTNN-----	ITQEVHSS
PtIP-96Ea	(333) -----	EGDHNVO
PtIP-96Eb	(333) -----	EGDHNVO
PtIP-96Ec	(334) -----	VKDQSVQ
PtIP-96Ed	(338) -----	DGEVLEQ
PtIP-96Ee	(334) -----	VEDQNVQ
PtIP-96Ef	(334) -----	VKDQSVQ
PtIP-96Eg	(334) -----	VEDQNVQ
PtIP-96Eh	(334) -----	VEDQNVQ
PtIP-96Ei	(334) -----	VEDQNVQ
PtIP-96Ej	(334) -----	VEDQNVQ
PtIP-96Ek	(334) -----	VEDQNVQ
PtIP-96El	(334) -----	VEDQNVQ
PtIP-96Em	(334) -----	VEDQNVQ
PtIP-96En	(334) -----	VEDQNVQ
PtIP-96Eo	(369) NGEPIKPHYSNVLPHLTLTPQDQDQHSVIKPHYKNILELVHLLDWPT--	-----
PtIP-96Ep	(369) NGEPIKPHYSNVLPHLTLTPQDQDQHSVIKPHYKNILDGDNTNYQPOPO	-----
PtIP-96Eq	(365) NEEPIKPHYT-----	SNQDQDQHSVIKPHYKNINIQDGDNTTYQPO
PtIP-96Er	(333) -----	EGDPNVQ
PtIP-96Es	(333) -----	EGDPNVQ
PtIP-96Et	(333) -----	EGDQNVQ
PtIP-96Eu	(334) -----	VEDQNVQ
PtIP-96Ev	(333) -----	EGDQNVQ
PtIP-96Ha	(396) -----	-----
PtIP-96Hd	(396) -----	-----
PtIP-96He	(397) -----	-----
PtIP-96Hf	(396) -----	-----
PtIP-96Hg	(396) -----	-----
PtIP-96Hh	(396) -----	-----
PtIP-96Hi	(396) -----	-----
PtIP-96Hj	(397) -----	-----

图1J

	501	520
PtIP-96Aa	(389) AATSVEELTLVY-----	
PtIP-96Ab	(389) AATSVEELTLVY-----	
PtIP-96Ac	(389) AATSVEELTLVY-----	
PtIP-96Ad	(389) AATSVEELTLVY-----	
PtIP-96Ae	(389) AATSVEELTLVY-----	
PtIP-96Af	(389) AATSVEELTLVY-----	
PtIP-96Ag	(389) AATSVEELTLVY-----	
PtIP-96Ah	(389) AATSVEELTLVY-----	
PtIP-96Ca	(377) -ATSVEELTMH-----	
PtIP-96Cb	(377) -ATSVEELTMH-----	
PtIP-96Cc	(375) -ATSVEELTMH-----	
PtIP-96Cd	(377) -ATSVEELTLVY-----	
PtIP-96Ce	(375) -ATSVEELTMH-----	
PtIP-96Cf	(375) -ATSVEELTMH-----	
PtIP-96Cg	(375) -ATSVEELTMH-----	
PtIP-96Ch	(377) -ATSVEELTMH-----	
PtIP-96Da	(321) -----	
PtIP-96Db	(396) PLVATEERTLVY-----	
PtIP-96Dc	(396) PLVATEERTLVY-----	
PtIP-96Dd	(396) PLVATEERTLVY-----	
PtIP-96De	(383) APTGVEELTLVY-----	
PtIP-96Df	(385) APTGVEELTLVY-----	
PtIP-96Ea	(340) PDKEVEERKVLFT-----	
PtIP-96Eb	(340) PDKEVEERKVLFT-----	
PtIP-96Ec	(341) PNKEAKECTLLFAE-----	
PtIP-96Ed	(347) PDKEVQESKLIYPS-----	
PtIP-96Ee	(341) PNKEAKECTLLFAE-----	
PtIP-96Ef	(341) PNKEAKECTLLFAE-----	
PtIP-96Eg	(341) PNKEAKECTLLFAE-----	
PtIP-96Eh	(341) PNKEAKECTLLFAE-----	
PtIP-96Ei	(341) PNKEAKECTLLFAE-----	
PtIP-96Ej	(341) PNKEAKECTLLFAE-----	
PtIP-96Ek	(341) PNKEAKECTLLFAE-----	
PtIP-96El	(341) PNKEAKECTLLFAE-----	
PtIP-96Em	(341) PNKEAKECTLLFAE-----	
PtIP-96En	(341) PNKEAKECTLLFAE-----	
PtIP-96Eo	(417) -----	
PtIP-96Ep	(419) POGVVEERTLV-----	
PtIP-96Eq	(405) --GVVEERSLVF-----	
PtIP-96Er	(340) PSKEVQECKLLYIE-----	
PtIP-96Es	(340) PSKEVQECKLLYIE-----	
PtIP-96Et	(340) PSKDVQECKLLFTD-----	
PtIP-96Eu	(341) PNKEAKECTLLFAEGAAYPY-----	
PtIP-96Ev	(340) PSKDVQECKLLFND-----	
PtIP-96Ha	(396) -----	
PtIP-96Hd	(396) -----	
PtIP-96He	(397) -----	
PtIP-96Hf	(396) -----	
PtIP-96Hg	(396) -----	
PtIP-96Hh	(396) -----	
PtIP-96Hi	(396) -----	
PtIP-96Hj	(397) -----	

图1K

	1	50
PtIP-96Aa	(1)	MSIHQTPVTLIGGRGGAFTYNAGASGRILRRIGVWAGGSQLRGIRVWWT
PtIP-96Ab	(1)	MSIHQTPVTLIGGRGGAFTYNAGASGRILRRIGVWAGGSQLRGIRVWWT
PtIP-96Ah	(1)	MSIHQTPVTLIGGRGGAFTYNAGASGRILRRIGVWAGGSQLRGIRVWWT
PtIP-96Ag	(1)	MSIHQTPVTLIGGRGGAFTYNAGASGRILRRIGVWAGGSQLRGIRVWWT
PtIP-96Ac	(1)	MSIHQTPVTLIGGRGGAFTYNAGASGRILRRIGVWAGGSQLRGIRVWWT
PtIP-96Ad	(1)	MSIHQTPVTLIGGRGGAFTYNAGASGRILRRIGVWAGGSQLRGIRVWWT
PtIP-96Ae	(1)	MSIHQTPVTLIGGRGGAFTYNAGASGRILRRIGVWAGGSQLRGIRVWWT
PtIP-96Af	(1)	MSIHQTPVTLIGGRGGAFTYNAGASGRILRRIGVWAGGSQLRGIRVWWT
PtIP-96Ag	(1)	MSIHQTPVTLIGGRGGAFTYNAGASGRILRRIGVWAGGSQLRGIRVWWT
PtIP-96Ah	(1)	MSIHQTPVTLIGGRGGAFTYNAGASGRILRRIGVWAGGSQLRGIRVWWT
	51	100
PtIP-96Aa	(51)	GLDSPITYGTPNVGSYQEFFQDGERITSLSLWNGAGTRSGGIRFYTTT
PtIP-96Ab	(51)	GLDSPITYGTPNVGSYQEFFQDGERITSLSLWNGAGTRSGGIRFYTTT
PtIP-96Ah	(51)	GLDSPITYGTPNVGSYQEFFQDGERITSLSLWNGAGTRSGGIRFYTTT
PtIP-96Ag	(51)	GLDSPITYGTPNVGSYQEFFQDGERITSLSLWNGAGTRSGGIRFYTTT
PtIP-96Ac	(51)	GLDSPITYGTPNVGSYQEFFQDGERITSLSLWNGAGTRSGGIRFYTTT
PtIP-96Ad	(51)	GLDSPITYGTPNVGSYQEFFQDGERITSLSLWNGAGTRSGGIRFYTTT
PtIP-96Ae	(51)	GLDSPITYGTPNVGSYQEFFQDGERITSLSLWNGAGTRSGGIRFYTTT
PtIP-96Af	(51)	GLDSPITYGTPNVGSYQEFFQDGERITSLSLWNGAGTRSGGIRFYTTT
PtIP-96Ag	(51)	GLDSPITYGTPNVGSYQEFFQDGERITSLSLWNGAGTRSGGIRFYTTT
PtIP-96Ah	(51)	GLDSPITYGTPNVGSYQEFFQDGERITSLSLWNGAGTRSGGIRFYTTT
	101	150
PtIP-96Aa	(101)	GRRFFHHMTSWGLKQEYPVDVVDGVCVGLTGRQGADIDALGFMLRTMTS
PtIP-96Ab	(101)	GRRFFHHMTSWGLKQEYPVDVVDGVCVGLTGRQGADIDALGFMLRTMTS
PtIP-96Ah	(101)	GRRFFHHMTSWGLKQEYPVDVVDGVCVGLTGRQGADIDALGFMLRTMTS
PtIP-96Ag	(101)	GRRFFHHMTSWGLKQEYPVDVVDGVCVGLTGRQGADIDALGFMLRTMTS
PtIP-96Ac	(101)	GRRFFHHMTSWGLKQEYPVDVVDGVCVGLTGRQGADIDALGFMLRTMTS
PtIP-96Ad	(101)	GRRFFHHMTSWGLKQEYPVDVVDGVCVGLTGRQGADIDALGFMLRTMTS
PtIP-96Ae	(101)	GRRFFHHMTSWGLKQEYPVDVVDGVCVGLTGRQGADIDALGFMLRTMTS
PtIP-96Af	(101)	GRRFFHHMTSWGLKQEYPVDVVDGVCVGLTGRQGADIDALGFMLRTMTS
PtIP-96Ah	(101)	GRRFFHHMTSWGLKQEYPVDVVDGVCVGLTGRQGADIDALGFMLRTMTS
PtIP-96Ag	(101)	GRRFFHHMTSWGLKQEYPVDVVDGVCVGLTGRQGADIDALGFMLRTMTS
	151	200
PtIP-96Aa	(151)	ARMINVKYPTLGLLETAGIVPVTLD FMSDSNNASSISKTWSFQGSREVTVS
PtIP-96Ab	(151)	ARMINVKYPTLGLLETAGIVPVTLD FMSDSNNASSISKTWSFQGSREVTVS
PtIP-96Ah	(151)	ARMINVKYPTLGLLETAGIVPVTLD FMSDSNNASSISKTWSFQGSREVTVS
PtIP-96Ag	(151)	ARMINVKYPTLGLLETAGIVPVTLD FMSDSNNASSISKTWSFQGSREVTVS
PtIP-96Ac	(151)	ARMINVKYPTLGLLETAGIVPVTLD FMSDSNNASSISKTWSFQGSREVTVS
PtIP-96Ad	(151)	ARMINVKYPTLGLLETAGIVPVTLD FMSDSNNASSISKTWSFQGSREVTVS
PtIP-96Ae	(151)	ARMINVKYPTLGLLETAGIVPVTLD FMSDSNNASSISKTWSFQGSREVTVS
PtIP-96Af	(151)	ARMINVKYPTLGLLETAGIVPVTLD FMSDSNNASSISKTWSFQGSREVTVS
PtIP-96Ag	(151)	ARMINVKYPTLGLLETAGIVPVTLD FMSDSNNASSISKTWSFQGSREVTVS
PtIP-96Ah	(151)	ARMINVKYPTLGLLETAGIVPVTLD FMSDSNNASSISKTWSFQGSREVTVS

图2A

		201	250
PtIP-96Aa	(201)	SSWSTTTGIELHASITVSAGIPLVANVEGQYGWAI	STSSTYTTNHSETRT
PtIP-96Ab	(201)	SSWSTTTGIELHASITVSAGIPLVANVEGQYGWAI	STSSTYTTNHSETRT
PtIP-96Ah	(201)	SSWSTTTGIELHASITVSAGIPLVANVEGQYGWAI	STSSTYTTNHSETRT
PtIP-96Ag	(201)	SSWSTTTGIELHASITVSAGIPLVANVEGQYGWG	ISTSSTYTTNHSETRT
PtIP-96Ac	(201)	SSWSTTTGIELHASITVSAGIPLVANVEGQYGWAI	STSSTYTTNHSETRT
PtIP-96Ad	(201)	SSWSTTTGIELHASITVSAGIPLVANVEGQYGWAI	STSSTYTTNHSETRT
PtIP-96Ae	(201)	SSWSTTTGIELHASITVSAGIPLVANVEGQYGWAI	STSSTYTTNHSETRT
PtIP-96Af	(201)	SSWSTTTGIELHASITVSAGIPLVANVEGQYGWAI	STSSTYTTNHSETRT
PtIP-96Ag	(201)	SSWSTTTGIELHASITVSAGIPLVANVEGQYGWG	ISTSSTYTTNHSETRT
PtIP-96Ah	(201)	SSWSTTTGIELHASITVSAGIPLVANVEGQYGWAI	STSSTYTTNHSETRT
		251	300
PtIP-96Aa	(251)	LQWQNSGVLEPGQWISLQALTRRGITITLPYQATM	QITLQNGTVFTYPITA
PtIP-96Ab	(251)	LQWQNSGVLEPGQWISLQALTRRGITITLPYQATM	QITLQNGTVFTYPITA
PtIP-96Ah	(251)	LQWQNSGVLEPGQWISLQALTRRGITITLPYQATM	QITLQNGTVFTYPITA
PtIP-96Ag	(251)	LQWQNSGVLEPGQWISLQALTRRGITITLPYQATM	QITLQNGTVFTYPITA
PtIP-96Ac	(251)	LQWQNSGVLEPGQWISLQALTRRGITITLPYQATM	QITLQNGTVFTYPITA
PtIP-96Ad	(251)	LQWQNSGVLEPGQWISLQALTRRGITITLPYQATM	QITLQNGTVFTYPITA
PtIP-96Ae	(251)	LQWQNSGVLEPGQWISLQALTRRGITITLPYQATM	QITLQNGTVFTYPITA
PtIP-96Af	(251)	LQWQNSGVLEPGQWISLQALTRRGITITLPYQATM	QITLQNGTVFTYPITA
PtIP-96Ag	(251)	LQWQNSGVLEPGQWISLQALTRRGITITLPYQATM	QITLQNGTVFTYPITA
PtIP-96Ah	(251)	LQWQNSGVLEPGQWISLQALTRRGITITLPYQATM	QITLQNGTVFTYPITA
		301	350
PtIP-96Aa	(301)	QYAGVDYTSVEIVSQGTRDLGSDHLAINKDVRY	IAAANGAAVGT'TTTNAP
PtIP-96Ab	(301)	QYAGVDYTSVEIVSQGTRDLGSDHLAINKDVRY	IAAANGGAVGT'TTTNAP
PtIP-96Ah	(301)	QYAGVDYTSVEIVSQGTRDLGSDHLAINKDVRY	IAAANGAAVGT'TTTNAP
PtIP-96Ag	(301)	QYAGVDYTSVEIVSQGTRDLGSDHLAINKDVRY	IAAANGAAVGT'TTTNAP
PtIP-96Ac	(301)	QYAGVDYTSVEIVSQGTRDLGSDHLAINKDVRY	IAAANGAAVGT'TTTNAP
PtIP-96Ad	(301)	QYAGVDYTSVEIVSQGTRDLGSDHLAINKDVRY	IAAANGAAVGT'TTTNAP
PtIP-96Ae	(301)	QYAGVDYTSVEIVSQGTRDLGSDHLAINKDVRY	IAAANGAAVGT'TTTNAP
PtIP-96Af	(301)	QYAGVDYTSVEIVSQGTRDLGSDHLAINKDVRY	IAAANGAAVGT'TTTNAP
PtIP-96Ag	(301)	QYAGVDYTSVEIVSQGTRDLGSDHLAINKDVRY	IAAANGAAVGT'TTTNAP
PtIP-96Ah	(301)	QYAGVDYTSVEIVSQGTRDLGSDHLAINKDVRY	IAAANGAAVGT'TTTNAP
		351	400
PtIP-96Aa	(351)	PHYVHPIRGAPIVEPVKFSVGATYINDTDNITQE	VDTTAATSVEELTLVY
PtIP-96Ab	(351)	PHYVHPIRGAPIVEPVKFSVGATYINDTDNITQE	VDTTAATSVEELTLVY
PtIP-96Ah	(351)	PHYVHPIRGAPIVEPVKFSVGATYINDTDNITQE	VDTTAATSVEELTLVY
PtIP-96Ag	(351)	PHYVHPIRGAPIVEPVKFSVGATYINDTDNITQE	VDTTAATSVEELTLVY
PtIP-96Ac	(351)	PHYVHPIRGAPIVEPVKFSVGATYINDTDNITQE	VDTTAATSVEELTLVY
PtIP-96Ad	(351)	PHYVHPIRGAPIVEPVKFSVGATYINDTDNITQE	VDTTAATSVEELTLVY
PtIP-96Ae	(351)	PHYVHPIRGAPIVEPVKFSVGATYINDTDNITQE	VDTTAATSVEELTLVY
PtIP-96Af	(351)	PHYVHPIRGAPIVEPVKFSVGATYINDTDNITQE	VDTTAATSVEELTLVY
PtIP-96Ag	(351)	PHYVHPIRGAPIVEPVKFSVGATYINDTDNITQE	VDTTAATSVEELTLVY
PtIP-96Ah	(351)	PHYVHPIRGAPIVEPVKFSVGATYINDTDNITQE	VDTTAATSVEELTLVY

图2B

	1	50
PtIP-96Ca	(1) MSTAI FQTPVHVIGGQGGSEFFYNAGASGRILRRIGVWAGRSFLGGIRSW	
PtIP-96Cb	(1) MSTAI FQTPVHVIGGQGGSEFFYNAGASGRILRRIGVWAGRSFLGGIRSW	
PtIP-96Cc	(1) --MSIHFQTPVHVIGGQGGSEFFYNAGASGRILRRIGVWAGRSFLGGIRSW	
PtIP-96Cd	(1) MSTAI FQTPVHVIGGQGGSEFFYNAGASGRILRRIGVWAGRSFLGGIRSW	
PtIP-96Ce	(1) --MSIYQTPVHVIGGQGGSEFFYNAGASGRILRRIGVWAGRSFLGGIRSW	
PtIP-96Cf	(1) --MSIYQTPVHVIGGQGGSEFFYNAGASGRILRRIGVWAGRSFLGGIRSW	
PtIP-96Cg	(1) --MSIYQTPVHVIGGQGGSEFFYNAGASGRILRRIGVWAGRSFLGGIRSW	
PtIP-96Ch	(1) MSTAI FQTPVHVIGGQGGSEFFYNAGASGRILRRIGVWAGRSFLGGIRSW	
	51	100
PtIP-96Ca	(51) WTGLDSPITYGTPNSGSYREFTFEDGERITSLSLWNGIGTRSGGIRFNT	
PtIP-96Cb	(51) WTGLDSPITYGTPNSGSYREFTFEDGERITSLSLWNGIGTRSGGIRFNT	
PtIP-96Cc	(49) WTGLDSPITYGTPNSGSYREFTFEDGERITSLSLWNGIGTRSGGIRFNT	
PtIP-96Cd	(51) WTGLDSPITYGTPNSGSYREFTFEDGERITSLSLWNGIGTRSGGIRFNT	
PtIP-96Ce	(49) WTGLDSPITYGTPNSGSYREFTFEDGERITSLSLWNGIGTRSGGIRFNT	
PtIP-96Cf	(49) WTGLDSPITYGTPNSGSYREFTFEDGERITSLSLWNGIGTRSGGIRFNT	
PtIP-96Cg	(49) WTGLDSPITYGTPNSGSYREFTFEDGERITSLSLWNGIGTRSGGIRFNT	
PtIP-96Ch	(51) WTGLDSPITYGTPNSGSYREFTFEDGERITSLSLWNGIGTRSGGIRFNT	
	101	150
PtIP-96Ca	(101) STGRQFFHHMTSWSLQQEY AIDVASGLCVGLWGRHGVEIDSLGFMFLRPI	
PtIP-96Cb	(101) STGRQFFHHMTSWSLQQEY AIDVASGLCVGLWGRHGVEIDSLGFMFLRPI	
PtIP-96Cc	(99) STGRQFFHHMTSWSLQQEY AIDVASGLCVGLWGRHGVEIDSLGFMFLRPI	
PtIP-96Cd	(101) STGRQFFHHMTSWSLQQEY AIDVASGLCVGLWGRHGVEIDSLGFMFLRPI	
PtIP-96Ce	(99) STGRQFFHHMTSWSLQQEY AIDVASGLCVGLWGRHGVEIDSLGFMFLRPI	
PtIP-96Cf	(99) STGRQFFHHMTSWSLQQEY AIDVASGLCVGLWGRHGVEIDSLGFMFLRPI	
PtIP-96Cg	(99) STGRQFFHHMTSWSLQQEY AIDVASGLCVGLWGRHGVEIDSLGFMFLRPI	
PtIP-96Ch	(101) STGRQFFHHMTSWSLQQEY AIDVASGLCVGLWGRHGVEIDSLGFMFLRPI	
	151	200
PtIP-96Ca	(151) ASARMINVRYPTLGLTAGIVPVTLDMSDSNNSASMPKNWSFQGSRDVT	
PtIP-96Cb	(151) ASARMINVRYPTLGLTAGIVPVTLDMSDSNNSASMPKNWSFQGSRDVT	
PtIP-96Cc	(149) ASARMINVRYPTLGLTAGIVPVTLDMSDSNNSASMPKNWSFQGSRDVT	
PtIP-96Cd	(151) ASARMINVRYPTLGLTAGIVPVTLDMSDSNNSASMPKNWSFQGSRDVT	
PtIP-96Ce	(149) ASARMINVRYPTLGLTAGIVPVTLDMSDSNNSASMPKNWSFQGSRDVT	
PtIP-96Cf	(149) ASARMINVRYPTLGLTAGIVPVTLDMSDSNNSASMPKNWSFQGSRDVT	
PtIP-96Cg	(149) ASARMINVRYPTLGLTAGIVPVTLDMSDSNNSASMPKNWSFQGSRDVT	
PtIP-96Ch	(151) ASARMINVRYPTLGLTAGIVPVTLDMSDSNNSASMPKNWSFQGSRDVT	

图3A

		201		250
PtIP-96Ca	(201)	ISSWSITAGIELHASINVSAGVPMLANVDVQYGWTISSTSSYSTSHSET		
PtIP-96Cb	(201)	ISSWSITAGIELHASINVSAGVPMLANVDVQYGWTISSTSSYSTSHSET		
PtIP-96Cc	(199)	ISSWSITAGIELHASINVSAGVPMLANVDVQYGWTISSTSSYSTSHSET		
PtIP-96Cd	(201)	ISSWSITAGIELHASINVSAGVPMLANVDVQYGWTISSTSSYSTSHSET		
PtIP-96Ce	(199)	ISSWSITAGIELHASINVSAGVPMLANVDVQYGWTISSTSSYSTSHSET		
PtIP-96Cf	(199)	ISSWSITAGIELHASINVSAGVPMLANVDVQYGWTISSTSSYSTSHSET		
PtIP-96Cg	(199)	ISSWSITAGIELHASINVSAGVPMLANVDVQYGWTISSTSSYSTSHSET		
PtIP-96Ch	(201)	ISSWSITAGIELHASINVSAGVPMLANVDVQYGWTISSTSSYSTSHSET		
		251		300
PtIP-96Ca	(251)	RSLSWQNSGVLEPGQWVSLQALTRRGITITLPYQATMQITLQNGVVFTYPI		
PtIP-96Cb	(251)	RSLSWQNSGVLEPGQWVSLQALTRRGITITLPYQATMQITLQNGVVFTYPI		
PtIP-96Cc	(249)	RSLSWQNSGVLEPGQWVSLQALTRRGITITLPYQATMQITLQNGVVFTYPI		
PtIP-96Cd	(251)	RSLSWQNSGVLEPGQWVSLQALTRRGITITLPYQATMQITLQNGVVFTYPI		
PtIP-96Ce	(249)	RSLSWQNSGVLEPGQWVSLQALTRRGITITLPYQATMQITLQNGVVFTYPI		
PtIP-96Cf	(249)	RSLSWQNSGVLEPGQWVSLQALTRRGITITLPYQATMQITLQNGVVFTYPI		
PtIP-96Cg	(249)	RSLSWQNSGVLEPGQWVSLQALTRRGITITLPYQATMQITLQNGVVFTYPI		
PtIP-96Ch	(251)	RSLSWQNSGVLEPGQWVSLQALTRRGITITLPYQATMQITLQNGVVFTYPI		
		301		350
PtIP-96Ca	(301)	AAQYAGVDFTSVEIVSLGTKDVSGHSATNKDVGRIVANGTATTSAPPQY		
PtIP-96Cb	(301)	AAQYAGVDFTSVEIVSLGTKDVSGHSATNKDVGRIVANGTATTSAPPQY		
PtIP-96Cc	(299)	AAQYAGVDFTSVEIVSLGTKDVSGHSATNKDVGRIVANGTATTSAPPQY		
PtIP-96Cd	(301)	AAQYAGVDFTSVEIVSLGTKDVSGHSATNKDVGRIVANGTATTSAPPQY		
PtIP-96Ce	(299)	AAQYAGVDFTSVEIVSLGTKDVSGHSATNKDVGRIVANGTATTSAPPQY		
PtIP-96Cf	(299)	AAQYAGVDFTSVEIVSLGTKDVSGHSATNKDVGRIVANGTATTSAPPQY		
PtIP-96Cg	(299)	AAQYAGVDFTSVEIVSLGTKDVSGHSATNKDVGRIVANGTATTSAPPQY		
PtIP-96Ch	(301)	AAQYAGVDFTSVEIVSLGTKDVSGHSATNKDVGRIVANGTATTSAPPQY		
		351		388
PtIP-96Ca	(351)	VRPVKLSVGATYINDTNNITQEVDSTATSVEELTLMH-		
PtIP-96Cb	(351)	VRPVKLSVGATYINDTNNITQEVDSTATSVEELTLMH-		
PtIP-96Cc	(349)	VRPVKLSVGATYINDTNNITQEVDSTATSVEELTLMH-		
PtIP-96Cd	(351)	VRPVKLSVGATYINDTNNITQEVDSTATSVEELTLVY-		
PtIP-96Ce	(349)	VRPVKLSVGATYINDTNNITQEVDSTATSVEELTLMH-		
PtIP-96Cf	(349)	VRPVKLSVGATYINDTNNITQEVDSTATSVEELTLMH-		
PtIP-96Cg	(349)	VRPVKLSVGATYINDTNNITQEVDSTATSVEELTLMH-		
PtIP-96Ch	(351)	VRPVKLSVGATYINDTNNITQEVDSTATSVEELTLMH-		

图3B

	1	50
PtIP-96Ea	(1) MALYQTPVYVIGGQGGNSFTYDQSRNGKVLTKIGVWAGEWQLRGIRVWMS	
PtIP-96Eb	(1) MALYQTPVYVIGGQGGNSFTYDQSRNGKVLTKIGVWAGEWQLRGIRVWMS	
PtIP-96Ec	(1) MSLVQTPVYVIGGQGGNAFTYDQSRNGRILRRIGVWAGEWQLRGIRVWMT	
PtIP-96Ef	(1) MSLVQTPVYVIGGQGGNAFSYDQSRNGRILRRIGVWAGEWQLRGIRVWMT	
PtIP-96Er	(1) MALYQTPVSIIGGQGGTSFTYDQSPNGKIMRKIGVWAGEWQLRGIRIWS	
PtIP-96Es	(1) MALYQTPVSIIGGQGGTSFTYDQSPNGKIMRKIGVWAGEWQLRGIRIWS	
PtIP-96Et	(1) MALYQTPVYVIGGQGGNSFTYDQSRNGKVLRRIGVWAGEWQLRGIRVWMS	
PtIP-96Ev	(1) MALYQTPVYVIGGQGGNSFTYDQSRNGKVLRRIGVWAGEWQLRGIRVWMS	
PtIP-96Em	(1) MSLVQTPVYVIGGQGGNAFSYDQSRNGRILRRIGVWAGEWQLRGIRVWMT	
PtIP-96Ek	(1) MSLVQTPVYVIGGQGGNAFSYDQSRNGRILRRIGVWAGEWQLRGIRVWMT	
PtIP-96El	(1) MSLVQTPVYVIGGQGGNAFSYDQSRNGRILRRIGVWAGEWQLRGIRVWMT	
PtIP-96Eg	(1) MSLVQTPVYVIGGQGGNAFSYDQSRNGRILRRIGVWAGEWQLRGIRVWMT	
PtIP-96Ej	(1) MSLVQTPVYVIGGQGGNAFTYDQSRNGRILRRIGVWAGEWQLRGIRVWMT	
PtIP-96Ei	(1) MSLVQTPVYVIGGQGGNAFTYDQSRNGRILRRIGVWAGEWQLRGIRVWMT	
PtIP-96Eu	(1) MALYQTPVYVIGGQGGNAFTYDQSRNGRILRRIGVWAGEWQLRGIRVWMT	
PtIP-96Eh	(1) MSLVQTPVYVIGGQGGNAFTYDQSRNGRILRRIGVWAGEWQLRGIRVWMT	
PtIP-96En	(1) MSLVQTPVYVIGGQGGNAFTYDQSRNGRILRRIGVWAGEWQLRGIRVWMT	
PtIP-96Ee	(1) MSLVQTPVYVIGGQGGNAFTYDQSRNGRILRRIGVWAGEWQLRGIRVWMT	

	51	100
PtIP-96Ea	(51) GSDSPTTFGTASGSYSEYTFADGERITRSLWNGAGTRSGAIRFYTTTG	
PtIP-96Eb	(51) GSDSPTTFGTASGSYSEYTFADGERITRSLWNGAGTRSGAIRFYTTTG	
PtIP-96Ec	(51) GTDTPATFGTATGSYSEYTFADGERITRSLWNGAGTRSGGIRFYTTTG	
PtIP-96Ef	(51) GTDTPATFGTATGSYSEYTFADGERITRSLWNGAGTRSGGIRFYTTTG	
PtIP-96Er	(51) GSDDPTTFGTASGSYSEYTFADGETITSLWNGAGTRSGAIRFYTTTG	
PtIP-96Es	(51) GSDDPTTFGTASGSYSEYTFADGETITSLWNGAGTRSGAIRFYTTTG	
PtIP-96Et	(51) GSDSPATFGTASGSYSEYTFADGERITRSLWNGAGTRSGGIRFYTTTG	
PtIP-96Ev	(51) GSDSPATFGTASGSYSEYTFADGERITRSLWNGAGTRSGGIRFYTTTG	
PtIP-96Em	(51) GTDTPATFGTATGSYSEYTFADGERITRSLWNGAGTRSGGIRFYTTTG	
PtIP-96Ek	(51) GTDTPATFGTATGSYSEYTFADGERITRSLWNGAGTRSGGIRFYTTTG	
PtIP-96El	(51) GTDTPATFGTATGSYSEYTFADGERITRSLWNGAGTRSGGIRFYTTTG	
PtIP-96Eg	(51) GTDTPATFGTATGSYSEYTFADGERITRSLWNGAGTRSGGIRFYTTTG	
PtIP-96Ej	(51) GTDTPATFGTATGSYSEYTFADGERITRSLWNGAGTRSGGIRFYTTTG	
PtIP-96Ei	(51) GTDTPATFGTATGSYSEYTFADGERITRSLWNGAGTRSGGIRFYTTTG	
PtIP-96Eu	(51) GTDTPATFGTATGSYSEYTFADGERITRSLWNGAGTRSGGIRFYTTTG	
PtIP-96Eh	(51) GTDTPATFGTATGSYSEYTFADGERITRSLWNGAGTRSGGIRFYTTTG	
PtIP-96En	(51) GTDTPATFGTATGSYSEYTFADGERITRSLWNGAGTRSGGIRFYTTTG	
PtIP-96Ee	(51) GTDTPATFGTATGSYSEYTFADGERITRSLWNGAGTRSGGIRFYTTTG	

图4A

	101	150
PtIP-96Ea	(100)	GSFFPKMTSWDLKTEYPIDVASGLCVGIIGRASADIDSLGFMFLRTIASS
PtIP-96Eb	(100)	GSFFPKMTSWDLKTEYPIDVASGLCVGIIGRASADIDSLGFMFLRTIASS
PtIP-96Ec	(101)	GSFFHKMTSWGLQTEYPIDVASGLCVGIMGRANVDVDSLGVFLFLRTIASA
PtIP-96Ef	(101)	GSFFHKMTSWGLQTEYPIDVASGLCVGIMGRANVDVDSLGVFLFLRTIASA
PtIP-96Er	(101)	GSFFPKMTSWGLKTEYPIDVASGLCVGIMGRAGDDIDALGFLFLRTITSA
PtIP-96Es	(101)	GSFFPKMTSWDLKTEYPIDVASGLCVGIMGRAGDDIDALGFLFLRTITSA
PtIP-96Et	(101)	GSFFAKMTSWGLQTEYPIDVASGLCVGILGRANVDIDSLGFMFLRTIASA
PtIP-96Ev	(101)	GSFFAKMTSWGLQTEYPIDVASGLCVGILGRANVDIDSLGFMFLRTIASA
PtIP-96Em	(101)	GSFFHKMTSWGLQTEYPIDVASGLCVGIMGRANVDVDSLGVFLFLRTIASA
PtIP-96Ek	(101)	GSFFHKMTSWGLQTEYPIDVASGLCVGIMGRANVDVDSLGVFLFLRTIASA
PtIP-96El	(101)	GSFFHKMTSWGLQTEYPIDVASGLCVGIMGRANVDVDSLGVFLFLRTIASA
PtIP-96Eg	(101)	GSFFHKMTSWGLQTEYPIDVASGLCVGIMGRANVDVDSLGVFLFLRTIASA
PtIP-96Ej	(101)	GSFFHKMTSWGLQTEYPIDVASGLCVGIMGRANVDVDSLGVFLFLRTIASA
PtIP-96Ei	(101)	GSFFHKMTSWGLQTEYPIDVASGLCVGIMGRANVDVDSLGVFLFLRTIASA
PtIP-96Eu	(101)	GSFFHKMTSWGLQTEYPIDVASGLCVGIMGRANVDVDSLGVFLFLRTIASA
PtIP-96Eh	(101)	GSFFHKMTSWGLQTEYPIDVASGLCVGIMGRANVDVDSLGVFLFLRTIASA
PtIP-96En	(101)	GSFFHKMTSWGLQTEYPIDVASGLCVGIMGRANVDVDSLGVFLFLRTIASA
PtIP-96Ee	(101)	GSFFHKMTSWGLQTEYPIDVASGLCVGIMGRANVDVDSLGVFLFLRTIASA

	151	200
PtIP-96Ea	(150)	RMINVSYPTLGLQAGIIPVTLDSYNDSSNAGSISKNTWTFSGSRTVTISS
PtIP-96Eb	(150)	RMINVSYPTLGLQAGIIPVTLDSYNDSSNAGSISKNTWTFSGSRTVTISS
PtIP-96Ec	(151)	RMINVSYPTLGLQAGIIPVTLDSFNDSNAGTISKNTWTFSGSRTVTISS
PtIP-96Ef	(151)	RMINVSYPTLGLQAGIIPVTLDSYNDSSNAGTISKNTWTFSGSRTVTISS
PtIP-96Er	(151)	RMINVTYPTLGLEEAAIIPVTLDSYNDANNAGTISKSWTFSGSRTVTVSE
PtIP-96Es	(151)	RMINVTYPTLGLEEAAIIPVTLDSYNDANNAGTISKSWTFSGSRTVTVSE
PtIP-96Et	(151)	RMINVSYPTLGLQAGIIPVTLDSYNDSSNAGTISKNTWTFSGSRTVTISS
PtIP-96Ev	(151)	RMINVSYPTLGLQAGIIPVTLDSYNDSSNAGTISKNTWTFSGSRTVTISS
PtIP-96Em	(151)	RMINVSYPTLGLQAGIIPVTLDSYNDSSNAGTISKNTWTFSGSRTVTISS
PtIP-96Ek	(151)	RMINVSYPTLGLQAGIIPVTLDSYNDSSNAGTISKNTWTFSGSRTVTISS
PtIP-96El	(151)	RMINVSYPTLGLQAGIIPVTLDSFNDSNAGTISKNTWTFSGSRTVTISS
PtIP-96Eg	(151)	RMINVSYPTLGLQAGIIPVTLDSFNDSNAGTISKNTWTFSGSRTVTISS
PtIP-96Ej	(151)	RMINVSYPTLGLQAGIIPVTLDSFNDSNAGTISKNTWTFSGSRTVTISS
PtIP-96Ei	(151)	RMINVSYPTLGLQAGIIPVTLDSFNDSNAGTISKNTWTFSGSRTVTISS
PtIP-96Eu	(151)	RMINVSYPTLGLQAGIIPVTLDSFNDSNAGTISKNTWTFSGSRTVTISS
PtIP-96Eh	(151)	RMINVSYPTLGLQAGIIPVTLDSFNDSNAGTISKNTWTFSGSRTVTISS
PtIP-96En	(151)	RMINVSYPTLGLQAGIIPVTLDSFNDSNAGTISKNTWTFSGSRTVTISS
PtIP-96Ee	(151)	RMINVSYPTLGLQAGIIPVTLDSFNDSNAGTISKNTWTFSGSRTVTISS

图4B

		201	250
PtIP-96Ea	(200)	SWTLTSGIEAHASVTVQAGIPSVAEVSGEFGWSVSVSGSYTSTQEE	SRTL
PtIP-96Eb	(200)	SWTLTSGIEAHASVTVQAGIPSVAEVSGEFGWSVSVSGSYTSTQEE	SRTL
PtIP-96Ec	(201)	SWSLTSGIETHASVSVQAGIPMVAEVS	SGEFGWSVSVSGTYATTQEE
PtIP-96Ef	(201)	SWSLTSGIETHASVSVQAGIPMVAEVS	SGEFGWSVSVSGTYATTQEE
PtIP-96Er	(201)	SWILTAGIEVHATVSVQAGIPLVAEVN	GEYGWSLSTTG
PtIP-96Es	(201)	SWILTAGIEVHATVSVQAGIPLVAEVN	GEYGWSLSTTG
PtIP-96Et	(201)	SWTLTSGIEAHATVSVQAGIPLVAEVS	GEFGWSLSTTG
PtIP-96Ev	(201)	SWTLTSGIEAHATVSVQAGIPLVAEVS	GEFGWSLSTTG
PtIP-96Em	(201)	SWSLTSGIETHASVSVQAGIPMVAEVS	SGEFGWSVSVSGTYATTQEE
PtIP-96Ek	(201)	SWSLTSGIETHASVSVQAGIPMVAEVS	SGEYGWSVSVSGTYATTQEE
PtIP-96El	(201)	SWSLTSGIETHASVSVQAGIPMVAEVS	SGEYGWSVSVSGTYATTQEE
PtIP-96Eg	(201)	SWSLTSGIETHASVSVQAGIPMVAEVS	SGEYGWSVSVSGTYATTQEE
PtIP-96Ej	(201)	SWSLTSGIETHASVSVQAGIPMVAEVS	SGEYGWSVSVSGTYATTQEE
PtIP-96Ei	(201)	SWSLTSGIETHASVSVQAGIPMVAEVS	SGEYGWSVSVSGTYATTQEE
PtIP-96Eu	(201)	SWSLTSGIETHASVSVQAGIPMVAEVS	SGEYGWSVSVSGTYATTQEE
PtIP-96Eh	(201)	SWSLTSGIETHASVSVQAGIPMVAEVS	SGEYGWSVSVSGTYATTQEE
PtIP-96En	(201)	SWSLTSGIETHASVSVQAGIPMVAEVS	SGEYGWSVSVSGTYATTQEE
PtIP-96Ee	(201)	SWSLTSGIETHASVSVQAGIPMVAEVS	SGEYGWSVSVSGTYATTQEE

		251	300
PtIP-96Ea	(250)	TWNQSGTLEPGQWISLQATRRGTITL	PYQGTMEITLQSGTVFQYPISSM
PtIP-96Eb	(250)	TWNQSGTLEPGQWISLQATRRGTITL	PYQGTMEITLQSGTVFQYPISSM
PtIP-96Ec	(251)	TWNQSGTLEPGQWISLQATRRGTITL	PFQATMEITLQSGTIFQYAISSM
PtIP-96Ef	(251)	TWNQSGTLEPGQWISLQATRRGTITL	PFQATMEITLQSGTIFQYAISSM
PtIP-96Er	(251)	SWNQSGTLEPGQWISLQATRRGTITL	PYQGTMEITLQSGTKFQYPISSM
PtIP-96Es	(251)	SWNQSGTLEPGQWISLQATRRGTITL	PYQGTMEITLQSGTKFQYPISSM
PtIP-96Et	(251)	TWNQSGTLEPGQWISLQATRRGTITL	PYQGTMEITLQSGTVFQYPISSM
PtIP-96Ev	(251)	TWNQSGTLEPGQWISLQATRRGTITL	PYQGTMEITLQSGTVFQYPISSM
PtIP-96Em	(251)	TWNQSGTLEPGQWISLQATRRGTITL	PFQATMEITLQSGTIFQYAISSM
PtIP-96Ek	(251)	AWDQSGTLQPGQWISLQATRRGTITL	PFQATMEITLQSGTIFQYAISSM
PtIP-96El	(251)	AWDQSGTLQPGQWISLQATRRGTITL	PFQATMEITLQSGTIFQYAISSM
PtIP-96Eg	(251)	AWDQSGTLQPGQWISLQATRRGTITL	PFQATMEITLQSGTIFQYAISSM
PtIP-96Ej	(251)	AWDQSGTLQPGQWISLQATRRGTITL	PFQATMEITLQSGTIFQYAISSM
PtIP-96Ei	(251)	AWDQSGTLQPGQWISLQATRRGTITL	PFQATMEITLQSGTIFQYAISSM
PtIP-96Eu	(251)	AWDQSGTLQPGQWISLQATRRGTITL	PFQATMEITLQSGTIFQYAISSM
PtIP-96Eh	(251)	AWDQSGTLQPGQWISLQATRRGTITL	PFQATMEITLQSGTIFQYAISSM
PtIP-96En	(251)	AWDQSGTLQPGQWISLQATRRGTITL	PFQATMEITLQSGTIFQYAISSM
PtIP-96Ee	(251)	AWDQSGTLQPGQWISLQATRRGTITL	PFQATMEITLQSGTIFQYAISSM

图4C

	301	350
PtIP-96Ea	(300) YSGVDYTSVDITNTGTRALKQVEVQATDQOSQ-EGDHNVPDPKEVEERKV	
PtIP-96Eb	(300) YSGVDYTSVDITNTGTRALKQVEVQATDQOSQ-EGDHNVPDPKEVEERKV	
PtIP-96Ec	(301) YSGVDYTSVDITNTGTRASDHVEVEATEQQVQGVKDQSVQPNKEAKECTL	
PtIP-96Ef	(301) YSGVDYTSVDITNTGTRASDHVEVEATEQQVQGVKDQSVQPNKEAKECTL	
PtIP-96Er	(301) YTGVDYTSVDIVSIGSRVLNQAKVEATNKKAL-EGDPNVQPSKEVQECKL	
PtIP-96Es	(301) YTGVDYTSVDIVSIGSRVLNQAKVEATNKKAL-EGDPNVQPSKEVQECKL	
PtIP-96Et	(301) YAGVDYTSVDITNTGTRALNRVETEAIQQAR-EGDQNVQPSKDVQECKL	
PtIP-96Ev	(301) YAGVDYTSVDITNTGTRALNRVETEAIQQAR-EGDQNVQPSKDVQECKL	
PtIP-96Em	(301) YSGVDYTSVDITNTGSRALDQVEVKTEQQVEGVEDQNVQPNKEAKECTL	
PtIP-96Ek	(301) YSGVDYTSVDITNTGSRALDQVEVKTEQQVEGVEDQNVQPNKEAKECTL	
PtIP-96El	(301) YSGVDYTSVDITNTGSRALDQVEVKTEQQVEGVEDQNVQPNKEAKECTL	
PtIP-96Eg	(301) YSGVDYTSVDITNTGSRALDQVEVKTEQQVEGVEDQNVQPNKEAKECTL	
PtIP-96Ej	(301) YSGVDYTSVDITNTGSRALDQVEVKTEQQVEGVEDQNVQPNKEAKECTL	
PtIP-96Ei	(301) YSGVDYTSVDITNTGSRALDQVEVKTEQQVEGVEDQNVQPNKEAKECTL	
PtIP-96Eu	(301) YSGVDYTSVDITNTGSRALDQVEVKTEQQVEGVEDQNVQPNKEAKECTL	
PtIP-96Eh	(301) YSGVDYTSVDITNTGSRALDQVEVKTEQQVEGVEDQNVQPNKEAKECTL	
PtIP-96En	(301) YSGVDYTSVDITNTGSRALDQVEVKTEQQVEGVEDQNVQPNKEAKECTL	
PtIP-96Ee	(301) YSGVDYTSVDITNTGSRALDQVEVKTEQQVEGVEDQNVQPNKEAKECTL	

351

PtIP-96Ea	(350) LFTE-----
PtIP-96Eb	(350) LFTE-----
PtIP-96Ec	(351) LFAE-----
PtIP-96Ef	(351) LFAE-----
PtIP-96Er	(350) LYIE-----
PtIP-96Es	(350) LYIE-----
PtIP-96Et	(350) LFTD-----
PtIP-96Ev	(350) LFND-----
PtIP-96Em	(351) LFAE-----
PtIP-96Ek	(351) LFAE-----
PtIP-96El	(351) LFAE-----
PtIP-96Eg	(351) LFAE-----
PtIP-96Ej	(351) LFAE-----
PtIP-96Ei	(351) LFAE-----
PtIP-96Eu	(351) LFAEGAAYPY
PtIP-96Eh	(351) LFAE-----
PtIP-96En	(351) LFAE-----
PtIP-96Ee	(351) LFAE-----

图4D

		1	50
PtIP-96Eo	(1)	MSIYQTPVSVIGGTGGSFAFSYNAGASGRILRKIGVWAGGWYLGIRVWWT	
PtIP-96Ep	(1)	MSIYQTPVSVIGGTGGSFAFSYNAGASGRILRKIGVWAGGWYLGIRVWWT	
PtIP-96Eq	(1)	MSIYQTPVSVIGGTGGSFAFSYNAGASGRILRKIGVWAGGWYLGIRVWWT	
		51	100
PtIP-96Eo	(51)	GLDTPSTFGTANVGSYKEYTFEDGERITSLSLWNGAGTRSGGIRFRITTK	
PtIP-96Ep	(51)	GLDTPSTFGTANVGSYKEYTFEDGERITSLSLWNGAGTRSGGIRFRITTK	
PtIP-96Eq	(51)	GLDTPSTFGTANVGSYKEYTFEDGERITSLSLWNGAGTRSGGIRFRITTK	
		101	150
PtIP-96Eo	(101)	GSEFFHYMTSWGLKQEYPM DVASGLCVGVIGRHGEHIDSLGFMFLRSIAS	
PtIP-96Ep	(101)	GSEFFHYMTSWGLKQEYPM DVASGLCVGVIGRHGEHIDSLGFMFLRSIAS	
PtIP-96Eq	(101)	GSEFFHYMTSWGLKQEYPM DVASGLCVGVIGRHGEHIDSLGFMFLRSIAS	
		151	200
PtIP-96Eo	(151)	ARMINVSYPTLALETAGIVPVTLD SLTDN NNAGTI AKNWALRGSREVTMS	
PtIP-96Ep	(151)	ARMINVSYPTLALETAGIVPVTLD SLTDN NNAGTI AKNWALRGSREVTMS	
PtIP-96Eq	(151)	ARMINVSYPTLALETAGIVPVTLD SLTDN NNAGTI AKNWALRGSREVTMS	
		201	250
PtIP-96Eo	(201)	STWSVTSGIELYASVTVTAGVPTVAEVQGEFGWKVSTSATYSTTYQETRS	
PtIP-96Ep	(201)	STWSVTSGIELYASVTVTAGVPTVAEVQGEFGWKVSTSATYSTTYQETRS	
PtIP-96Eq	(201)	STWSVTSGIELYASVTVTAGVPTVAEVQGEFGWKVSTSATYSTTYQETRS	
		251	300
PtIP-96Eo	(251)	LQWEQSGVLQPGEWISI QALTRRGTISL PYQGTMQITLQSGTVFTYPISA	
PtIP-96Ep	(251)	LQWEQSGVLQPGEWISI QALTRRGTISL PYQGTMQITLQSGTVFTYPISA	
PtIP-96Eq	(251)	LQWEQSGVLQPGEWISI QALTRRGTISL PYQGTMQITLQSGTVFTYPISA	
		301	350
PtIP-96Eo	(301)	LYAGVDYTSVEIVNLGTYVSSNNIS-GEAIPRQLPVSSFSLPATNIANGA	
PtIP-96Ep	(301)	LYAGVDYTSVEIVNLGTYVSSNNIS-GEAIPRQLPVSSFSLPATNIANGA	
PtIP-96Eq	(301)	LYAGVDYTNVEIVNLGTYVSSNNISAGEFIPRQP----ISLPAATTNTNA	
		351	400
PtIP-96Eo	(350)	AWAGANANGALAAGTRALINGEPIKPHYSNVLPHLTLTPQDQDHQLSVIK	
PtIP-96Ep	(350)	AWAGANANGALAAGTRALINGEPIKPHYSNVLPHLTLTPQDQDHQLSVIK	
PtIP-96Eq	(347)	NGAWTNAG-ALAGTTRAVINEEPIKPHYT-----SNQDQDHQLSVIK	
		401	434
PtIP-96Eo	(400)	PHYK--NILELVHLLDWPT-----	
PtIP-96Ep	(400)	PHYK--NILDGDNTNYQPQPQPQGVVEERTLVL-	
PtIP-96Eq	(386)	PHYKNINIQDGDNTTYQPQ----GVVEERSLVF-	

图5

	1	50
PtIP-96Ha	(1)	MQYGLANTEASPLIEKFQALMEGGIDESILATKLVGAEGDASHLPPPGET
PtIP-96Hb	(1)	MQYGLANMEASPLIEKFQSLMEGGIDESILATKLVGAEGDASHLPPPGET
PtIP-96Hc	(1)	MQYGRANMEASPLIEKFQSLMEGGIDESILATKLVGAEGDASHLPPPGET
PtIP-96Hd	(1)	MQYGLANTEASPLIEKFQALMEGGIDESILATKLVGAEGDASRVPPPGET
PtIP-96Hf	(1)	MQYGLANTEASPLIEKFQALMEGGIDESILATKLVGAEGDASRVPPPGET
PtIP-96Hg	(1)	MQYGLANTEASPLIEKFQALMEGGIDESILATKLVGAEGDASRVPPPGET
PtIP-96Hh	(1)	MQYGLANMEASPLIEKFQSLMEGGIDESILATKLVGAEGDASHLPPPGET
PtIP-96Hi	(1)	MQYGLANMEASPLIEKFQSLMEGGIDESILATKLVGAEGDASHLPPPGET
PtIP-96He	(1)	MQYGLANTEASPLIEKFQALMEGGIDESILATKLVGAEGDASHLPPPGET
PtIP-96Hj	(1)	MQYGLANTEASPLIEKFQALMEGGIDESILATKLVGAEGDASHLPPPGET
	51	100
PtIP-96Ha	(51)	PSEDGAGKDPNPESLETEDVEEHADDSKARSAS-VTAPLRFIGGPGGSQR
PtIP-96Hb	(51)	PSEDGAGKDPNPESLETEDVEEHADDSKARSAS-VMAPLRFIGGPGGSQR
PtIP-96Hc	(51)	PSEDGAGKDPNPESLETEDVEEHADDSKARSAS-VTAPLRFIGGTGGSQR
PtIP-96Hd	(51)	PSEDGAGKDPNPESLETEDVEEHADDSKARSAS-VTAPLRFIGGTGGSQR
PtIP-96Hf	(51)	PGEDGAGKDPNPESLETEDVEEHADDSKARSAS-VTAPLRFIGGPGGSQR
PtIP-96Hg	(51)	PGEDGAGKDPNPESLETEDVEEHADDSKARSAS-VTAPLRFIGGPGGSQR
PtIP-96Hh	(51)	PSEDGAGKDPNPESLETEDVEEHADDSKARSAS-VTAPLRFIGGPGGSQR
PtIP-96Hi	(51)	PSEDGAGKDPNPESLETEDVEEHADDSKARSAS-VTAPLRFIGGPGGSQR
PtIP-96He	(51)	PSEDGAGKDPNPESLETEDVEEHADDSKARSASSVTAPLRFIGGTGGSQR
PtIP-96Hj	(51)	PSEDGAGKDPNPESLETEDVEEHADDSKARSASSVTAPLRFIGGTGGSQR
	101	150
PtIP-96Ha	(100)	SVRGWTNGRVITRMRVYRARGTIKAYQIWLTD SAPQTHGVPGNSDFAEYT
PtIP-96Hb	(100)	SVRGWTNGRVITRMRVYRARGTIKAYQIWLTD SAPQTHGVPGNSDFAEYT
PtIP-96Hc	(100)	SVRGWTNGRVITRMRVYRARGTIKAYRIWLTD SGPETHGVPGNSDFAEYT
PtIP-96Hd	(100)	SVRGWTNGRVITRMRVYRARGTIKAYRIWLTD SGPETHGVPGNSDFAEYT
PtIP-96Hf	(100)	SVRGWTNGRVITRMRVYRARGTIKAYQIWLTD SGPETHGVPGNSDFAEYT
PtIP-96Hg	(100)	SVRGWTNGRVITRMRVYRARGTIKAYQIWLTD SGPETHGVPGNSDFAEYT
PtIP-96Hh	(100)	SVRGWTNGRVITRMRVYRARGTIKAYQIWLTD SAPQTHGVPGNSDFAEYT
PtIP-96Hi	(100)	SVRGWTNGRVITRMRVYRARGTIKAYQIWLTD SGPETHGVPGNSDFAEYT
PtIP-96He	(101)	SVRGWTNGRVITRMRVYRARGTIKAYRIWLTD SGPETHGVPGNSDFAEYT
PtIP-96Hj	(101)	SVRGWTNGRVITRMRVYRARGTIKAYRIWLTD SGPETHGVPGNSDFAEYT
	151	200
PtIP-96Ha	(150)	FRTGERLTRLTLWGNGMGTRAGWIEFETSLGGRFSYGMSHWSLRTYPVD
PtIP-96Hb	(150)	FRTGERLTRLTLWGNGMGTRAGWIEFETSLGGRFSYGMSHWSLRTYPVD
PtIP-96Hc	(150)	FRTGERLTRLTLWGNGIGTRAGWIEFETSLGGRFSYGMSHWSLRTYPVD
PtIP-96Hd	(150)	FRTGERLTRLTLWGNGIGTRAGWIEFETSLGGRFSYGMSHWSLRTYPVD
PtIP-96Hf	(150)	FRTGERLTRLTLWGNGIGTRAGWIEFETSLGGRFSYGMSHWSLRTYPVD
PtIP-96Hg	(150)	FRTGERLTRLTLWGNGIGTRAGWIEFETSLGGRFSYGMSHWSLRTSYPVD
PtIP-96Hh	(150)	FRTGERLTRLTLWGNGMGTRAGWIEFETSLGGRFSYGMSHWSLRTYPVD
PtIP-96Hi	(150)	FRTGERLTRLTLWGNGIGTRAGWIEFETSLGGRFSYGMSHWSLRTYPVD
PtIP-96He	(151)	FRTGERLTRLTLWGNGIGTRAGWIEFETSLGGRFSYGMSHWSLRTYPVD
PtIP-96Hj	(151)	FRTGERLTRLTLWGNGIGTRAGWIEFETSLGGRFSYGMSHWSLRTYPVD

图6A

		201	250
PtIP-96Ha	(200)	VGSGILVGYIFNAGEDVDAHGFWFLNHIEQAELTNVRYPTLGFDTAGIVP	
PtIP-96Hb	(200)	VGSGILVGYIFNAGEDVDAHGFWFLNHIEQAELTNVRYPTLGFDTAGIVP	
PtIP-96Hc	(200)	VGSGILVGYIFNAGEDVDAHGFWFLNHIEQAELTNVRYPTLGFDTAGIVP	
PtIP-96Hd	(200)	VGSGILVGYIFNAGEDVDAHGFWFLNHIEQAELTNVRYPTLGFDTAGIVP	
PtIP-96Hf	(200)	VGSGILVGYIFNAGEDVDAHGFWFLNHIEQAELTNVRYPTLGFDTAGIVP	
PtIP-96Hg	(200)	VGSGILVGYIFNAGEDVDAHGFWFLNHIEQAELTNVRYPTLGFDTAGIVP	
PtIP-96Hh	(200)	VGSGILVGYIFNAGEDVDAHGFWFLNHIEQAELTNVRYPTLGFDTAGIVP	
PtIP-96Hi	(200)	VGSGILVGYIFNAGEDVDAHGFWFLNHIEQAELTNVRYPTLGFDTAGIVP	
PtIP-96He	(201)	VGSGILVGYIFNAGEEVDAGHFWFLNHIEQAELTNVRYPTLGFDTAGIVP	
PtIP-96Hj	(201)	VGSGILVGYIFNAGEEVDAGHFWFLNHIEQAELTNVRYPTLGFDTAGIVP	
		251	300
PtIP-96Ha	(250)	TALDTFRFRNNSSTPRDWD FSRNMSRSTERTWSITVDLTVHASITVSAGF	
PtIP-96Hb	(250)	TALDTFRFRNNSSTPRDWD FSRNMSRSTERTWSITVDLTVHASITVSAGF	
PtIP-96Hc	(250)	TALDTFRFRNNSSTPRDWD FSRNMSRSTERTWSITVDLTVHASITVSAGF	
PtIP-96Hd	(250)	TALDTFRFRNNSSTPRDWD FSRNMSRSTERTWSITVDLTVHASITVSAGF	
PtIP-96Hf	(250)	TALDTFRFRNNSSTPRDWD FSRNMSRSTERTWSITVDLTVHASITVSAGF	
PtIP-96Hg	(250)	TALDTFRFRNNSSTPRDWD FSRNMSRSTERTWSITVDLTVHASITVSAGF	
PtIP-96Hh	(250)	TALDTFRFRNNSSTPRDWD FSRNMSRSTERTWSITVDLTVHASITVSAGF	
PtIP-96Hi	(250)	TALDTFRFRNNSSTPRDWD FSRNMSRSTERTWSITVDLTVHASITVSAGF	
PtIP-96He	(251)	TALDTFRFRNNSSTPRDWD FSRNMSRSTERTWSITVDLTVHASITVSAGF	
PtIP-96Hj	(251)	TALDTFRFRNNSSTPRDWD FSRNMSRSTERTWSITVDLTVHASITVSAGF	
		301	350
PtIP-96Ha	(300)	PGIANVSGQYGWEIGATGHFETTETSEHDLWSVSGRVQPGDVVDLTALT	
PtIP-96Hb	(300)	PGIANVSGQYGWEIGATGHFETTETSEHDLWSVSGRVQPGDVVDLTALT	
PtIP-96Hc	(300)	PGIANVSGQYGWEIGATGHFETTETSEHDLWSVSGRVQPGDVVDLTALT	
PtIP-96Hd	(300)	PGIANVSGQYGWEIGATGHFETTETSEHDLWSVSGRVQPGDVVDLTALT	
PtIP-96Hf	(300)	PGIANVSGQYGWEIGATGHFETTETSEHDLWSVSGRVQPGDVVDLTALT	
PtIP-96Hg	(300)	PGIANVSGQYGWEIGATGHFETTETSEHDLWSVSGRVQPGDVVDLTALT	
PtIP-96Hh	(300)	PGIANVSGQYGWEIGATGHFETTETSEHDLWSVSGRVQPGDVVDLTALT	
PtIP-96Hi	(300)	PGIANVSGQYGWEIGATGHFETTETSEHDLWSVSGRVQPGDVVDLTALT	
PtIP-96He	(301)	PGIANVSGQYGWEIGATGHFETTETSEHDLWSVSGRVQPGDVVDLTALT	
PtIP-96Hj	(301)	PGIANVSGQYGWEIGATGHFETTETSEHDLWSVSGRVQPGDVVDLTALT	
		351	396
PtIP-96Ha	(350)	RTGTLNIPYEGTMVVRMRNGASF SYAVRGTYRGLSYTGTKINDNST	
PtIP-96Hb	(350)	RTGTLNIPYEGTMVVRMRNGASF SYAVRGTYRGLSYTGTKINDNST	
PtIP-96Hc	(350)	RTGTLNIPYEGTMVVRMRNGASF SYAVRGTYRGLSYTGTKINDNST	
PtIP-96Hd	(350)	RTGTLNIPYEGTMVVRMRNGASF SYAVRGTYRGLSYTGTKINDNST	
PtIP-96Hf	(350)	RTGTLNIPYEGTMVVRMRNGASF SYAVRGTYRGLSYTGTKINDNST	
PtIP-96Hg	(350)	RTGTLNIPYEGTMVVRMRNGASF SYAVRGTYRGLSYTGTKINDNST	
PtIP-96Hh	(350)	RTGTLNIPYEGTMVVRMRNGASF SYAVRGTYRGLSYTGTKINDNST	
PtIP-96Hi	(350)	RTGTLNIPYEGTMVVRMRNGASF SYAVRGTYRGLSYTGTKINDNST	
PtIP-96He	(351)	RTGTLNIPYEGTMVVRMRNGASF SYAVRGTYRGLSYTGTKINDNST	
PtIP-96Hj	(351)	RTGTLNIPYEGTMVVRMRNGASF SYAVRGTYRGLSYTGTKINDNST	

图6B

		1	50
PtIP-96Da	(1)	--MSIVQSP	IHVIGGSGGSAFSYNAGTNGRILRRIGVWAGGWFLGGIRAW
PtIP-96De	(1)	--MSIYQTPVSLIGGQGGTAFTYNAGESGRVLR	RIGVWAVDSALRGIRVW
PtIP-96Df	(1)	MSTAI	FQTPVSLIGGQGGTAFTYNAGESGRVLR
PtIP-96Dc	(1)	--MSIFQTPVHVIGGQGGGAFSYNAGASGRVLR	RIGVWAGGWYLGIRLW
PtIP-96Db	(1)	--MSIFQTPVHVIGGQGGGAFSYNAGASGRVLR	RIGVWAGGWYLGIRLW
PtIP-96Dd	(1)	--MSIFQTPVHVIGGQGGGAFSYNAGASGRVLR	RIGVWAGGWYLGIRLW
		51	100
PtIP-96Da	(49)	WTGLDNPVLFGTANVGSYKEFTFEDGERITSLSLW	GNGAGTRSGGIRFRT
PtIP-96De	(49)	WTGLDSPLTYGTANSIFYKEFSFQVGERITSLSLW	GNGAGTRSGAIRFYT
PtIP-96Df	(51)	WTGLDSPLTYGTANSIFYKEFSFQVGERITSLSLW	GNGAGTRSGAIRFYT
PtIP-96Dc	(49)	WTGLDDSIYGTANSYSYREFTFEDGERITSLSLW	GNGAGTRSGGIRFRT
PtIP-96Db	(49)	WTGLDDSIYGTANSYSYREFTFEDGERITSLSLW	GNGAGTRSGGIRFRT
PtIP-96Dd	(49)	WTGLDDSIYGTANSYSYREFTFEDGERITSLSLW	GNGAGTRSGGIRFRT
		101	150
PtIP-96Da	(99)	TTGREFFHYMTSWGLKQEQYPIDVASGLCVGLIGR	HGEHIDSLGFMFLRSI
PtIP-96De	(99)	STGREFFHYMTSWGLKQEQYPIDVVDGLCVGVTGR	HGTIDIDALGFMFLRTM
PtIP-96Df	(101)	STGREFFHYMTSWGLKQEQYPIDVVDGLCVGVTGR	HGTIDIDALGFMFLRTM
PtIP-96Dc	(99)	TGGREFFHYMTSWGLQEQYPIDVASGLCVGVIGR	HGDHIDSLGFMFLRTI
PtIP-96Db	(99)	TGGREFFHYMTSWGLQEQYPIDVASGLCVGVIGR	HGDHIDSLGFMFLRTI
PtIP-96Dd	(99)	TGGREFFHYMTSWGLQEQYPIDVASGLCVGVIGR	HGDHIDSLGFMFLRTI
		151	200
PtIP-96Da	(149)	ASARMINVSYPTLGLTAGIVPVTLDSMSNNNSGSL	PSNWAFRGSREVT
PtIP-96De	(149)	TSARMVDVTYPTLGFDTAGIAPITLDSYSDANQSG	SISKNWSFEGSREVT
PtIP-96Df	(151)	TSARMVDVTYPTLGFDTAGIAPITLDSYSDANQSG	SISKNWSFEGSREVT
PtIP-96Dc	(149)	ASARMINVSYPTLDLETAGIVPVTLDSMSDSNNA	GTSIKNWTFGGSRSVT
PtIP-96Db	(149)	ASARMINVSYPTLDLETAGIVPVTLDSMSDSNNA	GTSIKNWTFGGSRSVT
PtIP-96Dd	(149)	ASARMINVSYPTLDLETAGIVPVTLDSMSDSNNA	GTSIKNWTFGGSRSVT
		201	250
PtIP-96Da	(199)	MSSTWSVTAGIELHASVTVTAGIPTVAEVQGOY	GWAVSTSSSTFSTHTET
PtIP-96De	(199)	VSSSWSVTAGIEFHASVTVSAGIPLVLDVDGEFG	WAIASATYTTNSSET
PtIP-96Df	(201)	VSSSWSVTAGIEFHASVTVSAGIPLVLDVDGEFG	WAIASATYTTNSSET
PtIP-96Dc	(199)	ISSSWAITAGIELHASITVTAGIPTVAEVQGEY	GWSISSSSTYTTTSHEET
PtIP-96Db	(199)	ISSSWAITAGIELHASITVTAGIPTVAEVQGEY	GWSISSSSTYTTTSHEET
PtIP-96Dd	(199)	ISSSWAITAGIELHASITVTAGIPTVAEVQGEY	GWSISSSSTYTTTSHEET

图7A

		251	300
PtIP-96Da	(249)	RSLQWEVSGVLQPGEWISLQALTRRGVISLPHYQATMQITLQNGAVFTYPI	
PtIP-96De	(249)	RTLKWNSGVLEPGQWISLQAVTRKGTINIPYQANMQITLQNGVIFTYAL	
PtIP-96Df	(251)	RTLKWNSGVLEPGQWISLQAVTRKGTINIPYQANMQITLQNGVIFTYAL	
PtIP-96Dc	(249)	RTLSWENSGVLQPGEWISLQALTRRGVISLPHYQATMQITLQNGALFTYPI	
PtIP-96Db	(249)	RTLSWENSGVLQPGEWISLQALTRRGVISLPHYQATMQITLQNGALFTYPI	
PtIP-96Dd	(249)	RTLSWENSGVLQPGEWISLQALTRRGVISLPHYQATMQITLQNGALFTYPI	
		301	350
PtIP-96Da	(299)	TAMYAGVDYTSVELVHLLDWPT-----	
PtIP-96De	(299)	AGQYAGVDYTDVQVVNDGTKNAGHVSTTAAKGTGTTAARMGALANSVR	
PtIP-96Df	(301)	AGQYAGVDYTDVQVVNDGTKNAGHVSTTAAKGTGTTAARMGALANSVR	
PtIP-96Dc	(299)	TALYAGVDYTNVQIVSTGTRHLDYDHVRSAGGRRLVSAISNKGSLPTAAT	
PtIP-96Db	(299)	TALYAGVDYTNVQIVSTGTRHLDYDHVRSAGGRRLVSAISNKGSLPTAAT	
PtIP-96Dd	(299)	TALYAGVDYTNVQIVSTGTRHLDYDHVRSAGGRRLVSAISNKGSLPTAAT	
		351	400
PtIP-96Da	(321)	-----	
PtIP-96De	(349)	HVRAASI PRPVKFSAGATYINDTTNNITQEVHSSAPTGVEELTLVY----	
PtIP-96Df	(351)	HVRAASI PRPVKFSAGATYINDTTNNITQEVHSSAPTGVEELTLVY----	
PtIP-96Dc	(349)	TSVIAPPRYVHPVNI PAVLYTSVIEPVKVVATRAAPTSINDDNIKQEPLV	
PtIP-96Db	(349)	TSVIAPPRYVHPVNI PAVPYTSVIEPVKVVATRAAPTSINDDNIKQEPLV	
PtIP-96Dd	(349)	TSVIAPPRYVHPVNI PAVPYTSVIEPVKVVATRAAPTSINDDNIKQEPLV	
		401	
PtIP-96Da	(321)	-----	
PtIP-96De	(395)	-----	
PtIP-96Df	(397)	-----	
PtIP-96Dc	(399)	ATEERTLVY-	
PtIP-96Db	(399)	ATEERTLVY-	
PtIP-96Dd	(399)	ATEERTLVY-	

图7B