



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 108624616 A

(43)申请公布日 2018.10.09

(21)申请号 201810219447.6

(22)申请日 2018.03.16

(30)优先权数据

62/472,669 2017.03.17 US

(71)申请人 中央研究院

地址 中国台湾台北市

(72)发明人 贺端华 余淑美 曾怡洁 罗舜芳

(74)专利代理机构 北京戈程知识产权代理有限公司 11314

代理人 程伟

(51)Int.Cl.

C12N 15/82(2006.01)

权利要求书1页 说明书20页  
序列表14页 附图5页

(54)发明名称

增进植物逆境耐受性的方法

(57)摘要

本发明涉及增进植物逆境耐受性的方法,具体涉及一种通过将编码重复脯氨酸富集蛋白(RePRP)的多核苷酸引入植物中来增进植物逆境耐受性和/或防止植物生长减少的方法。

1. 一种增进植物逆境耐受性和/或防止植物生长减损的方法,包括:

(a) 用包含与启动子可操作连接的核酸的载体转化植物细胞,以获得表达重复脯氨酸富集蛋白(RePRP)的重组植物细胞,其中所述核酸编码RePRP蛋白;

(b) 培养(a)中获得的重组植物细胞,以产生多数转基因植物;和

(c) 选择来自(b)中产生的多数转基因植物中的转基因植物,所述转基因植物显示增进的对逆境的耐受性或基本上无生长减少或其组合,当与在相同条件下生长的非转基因植物对应者相比较时而言。

2. 如权利要求1所述的方法,其中所述转基因植物表现较少的产量减损,当与非转基因植物对应者相比较时而言。

3. 如权利要求1所述的方法,所述REPRP蛋白包含SEQ ID NO:1、2、3或4的氨基酸序列。

4. 如权利要求1所述的方法,其中所述启动子对编码RePRP蛋白的天然存在的基因是异源的。

5. 如权利要求1所述的方法,其中所述启动子是组成型(constitutive)启动子或诱导型(inducible)启动子。

6. 如权利要求5所述的方法,其中启动子是选自由玉米泛素(Ubi)启动子、稻肌动蛋白(Act1)启动子和花椰菜花叶病毒35S(CaMV35S)启动子所组成的群组的组成型(constitutive)启动子。

7. 如权利要求5所述的方法,其中所述启动子是选自由拟南芥cor1 SA启动子、拟南芥kin1启动子、拟南芥热休克因子(HSF)启动子、拟南芥kin1启动子、拟南芥rd29A启动子、 $\alpha$ -淀粉酶启动子的诱导型启动子和合成的ABRC321启动子所组成的群组的诱导型(inducible)启动子。

8. 如权利要求7所述的方法,其中所述诱导型启动子是3XABRC321。

9. 如权利要求1所述的方法,其中所述载体包含SEQ ID NO:12、13或14。

10. 如权利要求1所述的方法,其中所述转基因植物是单子叶植物。

11. 如权利要求10所述的方法,其中所述单子叶植物是稻米、大麦、小麦、黑麦、燕麦、玉米、竹子、甘蔗、洋葱、韭葱或姜。

12. 如权利要求1所述的方法,其中所述转基因植物是双子叶植物。

13. 如权利要求12所述的方法,其中所述转基因植物是拟南芥、大豆、花生、向日葵、红花、棉花、烟草、西红柿、豌豆、鹰嘴豆、鸽子豌豆或马铃薯。

14. 如权利要求1所述的方法,其中所述逆境是选自由渗透逆境,干旱逆境,盐逆境或其组合所组成的群组的非生物逆境。

## 增进植物逆境耐受性的方法

[0001] 相关申请案

[0002] 本申请主张依据35U.S.C.§119于2017年3月17日提交的美国临时申请案第62/472,669号的权益,其全部内容通过引用并入本文。

### 技术领域

[0003] 本发明涉及重复脯氨酸富集蛋白(RePRP)的用途,用于修饰过度表达该蛋白的转基因植物的特征。

### 背景技术

[0004] 随着全球气候变化近年来恶化,环境非生物逆境,例如,干旱、极端温度和洪水,已导致农业产量大幅减少。据估计,主要作物产量的三分之二由于不利/逆境环境而经常丧失(参见Boyer,1982)。深入的研究正在进行,以了解植物如何生存以及如何将非生物逆境对作物产量的影响降至最低。

[0005] 大多数与缺水逆境相关的耐受机制与渗透调节、离子稳态的维持以及破坏性活性氧的去除有关(参见Kar,2011)。植物的基本建构特征也已知会在逆境下进行调整,例如,增加的表面蜡质、凹陷的气孔和促进叶子卷曲。

[0006] 脱落酸(ABA)是缺水逆境期间最常见的逆境激素。ABA可以(i)导致叶中的气孔关闭以减少蒸散,并且(ii)增强建立逆境耐受所需的其他基因的表现。

[0007] 水稻植株的生长和发育会重新调整,以避免枝条不必要的生长,从而减少严重水分缺少或高浓度ABA处理引起的水分流失。水稻根部变得更短、更厚、更重,这是由从芽中运输过来的剩余营养物合成的生物量之积累所造成的。

[0008] 一群高度脯氨酸富集蛋白("OsRePRPs")在稻米根中被ABA、盐度和干旱高度诱导(参见Tseng et al.,2013)。OsRePRPs定位于细胞膜,在此与细胞壁多糖相互作用,其对于使根变短变厚是必要的和足够的。尚无报导证实其于植物逆境耐受性及生长的影响。

[0009] 此领域已经开发了一些方法来提高植物逆境耐受性。然而,植物在逆境下的生存经常表现出生长迟缓,这对生产力是不利的,也不能满足农业的需要。因此,仍然需要提供一种方法来培育可耐受多种逆境的植物,且仍能保持生长和生产力。

### 发明内容

[0010] 本发明至少部分基于意想不到的发现,即重复脯氨酸富集蛋白(RePRP)的表达,在过度表达这种蛋白的转基因植物中,导致增进的逆境耐受性,特别是不会产生实质的生长迟缓。与未经RePRP基因转化的对照(野生型)植物相比,本发明的转基因植物表现出在逆境的存活率显著增加,而无实质生长迟缓现象。与对照(野生型)植物相比,本发明的转基因植物也显现在逆境下较少的产量减损程度。

[0011] 因此,本发明提供一种增进植物逆境耐受性和/或防止植物生长减损的方法,包括:

[0012] (a) 用包含与启动子可操作连接的核酸的载体转化植物细胞,以获得表达重复脯氨酸富集蛋白(RePRP)的重组植物细胞,其中所述核酸编码RePRP蛋白;

[0013] (b) 培养(a)中获得的重组植物细胞,以产生多数转基因植物;和

[0014] (c) 选择来自(b)中产生的多数转基因植物中的转基因植物,所述转基因植物显示增进的对逆境的耐受性或基本上无生长减少或其组合,当与在相同条件下生长的非转基因植物对应者相比较时而言。

[0015] 在部分具体实例中,所述转基因植物表现较少的生长减损,当与非转基因植物对应者相比较时而言。

[0016] 在部分具体实例中,所述RePRP蛋白包含SEQ ID NO:1、2、3或4的氨基酸序列。

[0017] 在部分具体实例中,所述启动子对编码RePRP蛋白的天然存在的基因是异源的。

[0018] 在部分具体实例中,所述启动子是组成型(constitutive)启动子或诱导型(inducible)启动子。

[0019] 在部分具体实例中,所述启动子是选自由玉米泛素(Ubi)启动子、稻肌动蛋白(Act1)启动子和花椰菜花叶病毒35S(CaMV35S)启动子所组成的群组的组成型(constitutive)启动子。

[0020] 在部分具体实例中,所述启动子是选自由拟南芥cor1 SA启动子、拟南芥kin1启动子、拟南芥热休克因子(HSF)启动子、拟南芥kin1启动子、拟南芥rd29A启动子、 $\alpha$ -淀粉酶启动子的诱导型启动子和合成的ABRC321启动子所组成的群组的诱导型(inducible)启动子。

[0021] 在部分具体实例中,所述诱导型启动子是3XABRC321。

[0022] 在部分具体实例中,所述载体包含SEQ ID NO:12、13或14。

[0023] 在部分具体实例中,所述转基因植物是单子叶植物。

[0024] 在部分具体实例中,所述单子叶植物是稻米、大麦、小麦、黑麦、燕麦、玉米、竹子、甘蔗、洋葱、韭葱或姜。

[0025] 在部分具体实例中,所述转基因植物是双子叶植物。

[0026] 在部分具体实例中,所述转基因植物是拟南芥、大豆、花生、向日葵、红花、棉花、烟草、西红柿、豌豆、鹰嘴豆、鸽子豌豆或马铃薯。

[0027] 在部分具体实例中,所述逆境是选自由渗透逆境、干旱逆境、盐逆境或其组合所组成的群组的非生物逆境。

[0028] 在说明书,附图和下面的实施例中阐述了本发明的一个或多个实施方案的细节。根据几个实施例的详细描述以及权利要求,本发明的其他特征,目的和优点将显而易见。本文引用的所有出版物和专利文献全文以引用的方式并入。

## 附图说明

[0029] 当结合图式阅读时,将更好地理解上述概述以及本发明的以下详细描述。为了说明本发明之目的,在附图中示出了目前较佳的具体实施例。然而,应当理解的是,本发明不限于所示的精确排列与手段。

[0030] 图1显示OsRePRP2.1过表达增强了水稻的盐耐受性。三叶龄幼苗用250mM NaCl处理5天,然后恢复至正常状态12天。OsRePRP2.1OX转基因植株的存活率显著高于TNG67。数据是来自三个实验重复的平均值 $\pm$ SD。

[0031] 图2显示水稻中OsRePRP2.1过表达增强了干旱耐受性。三叶龄幼苗用30%PEG处理20小时,然后恢复到正常条件10天。OsRePRP2.1OX转基因植株的存活率显著高于TNG67。数据是来自三个实验重复的平均值±SD。

[0032] 图3显示水稻中OsRePRP2.1过表达增强了干旱处理后的植物恢复。两周龄植物的浇水停止13天,然后再浇水12天。一半的OsRePRP2.1OX植物存活并生长出新的叶子,但只有少数TNG67植物存活。

[0033] 图4显示OsRePRP RNAi植物对非生物逆境处理敏感。三叶龄幼苗用250mM NaCl处理5天或用30%PEG处理24小时。在恢复12天后记录存活率。在两种逆境处理中,RNAi系的平均存活率显著低于WT(TNG67),而OsRePRP2.1过表达系显示高达80%的存活率。

[0034] 图5A和图5B显示OsRePRP2.1转基因稻植物的诱导表达可耐受PEG处理。两周龄的植物用30%PEG处理18小时,然后恢复到正常条件10天。图5A显示ABRC321:OsRePRP2.1转基因植物(T2代)的存活率显著高于TNG67。数据是来自两个实验重复的平均值±SD。图5B显示野生型和ABRC321:OsRePRP2.1植物的14日龄水稻幼苗的根图像是类似的。

[0035] 图6A至图6C显示拟南芥植物中OsRePRP2.1过表达正常生长,与正常条件下的非转基因拟南芥植物相似。图6A显示了在正常条件下生长的50日龄成熟的拟南芥植物。图6B显示了在正常琼脂平板上生长的10日龄拟南芥幼苗的根部图像。图6C表示由每个植物系的根长数据,以平均值±SD表示。

## 具体实施方式

[0036] 除非另有定义,本文使用的所有技术和科学术语具有与本发明所属领域的技术人员通常理解的相同的含义。

[0037] 如本文所用,定冠词“一(a)”与“一(an)”指物品的语法对象中的一个或多个(即至少一个)。作为示例,“一元素”指一个元素或多个元素。

[0038] “包含(comprise)”或“包含(comprising)”等词通常被用在包括(include)/包括(including)的意义上,其表示允许存在一个或多个特征、成分或组分。“包含(comprise)”或“包含(comprising)”等词包括“组成(consists)”或“由...组成(consisting of)”。

[0039] 本研究发现,出乎意料地,重复脯氨酸富集蛋白(RePRP)增进了过度表达此蛋白的转基因植物的特征,例如,生长特性和/或逆境耐受性。因此,本文提供过度表达如本文所述的RePRP的转基因植物、表达RePRP的载体、制备该转基因植物的方法,以及通过过表达RePRP蛋白来改善植物生长特性或逆境耐受性的方法。

[0040] I. 重复脯氨酸富集蛋白(RePRPs)

[0041] 重复脯氨酸富集蛋白(RePRPs)是植物中ABA诱导的糖蛋白。这些蛋白质在N端包括信号肽,然后是富含脯氨酸的结构域,占据约70%的蛋白质。富含脯氨酸的结构域含有许多重复的PX<sub>1</sub>PX<sub>2</sub>基序(motif)(SEQ ID NO:25)并且构成亲水区,其中P是脯氨酸残基,X<sub>1</sub>和X<sub>2</sub>是除脯氨酸以外的任何氨基酸残基,并且更具体而言在多个由脯氨酸转化而来的氢脯氨酸残基经由阿拉伯糖和葡萄糖高度糖基化。基序可以重复“n”次,由(PX<sub>1</sub>PX<sub>2</sub>)<sub>n</sub>表示,对此可以理解,X<sub>1</sub>或X<sub>2</sub>在每个重复中可以是相同的或不同的,并且X<sub>1</sub>或X<sub>2</sub>残基的鉴别不一定在整个残基的“n”重复中保留完全一致。进一步理解的是,每个重复可以首尾连接(直接)或与一个或多个间接氨基酸(间接)连接。在一些实施方案中,n是20或更多,30或更多,40或更多,50或更

多,60或更多,70或更多,或80或更多的整数。在一些实施方案中,基于该蛋白质的氨基酸残基总数,RePRP具有脯氨酸含量,例如20%或更多,30%或更多,40%或更多,50%或更多。在一些实施方案中, $X_1$ 或 $X_2$ 选自由以下所组成之群:赖氨酸(Lys,K)、谷氨酸(Glu,E)、天冬酰胺(Asn,N)、天冬氨酸(Asp,D)、酪氨酸(Tyr,Y)、缬氨酸(Val,V)、组氨酸(His,H)、异亮氨酸(Ile,I)、甘氨酸(Gly,G)、苏氨酸(Thr,T)、谷氨酰胺(Gln,Q)、丝氨酸(Ser,S)。在一些实施方案中,RePRP具有200至500个氨基酸长度,例如,约200、250、300或350个氨基酸长度。

[0042] 根据本公开,如本文所用的术语“多肽”、“肽”和“蛋白质”是指由氨基酸残基形成的聚合物,其中一个或多个氨基酸残基是天然存在的氨基酸或人造化学品模仿物。

[0043] 本文所述的RePRP可以是任何合适物种的天然存在的蛋白质。示例性的RePRP可以来自植物,优选来自单子叶植物,包括但不限于稻米、大麦、小麦、玉米和高粱。在稻米中,存在两种RePRP的亚类,(1)RePRP1,包括RePRP1.1(SEQ ID NO:1)和RePRP1.2(SEQ ID NO:2);和(2)RePRP2,包括RePRP2.1(SEQ ID NO:3)和RePRP2.2(SEQ ID NO:4)

[0044] 在一些实施方案中,所述RePRP可以包含SEQ ID NO:1、2、3或4的氨基酸序列。或者,所述RePRP可以是天然存在的蛋白质,其高度同源于SEQ ID NO:1、2、3或4,例如,在全长上共享至少85%的序列同一性(例如,至少90%,至少93%,至少95%或至少97%)。这样的RePRP可以使用SEQ ID NO:1、2、3或4作为查询容易地从公开可用的基因数据库(例如GenBank)鉴定。

[0045] 可以理解的,多肽可具有在多肽特定部分内可进行的有限数目的改变或修饰,其中所述的改变或修饰和它们活性或功能无关,并仍然产生具有可接受水平的等价生物活性或功能的分子。在这种多肽的结构中可以进行修饰和改变,并仍然获得具有相似或所需特征的分子。例如,在肽/多肽结构(除了保守的区域)中某些氨基酸可以被取代成其它氨基酸,而不明显损失活性。氨基酸的取代通常基于氨基酸侧链取代基的相对相似性,例如它们的疏水性、亲水性、电荷、大小等。例如,精氨酸(Arg)、赖氨酸(Lys)、和组氨酸(His)都是带正电荷的残基;丙氨酸(Ala)、甘氨酸(Gly)和丝氨酸(Ser)都具有类似的大小。因此,基于这些考虑,精氨酸(Arg)、赖氨酸(Lys)和组氨酸(His);以及丙氨酸(Ala)、甘氨酸(Gly)和丝氨酸(Ser)可以被定义为生物学功能等价物。人们能够很容易地设计和制备重组基因,用于具有等价氨基酸残基的多肽的微生物表达。

[0046] 因此,在一些实施方案中,RePRP可以是天然存在的RePRP的功能变体。这样的功能变体可以与野生型对应物共享高度序列同一性,例如,与野生型对应物的氨基酸序列至少85%(例如90%,95%,96%,97%,98%或99%)序列同一性,并具有与野生型对应物基本相似的生物活性。

[0047] 为了确定两个氨基酸序列的同一性百分比,可以将序列比对以达到最佳比较目的(例如,可以将空位引入第一个氨基酸序列的序列中以与第二个氨基酸序列进行最佳比对)。在计算百分比身份时,通常会计算精确匹配。可以使用本领域已知的数学算法如BLAST和Gapped BLAST程序,NBLAST和XBLAST程序或ALIGN程序来完成两个序列之间百分比同源性或同一性的确定。

[0048] II. 编码RePRPs的载体

[0049] 在一些方面,本发明提供了包含编码本文所述的任何RePRP的核酸的载体。术语“核酸”或“多核苷酸”是指由核苷酸单元组成的聚合物,包括天然存在的脱氧核糖核酸

（“DNA”）和核糖核酸（“RNA”）以及其任何类似物。例如，可以使用自动化的DNA合成仪合成多核苷酸。术语“核酸”通常指大的多核苷酸。应该理解的是，当核苷酸序列由DNA序列（即，A，T，G，C）表示时，这也包括其中“U”代替的RNA序列（即，A，U，G，C）“T”。术语“cDNA”是指以单链或双链形式与mRNA互补或相同的DNA。

[0050] 术语“编码”指的是多核苷酸中特定核苷酸序列（例如，基因、cDNA或mRNA）作为模板以便在生物过程中合成其它聚合物和大分子的固有属性，其具有明确的核苷酸序列（即，rRNA、tRNA和mRNA）或明确的氨基酸序列以及由此产生的生物特性。因此，如果转录并翻译由基因所产生的mRNA在细胞或其它生物系统中产生蛋白，则该基因编码蛋白。本领域技术人员理解，由于遗传密码的简并性，许多不同的多核苷酸和核酸可以编码相同的多肽。还应当理解，技术人员使用常规技术能够进行不影响所述多核苷酸编码的多肽序列的核苷酸取代，从而体现任何表达多肽的特定宿主生物中密码子的使用情况。因此，除非另外指明，“编码氨基酸序列的核苷酸序列”包括所有互为简并形式的以及编码相同氨基酸序列的核苷酸序列。编码蛋白和RNA的核苷酸序列可以包括内含子。

[0051] 在一些实施方案中，编码如本文所述的RePRP蛋白的核酸是SEQ ID NO:5（编码OsRePRP1.1），SEQ ID NO:6（编码OsRePRP1.2），SEQ ID NO:7（编码OsRePRP2.1）或SEQ ID NO:8（编码OsRePRP2.2）。

[0052] 如本文所用，“载体”可以是将外源遗传物质人工携带到宿主细胞中的重组核酸基本载体（nucleic acid-based vehicle），其中外源遗传物质可以在其中复制和/或表达。如本文所述的载体可以是克隆和/或表达载体。载体可以是线性或环状的。当导入宿主细胞时，它可能保持游离型（episomal）或整合到宿主细胞基因组中。在一些实施方案中，载体可以是病毒载体或非病毒载体（例如质粒）。在特别的例子中，载体可以是植物载体或农杆菌载体。

[0053] 在一些实施方案中，编码RePRP的核酸可以与载体中的启动子可操作地连接，以驱动体外或体内RePRP的表达。如本文所用，术语“可操作地连接”可表示多核苷酸连接至表达控制序列，例如，启动子，以致当适当分子（例如转录因子）与表达控制序列结合时能够表达多核苷酸。如本文所用，术语“表达控制序列”或“调节序列”是指调节某种宿主细胞中可操作地连接的核酸序列之表达的DNA序列。

[0054] 载体的实例包括，但不限于质粒、粘粒、噬菌体、YAC或PAC。通常，在载体中，给定的核苷酸序列被可操作地连接到调节序列，使得当载体被引入宿主细胞时，给定的核苷酸序列可以在宿主细胞中在调节序列的控制下进行表达。调节序列可以包括，例如但不限于启动子序列（例如巨细胞病毒（CMV）启动子、猿猴病毒40（SV40）早期启动子、T7启动子和醇氧化酶基因（AOX1）启动子）、起始密码子、复制起点、增强子、操纵子序列、分泌信号序列（例如，阿法交配因子信号（alpha-mating factor signal））以及其它控制序列（例如，Shine-Dalgarno序列和终止序列）。优选地，载体可进一步含有标记序列（例如，抗生素抗性标记序列）用于随后的筛选/选择过程。

[0055] 在一些实例中，本文所述的启动子可以异源于载体中编码RePRP的核酸。如本文所用，与编码序列（基因）异源的启动子是指不是天然状态下控制（驱动）基因表达的天然启动子的启动子。例如，本公开的载体可以包含源自非RePRP基因的启动子。

[0056] 在一些情况下，本文描述的启动子可以是组成型（constitutive），其启动独立于

调控影响的转录。示例性组成型启动子包括但不限于玉米泛素 (Ubi) 启动子、稻肌动蛋白 (Act1) 启动子和花椰菜花叶病毒35S (CaMV35S) 启动子。

[0057] 在其他情况下,本文所述的启动子可以是诱导型 (inducible), 其以受调节的方式启动转录,例如,在存在或不存在特定因子的情况下。示例性的诱导型启动子包括乙醇诱导型启动子 (例如,AlcR/AlcA启动子) 或 $\beta$ -雌二醇诱导型启动子 (例如,XVE启动子,参见下文的实施例部分)。可由生物或非生物逆境 (例如,渗透逆境、干旱逆境、盐逆境、高温或低温、低氧、缺氧、水合、pH、化学品、激素或其组合) 诱导的示例性启动子包括拟南芥属rd29A启动子、拟南芥属SA启动子、拟南芥kin1启动子、拟南芥热休克因子 (HSF) 启动子、阿法-淀粉酶启动子和合成的ABRC321启动子。

[0058] 在某些实施方案中,用于本发明的启动子序列是合成的ABRC321启动子,其具有SEQ ID NO:9 (1xABRC321)、SEQ ID NO:10 (2xABRC321) 或SEQ ID NO:11 (3xABRC321),优选是SEQ ID NO:11 (3xABRC321)。

[0059] 在一些实施方案中,包含编码RePRP蛋白、可操作地连接至启动子的核酸的载体包含SEQ ID NO:12 (Ubi:0sRePRP2.1) 的融合启动子/编码区域片段。

[0060] 在一些实施方案中,包含编码RePRP蛋白、可操作地连接至启动子的核酸的载体包含SEQ ID NO:13 (3xABRC321i:0sRePRP2.1) 的融合启动子/编码区域片段。

[0061] 在一些实施方案中,包含编码RePRP蛋白、可操作地连接至启动子的核酸的载体包含SEQ ID NO:14 (35S:0sRePRP2.1) 的融合启动子/编码区域片段。

[0062] 本文所述的任何载体可以通过常规重组技术来制备。

[0063] III. 宿主细胞、转基因植物及其制备方法

[0064] 本发明的一些方面提供了包含如本文所述的任何载体的宿主细胞 (例如,农杆菌细胞或植物细胞)。这些宿主细胞 (或称为重组细胞) 携带外源/外源遗传物质 (例如本文所述的载体),其可通过常规实践引入宿主细胞。如本文所用,“外源遗传物质”可意指遗传物质最初并不存在于细胞中,而是人为地引入其亲本的细胞中。在一些情况下,外源遗传物质可以来自与宿主细胞不同的物种。在一些其他情况下,外源遗传物质可以来自与宿主细胞相同的物种并引入宿主细胞中,从而与野生型对应物相比,所得到的重组细胞包含遗传物质的额外复制数 (copies)。如本文所用,术语“转化”或“转化”是指将外源遗传物质引入宿主细胞例如植物细胞中。

[0065] 在某些实施方案中,宿主细胞可以是农杆菌宿主细胞。在某些实施方案中,宿主细胞可以是植物细胞,例如来自单子叶植物或双子叶植物的细胞。

[0066] 合适的常规方法可用于制备本文所述的重组细胞。此类方法的实例包括电穿孔、PEG操作、粒子轰击,植物细胞原生质体或胚发生愈伤组织或其他植物组织的微量注射、或土壤杆菌介导的转化。

[0067] 可以使用本领域已知的方法检测RePRP的表达 (例如,在宿主细胞中转化本文中所呈现的载体之前和之后)。例如,可以使用逆转录聚合酶链式反应 (RT-PCR),来确定RePRP mRNA的表达。其他检测方法包括西方墨点分析 (western blot analysis) 和酶联免疫吸附测定 (ELISA),以抗RePRP抗体用于蛋白质检测。

[0068] 本发明还提供了包含可操作地连接至启动子的外源核酸的转基因植物,其中所述外源核酸 (转基因) 编码本文所述的任何RePRP。



[0069] 如本文所用,植物可以是完整植物或其部分,包括果实、枝条、茎、根、叶或种子,或培养中的各种类型的细胞(例如,单细胞、原生质体、胚胎、愈伤组织、原球茎状体和其他类型的细胞)。如上所述,本公开的植物可以是单子叶植物或双子叶植物。

[0070] 在一些实施方案中,如本文所述的植物是单子叶植物。单子叶植物的例子包括但不限于稻米、大麦、小麦、黑麦、燕麦、玉米、竹子、甘蔗、洋葱、韭葱和姜。

[0071] 在其他实施方案中,本文所述的植物是双子叶植物。示例性的双子叶植物包括拟南芥、大豆、花生、向日葵、红花、棉花、烟草、西红柿、豌豆、鹰嘴豆、鸽子豌豆和马铃薯。

[0072] 本领域可以使用各种可以用于建造稳定的转基因植物的程序。在本发明的一个实施方案中,通过用包含编码期望蛋白质的核酸(例如RePRP)的重组农杆菌细胞转化植物组织(如原生质体或叶盘)来产生转基因植物,并从转化的植物组织中产生整株植物。在另一个实施方案中,编码所需蛋白质的核酸可以通过基因枪技术引入植物,特别是如果用重组农杆菌细胞转化在植物中无效的话。

[0073] 具体而言,本文所述的“转基因植物”可以指包含允许在转基因植物中表达RePRP基因的转基因(例如包含可操作地连接至合适启动子的RePRP基因的外源核酸)的植物。

[0074] 在一些实施方案中,本文所述的转基因植物过度表达RePRP。如本文所用,术语“过度表达(overexpression)”可以指在转基因植物中生产基因产物(例如RePRPs),超过在非转基因(野生型)的对应植物的生产水平,包括但不限于组成型或诱导型的表达。例如,转基因植物中RePRP的水平可以高至少10%(例如,高20%、高30%、高50%、高1倍、高2倍、高5倍、高10倍、或更高),与非转基因(野生型)对应植物相比而言。在一些情况下,野生型亲本不表达RePRP。

[0075] 根据本发明,如本文所公开的转基因植物可表现出增进的逆境耐受性(例如,生物逆境或非生物逆境)。生物逆境可能是由于其他生物体例如病原体对植物造成损害而发生的逆境,例如,细菌、病毒、真菌、寄生虫、有益和有害的昆虫。非生物逆境可能是非生物因素对特定环境中活生物体的负面影响。在一些实施方案中,非生物逆境是渗透逆境、干旱逆境、盐逆境或其组合。

[0076] 在一些实施方案中,增进植物的逆境耐受性是指增加植物在逆境下生存的能力。例如,本文公开的转基因植物的存活率可以高至少20%(例如,高30%、高50%、高1倍、高2倍、高5倍、高10倍、高20倍、高50倍、高100倍、或更高),相较于野生型对应物的存活率而言,在压力下和/或从压力恢复的期间。

[0077] 在一些实施方案中,与非逆境条件相比,本文公开的转基因植物在应激下和/或在从应激恢复期间显示出基本没有生长或产量降低。例如,如本文所公开的转基因植物的谷粒产量降低可能小于应力下的20%(例如小于15%,小于10%,小于5%或以下)或未受影响(维持相同)和/或在从压力恢复过程中,与正常的非压力条件相比。

[0078] 在一些实施方案中,如本文所公开的转基因植物在相同条件下与其野生型对应物相比基本上没有生长减少。换句话说,转基因的存在对植物生长没有实质性的不利影响。例如,本文中公开的转基因植物的植物高度、穗长、穗数量或根数量/长度可以小于15%(例如,小于10%,小于5%或小于)的减少或不受影响(保持相同),在相同的生长条件下与其野生型对应物比较而言。

[0079] 在一些实施方案中,与正常的非逆境条件相比,本文公开的转基因植物在逆境下

和/或在从逆境恢复期间显示出产量基本上没有降低。例如,与正常的非逆境条件相比,如本文所公开的转基因植物在逆境下和/或从逆境恢复期间的谷粒产量降低(yield reduction)小于15%(例如,小于10%,小于5%或以下)。特别地,本发明的转基因植物在逆境和/或从逆境恢复期间相对于在正常非逆境条件下的产量降低(yield reduction)是小于其野生型对应物。

[0080] 在一些实施方案中,如本文中公开的转基因植物可以表现出在盐逆境下增进的存活能力。通过暴露于100mM或更高的氯化钠(NaCl)(例如,150mM或更高、200mM或更高、250mM或更高)可以模拟盐逆境。在一些实施方案中,可允许植物从盐逆境中恢复。

[0081] 在一些实施方案中,本文公开的转基因植物可以表现出在渗透逆境下增进的存活能力。通过暴露于20%或更高(例如30%或更高)的聚乙二醇(PEG)可以模拟渗透逆境。在一些实施方案中,在30%PEG6000下模拟渗透压。在一些实施方案中,可允许植物从渗透逆境恢复。

[0082] 在一些实施方案中,本文公开的转基因植物可以表现出在干旱逆境下增进的存活能力。干旱逆境可能通过脱水来模拟。在一些实施方案中,可以通过复水(rehydration)实现从干旱逆境恢复。

[0083] 因此,本发明还提供了生产本文所述转基因植物的方法。该方法可以包括:(a)用可操作地连接至启动子的核酸转化植物细胞以获得表达RePRP蛋白的重组植物细胞,其中所述核酸编码RePRP蛋白;和(b)培养(a)中获得的重组植物细胞以产生转基因植物。

[0084] 本发明也进一步提供了一种用于增进植物生长(例如,在逆境下和/或在从逆境恢复期间)或逆境耐受性的方法。该方法可以包括:(a)用可操作地连接至启动子的核酸转化植物细胞以获得表达RePRP蛋白的重组植物细胞,其中所述核酸编码RePRP蛋白;(b)培养(a)中获得的重组植物细胞以产生多种转基因植物;和(c)从在(b)中产生的多数转基因植物中选择转基因植物,所述转基因植物在逆境耐受性或生长方面表现出增进的特征,包括对非生物逆境的更高存活率,基本上没有生长减少或其组合,与在相同条件下生长的非转基因植物对应物相比而言。在一些实施方案中,所选择的转基因植物是与正常的非逆境条件相比,在逆境下和/或在从逆境恢复期间,基本上没有生长/产量减少。在一些实施方案中,所选择的转基因植物与其非转基因植物对应物相比,在逆境条件下,表现出相似的生长特征和/或产量减损程度较低。

[0085] 无需进一步详细描述,相信本领域技术人员可以基于本文的公开内容充分利用本发明。因此,以下具体实例仅被解释为描述性的,而不以任何方式限制本公开的其余部分。

[0086] 实施例

[0087] 在这项研究中,我们生成OsRePRP2.1过度表达转基因植物,并发现OsRePRP2.1过度表达使植物更耐受于干旱和盐度条件。在半干旱条件下的田间试验中,OsRePRP2.1过度表达的植物系也显示出与野生型植物相比,没有显著的生长迟缓和较少的谷粒产量下降。为了进一步降低OsRePRP2.1过度表达植物的产量损失,将由合成的3XABRC321启动子控制的OsRePRP2.1的逆境诱导表达引入转基因稻米。这些具有ABA/逆境诱导的OsRePRP2.1过度表达的转基因植物显示出显著更高的耐旱水平,并在非逆境条件下维持正常的植物生长。

[0088] 1.材料方法

[0089] 1.1植物材料及生长条件

[0090] 野生型稻 (*Oryza sativa* L., cv. Tainung 67; “TNG67”) 的种子用2%次氯酸钠灭菌30分钟。并用蒸馏水充分洗涤。为了获得均匀的发芽,将水稻种子在黑暗中在37℃的蒸馏水中浸泡1天,然后在37℃的含有蒸馏水的20cm培养皿中萌发。

[0091] 将转基因水稻种子在含有潮霉素-B (30 $\mu$ g/ml; Invitrogen) 的水中于28℃发芽3天以选择含有转基因的幼苗。然后选择均匀发芽的种子并在含有半强度Kimura B溶液的烧杯中培养 (Hsu等人, 2003)。水培培养的幼苗在光照强度为100~105 $\mu$ mol光子 $m^{-2}sec^{-1}$ 的14小时光照/10小时黑暗条件下,在28℃, 90%相对湿度下生长。

[0092] 拟南芥种子用0.6%的盐酸钠灭菌15分钟,并用蒸馏水彻底洗涤。为了选择含有转基因的植物,将种子在含有1%蔗糖和0.8%琼脂 (pH5.7) 与卡那霉素 (50 $\mu$ g/ml; Invitrogen) 的半强度Murashige和Skoog (MS) 培养基中在黑暗中于4℃下播种2天,然后在22℃, 16小时光照/8小时黑暗周期的平板上生长5天。纯合子转基因植物和野生型种子在具有1%蔗糖和0.8%琼脂 (pH5.7) 无抗生素的正常半强度MS培养基下生长10天,并转移至土壤条件以进行表型观察。

[0093] 1.2转基因植物的产生

[0094] 过度表达OsRePRP2.1的转基因水稻产生如下。通过基因组PCR扩增的OsRePRP2.1编码区克隆在玉米Ubi1启动子后面,其第一个内含子位于pPZP二元载体中。该载体含有SEQ ID NO:12 (Ubi:OsRePRP2.1) 的组合的启动子/编码区片段。基本上如Hong等人, 2004,在稻米转化实验室中所述,通过农杆菌介导的转化,用该构建体产生了转基因稻株系。

[0095] OsRePRP2.1过度表达转基因拟南芥产生如下。OsRePRP2.1编码区克隆于pKGW载体中35S启动子的后面。载体含有SEQ ID:14 (35S:OsRePRP2.1) 的组合启动子/编码区片段。用该构建体通过在转基因植物实验室进行的农杆菌介导的真空浸润转化来产生转基因拟南芥植物。

[0096] OsRePRP-RNAi敲除系产生如下。通过基因组PCR扩增OsRePRP1.1和2.1基因的编码区并在pCR8/GW/TOPO (Invitrogen) 中融合在一起。切下组合片段并通过LR重组 (LR Clonase, Invitrogen) 将其克隆到Miki等人, 2004中描述的pANDA二元载体中。如前段所述,从该构建体获得转基因系。

[0097] 通过在pENTR载体 (Invitrogen) 中将OsRePRP2.1编码区与3XABRC321启动子 (SEQ ID NO:11) (Chen等, 2015) 融合获得逆境诱导型OsRePRP2.1构建体。通过LR重组将组合的启动子/编码区片段克隆到pZP200二元载体中。该载体含有SEQ ID NO:13 (3XABRC321:OsRePRP2.1) 的组合的启动子/编码区片段。同样地,通过农杆菌介导的转化产生转基因植物。

[0098] 1.3RT-PCR分析

[0099] 为了测定OsRePRP转录物水平,根据供货商的推荐,使用TRIzol试剂 (Invitrogen) 从水稻组织中分离总RNA。使用SuperScript II第一链合成系统 (Invitrogen) 合成第一链cDNA。下表1中提供了用于RT-PCR定量OsRePRP基因表达的基因特异性引子组。水稻OsActin基因被用作内部对照。

[0100] 表1:RT-PCR引子

RT-PCR 分析		
基因	引子	Sequence (5' to 3')
<i>OsRePRP1.1</i>	正向	ACAAGCTCACAGTTCAGTTACGTACAAC (SEQ ID NO: 15)
	逆向	GCGCTCCTTCCTCGGGT (SEQ ID NO: 16)
<i>OsRePRP1.2</i>	正向	GATCACAGAAGCTCACAGTTCAGTT (SEQ ID NO: 17)
	逆向	TGACTCGCTCGCTCCTCC (SEQ ID NO: 18)
<i>OsRePRP2.1</i>	正向	ATGAGGAGATCAATCCTCTCACTG (SEQ ID NO: 19)
	逆向	TCAGTTCCCGGGCACAATTATAG (SEQ ID NO: 20)
<i>OsRePRP2.2</i>	正向	AATGTTTCCTGATCACATTGCCAAT (SEQ ID NO: 21)
	逆向	CATACCAAACTATGCGGAATCAT (SEQ ID NO: 22)
<i>OsActin</i>	正向	CTGATGGACAGGTTATCACC (SEQ ID NO: 23)
	逆向	CAGGTAGCAATAGGTATTACAG (SEQ ID NO: 24)

## [0102] 1.4逆境处理

[0103] 对于水培系统的生长,野生型 (TNG67) 和转基因植物 (每行10株) 在相同的盆中在正常的半强度Kimura B溶液中生长2周。将两周龄的幼苗 (三叶龄) 暴露于 (i) 30% PEG水溶液 (PEG 6000; Merck) 18-20小时, 或 (ii) 250mM NaCl于半强度Kimura B溶液中5天。幼苗在正常半强度Kimura B溶液中恢复10-12天, 随后评估植物存活率。为了在土壤中生长, 将每盆7个2天发芽种子在1:1 (v/v) 粘土和蛭石的土壤混合物中生长两周。将两周龄的幼苗 (三叶龄) 停止浇水12-14天, 然后将植物再浇水12天, 然后拍照并测量存活率。

## [0104] 2. 结果

## [0105] 2.10sRePRP2.1过度表达增强了对高盐度和脱水的耐受性

[0106] 产生过度表达*OsRePRP2.1*基因 (“*OsRePRP2.10X*”) 的多个稳定转化的品系。该基因的异位表达由玉米泛素启动子控制。这些稳定转化的品系已经在T4代纯合植物中。使用上表1中所示的引子, 通过RT-PCR对来自这些品系的根中几种*OsRePRP*基因的转录水平进行定量。

[0107] 结果显示于表2。

[0108] 表2: *OsRePRP*转基因稻米系的相对mRNA表现。

	内生	TNG67		OsRePRP2.1OX		
		正常	盐处理	#2	#10	#19
[0109]	OsRePRP2.1	1	1.9	2.0	2.1	1.9
	OsRePRP2.2	1	1.5	1.4	1.2	1.3
	OsRePRP1.1	1	1.6	1.1	1.2	1.0
	OsRePRP1.2	1	1.2	0.9	0.9	0.9

[0110] 在正常条件下,与野生型TNG67植物相比,过度表达系中的OsRePRP2.1转录物水平显著更高。通过盐处理在TNG67植物中诱导的OsRePRP2.1的表达水平与在未处理的OsRePRP2.1过度表达系中观察到的情形相似。OsRePRP2.2、OsRePRP 1.1、OsRePRP 1.2的表达水平则不受OsRePRP2.1过度表达的显著影响。

[0111] 2.3 OsRePRP2.1过度表达增强了高盐的耐受性

[0112] 测试上述转基因稻植物对高盐度条件的反应,以确定OsRePRP介导的根构造调整是否有利于逆境下的稻米植物。每个转基因品系的十株个别植物与TNG67植物在水耕培养室中并排生长。三叶龄植物用250mM NaCl处理5天,然后移至正常培养基达12天的恢复期。在恢复期之后,将各品系的存活率与TNG67的存活率进行比较。结果显示,三个独立的OsRePRP2.1OX转基因水稻植物具有25~40%的存活率,而TNG67存活率不到5%。参见图1。显然,OsRePRP2.1过度表达增强了水稻对盐度条件的适应性。

[0113] 2.4 OsRePRP2.1过度表达增强了脱水的耐受性

[0114] 除盐度外,水缺乏(即脱水)是另一种抑制稻米植株生长的重要环境逆境。通过用30%PEG处理水稻20小时来模拟脱水。更具体地说,三叶龄植物用30%PEG处理20小时,然后切换到正常培养基中恢复。在恢复10天后测定存活率。结果显示三个独立的OsRePRP2.1OX转基因稻米植株的存活率高达75%,而TNG67野生型植株只有15%。参见图2。此外,当PEG处理时间缩短至16小时时,OsRePRP2.1OX转基因水稻植株的萎缩叶在恢复后的一天内能够完全膨胀并且存活率提高到95%。

[0115] 2.5 RNA干扰("RNAi")介导的OsRePRP表达敲低降低了水稻的逆境耐受性

[0116] 产生OsRePRP RNAi转基因水稻品系以减少全部四种OsRePRP基因的表达。如上所述通过RT-PCR在OsRePRP RNAi系的盐处理的根中测定水稻OsRePRP家族转录物。结果显示在下表3中。

[0117] 表3. RNAi敲低系中的相对RePRP基因表达

[0118]

内生	TNG67		OsRePRP RNAi, 盐处理			
	正常	盐处理	#3	#5	#6	#7
OsRePRP1.1	1	1.56	0.69	0.04	0.08	0.18
OsRePRP1.2	1	1.18	0.76	0.21	0.47	0.54
OsRePRP2.1	1	3.26	1.97	0.08	0.14	0.80
OsRePRP2.2	1	1.42	0.71	0.02	0.09	0.33

[0119] 即使在盐处理之后,测试的四种OsRePRP RNAi系都显示内源OsRePRP1.1、OsRePRP1.2、OsRePRP2.1和OsRePRP2.2基因的RNA转录物水平显著较低。

[0120] 2.6 OsRePRP敲低转基因水稻对盐度和干旱条件敏感

[0121] 如上所述测试OsRePRP RNAi转基因稻植物对盐和PEG的敏感性。在盐度试验(250mM NaCl)中,RNAi品系的平均存活率为3.2%,不到野生型TNG67植物显示的9.1%的一半。在相同的条件下,OsRePRP2.10X转基因植物的存活率高达80%。

[0122] 转向干旱测试(30%PEG),RNAi系的平均存活率,即2.7%,低于TNG67植物的4.2%存活率。在相同的条件下,有45%和83%的OsRePRP2.10X转基因水稻存活下来。参见图4。根据这些结果,敲低水稻中OsRePRP基因的表达导致对盐度和干旱处理的更大敏感性。

[0123] 2.7过表达OsRePRP2.1的转基因水稻植株耐受于田间干旱条件

[0124] 进行田间干旱测试以评估TNG67野生型和OsRePRP2.10X转基因植物的耐受性水平。田间测试在2015年的第一和第二个生长季进行了两次。在这两个季节中,OsRePRP2.10X系与TNG67植物并排生长,每个品系有24株植物个体,每每个植物之间间隔25x 25cm,在灌溉田间和非灌溉田间同时进行。通过将25日龄的转基因幼苗移植到经基因改良生物体认证的田间而开始测试。

[0125] 正常灌溉条件是通过用1-5cm水淹没田地直至活动耕作阶段结束,即吸胀后60-70天,此时排水。土壤保持湿润直至分蘖期结束。然后再用3-10厘米的水淹没田地直至灌浆期,然后再次排水。

[0126] 在非灌溉田间中,土壤在整个种植期间保持湿润而不是淹水。观察植物生长和谷物产量。结果总结在下表4中。

[0127] 表4.OsRePRP过度表达植物的植物生长和谷粒产量降低的结果。

[0128]

植物生长	灌溉			非灌溉			穀粒产量损失% <sup>2</sup>
	植物高度(cm) <sup>1</sup>	穗长(cm) <sup>1</sup>	穗数量 <sup>1</sup>	植物高度(cm) <sup>1</sup>	穗长(cm) <sup>1</sup>	穗数量 <sup>1</sup>	
TNG67	101.6±2.9	19.7±2.1	11.3±2.2	97.8±3.3	19.5±2.2	10.7±2.2	15.0
OX#2	105.2±3.4	19.9±2.4	10.9±1.4	94.9±5.9	19.7±2.3	10.7±2.6	5.3
OX#10	103.4±4.4	18.8±2.3	10.6±1.2	93.6±5.7	17.8±2.0	10.5±1.9	4.2
OX#19	101.2±3.2	19.3±2.4	11.1±1.3	94.0±4.5	19.4±2.3	9.2±1.9	13.6

[0129] 1.在2015年的两个季节,对每个品系的每个个体测量植物的株高、穗长和穗数,并显示为平均值±SD(n=24)。

[0130] 2.在2015年的两个季节,对每个品系的每个个体测量植物的谷粒产量。谷粒产量损失(%)显示为每个品系的两季损失的平均值(%),其中每个品系的每个季节损失计算如下:(灌溉条件下的谷粒产量平均值-非灌溉条件下的谷粒产量平均值)/灌溉条件下的谷粒产量平均值×100(%)。

[0131] 结果表明,在正常灌溉条件下,OsRePRP2.10X和TNG67植株的株高,穗长和穗数相似。另外,产生过度表达OsRePRP2.1的转基因拟南芥植物,在正常条件下也发现其与非转基因拟南芥植物生长相似。参见图6A至图6C。这显示OsRePRP2.1的过度表达不影响植物生长,包括植物高度、穗长、穗数量和根长等。

[0132] 另一方面,与灌溉条件下生长的TNG67植物相比,在非灌溉田中生长的TNG67植物造成谷物产量损失约15%。相比之下,与在灌溉条件下生长的OsRePRP2.10X转基因稻植物相比,当在非灌溉田中生长时,OsRePRP2.10X转基因稻植物显示水稻产量降低(reduction in rice yield)不到15%。令人惊讶的是,其中一些品系(例如OX#2和OX#10)表现出非常低

的谷粒损失,仅有约5%的损失。这些观察结果显示,OsRePRP2.1在水稻中的过度表达有助于植物在干旱条件下存活并保持接近正常的种子产量。

[0133] 2.8具有逆境诱导的OsRePRP2.1过度表达的转基因水稻植物

[0134] 虽然OsRPRP2.1在水稻中的组成型表达提高了干旱耐受性水平,但过度表达也导致非逆境条件下的产量减损。

[0135] 生产水稻植株,其含有由合成的ABA/逆境诱导型启动子3XABRC321控制的OsRePRP2.1转基因,该启动子使基因仅在逆境条件下产生高水平基因表达(参见Chen等,2015)。

[0136] 如上述,在PEG逆境模式中,测试第一代T1和第二代T2植物的干旱耐受性。在水培培养系统中进行PEG处理后,携带可诱导的ABRC321:OsRePRP2.1构建体的3个独立的T2水稻植物品系与野生型植物相比,显示出显着更高的存活率。

[0137] 此外,在诱导表达品系中,没有观察到过度表达品系中的根生长抑制。参见图5A和图5B。ABRC321:OsRePRP2.1转基因植物的植物生长也没有受到影响。在正常条件下,观察到ABRC321:OsRePRP2.1转基因水稻与野生型植物中有类似的株高、穗长和穗数。见表5。

[0138] 表5. ABRC321:OsRePRP2.1转基因植物的植物生长结果

[0139]

	植物高度 (cm)	穗长 (cm)	穗数量
TNG67	95.9±3.3	18.5±2.7	8.3±1.4
ABRC:P2.1#2	86.3±3.3	16.6±2.5	10.5±2.0
ABRC:P2.1#10	90.7±3.8	17.8±2.5	7.5±1.9
ABRC:P2.1#12	91.6±4.8	17.5±2.7	10.9±1.6

[0140] 1. 在2017年的第一个季节测量每个品系的每个个体的植物株高6穗长和穗数量,并显示为平均值±SD (n=15)。

[0141] 这些结果表明,ABRC321:OsRePRP2.1诱导型的转基因水稻植物由于OsRePRP2.1表达而具有干旱耐受性。然而,这些植物不会因OsRePRP2.1过度表达而遭受任何生长迟缓效应。

[0142] 综上,本发明提供的技术通过将编码重复富含脯氨酸的蛋白质(RePRP)的多核苷酸引入植物中来增进逆境耐受性和/或防止植物生长减少,不但有助于植物在逆境中生存,还能使植物保持生长及生产力,有利于农业发展。

[0143] 以下参考可以用于更好地理解本申请的背景技术:

[0144] Boyer, J.S. (1982), *Science* 218, 443-448.

[0145] Chen et al (2015), *Plant Biotechnology J.* 13, 105-116.

[0146] Hong et al. (2004), *Transgenic Research* 13, 29-39.

[0147] Hsu et al. (2003), *Plant, Cell Environment* 26, 867-874.

[0148] Kar (2011), *Plant Signaling Behavior* 6, 1741-1745.

[0149] Miki et al. (2004), *Plant Cell Physiology* 45, 490-495.

[0150] Saab et al. (1990), *Plant Physiology* 93, 1329-1336.

[0151] Sharp et al. (2004), *J. Experimental Botany* 55, 2343-2351.

[0152] Tilman et al. (2002), *Nature* 418, 671-677.

[0153] Tseng et al. (2013) ,Plant Physiology 163,118-134.

[0154] Xu et al. (2013) ,The New Phytologist 197,139-150.

[0155] 上述参考文献的内容通过引用整体并入本文。

[0156] 其它具体实施例

[0157] 本说明书中公开的所有特征可以以任何组合组合。本说明书中公开的每个特征可以由用于相同,等同或类似目的的替代特征替代。因此,除非另有明确说明,否则所公开的每个特征仅仅是一系列等同或类似特征的一个例子

[0158] 从以上描述中,本领域技术人员可以容易地确定本发明的基本特征,并且在不脱离其精神和范围的情况下,可以对本发明进行各种改变和修改以使其适应各种用法和条件。因此,其他实施例也在权利要求内。

[0159] 序列信息

[0160] >OsRePRP1.1 (SEQ ID NO:1)

[0161] MARRSPCLTAAVLLL GALAVASALVDEAAAAGQGLGHGARFMSKQGRAMYEKPPPELEPKPKPKPHPKHE SKPEPKPEPKPEPKPYPEPKPETKPELKEPKPNPEPKPEPKPEPKPYPEPKPKPKPEPKPEPKPEHKPEPKP EPEPKPYPKPKPEPKPGPKPEPKPEPKPHPEPKPEPKPKPVPHPEPKPEPKPEPKPHPEPKPEPKPEKLPKPEPK PHPEPEPKLKEPKPEPKPEPEPKPEPKPEPKPEPKPYPKPKPEPKPVKPKPIPHPGPKPKPKDPKLEPKPHPEP KPHPMPEPEPKPKPEPKPEPKPYPEPKPKLKEPKPGPKPIAPPNKHKPPHMPATNQ

[0162] >OsRePRP1.2 (SEQ ID NO:2)

[0163] MARRSPCLAVAMLLL GALAVASAFIDEAAAAGRGLGHGARFMSKQGRVITYEKLPEPEPKPKPKPHPKPT PKPEPKPEPEPKPVPEPEPKPEPKPEPKPEPKPEPKPYPEPKPEPKPEPEPKPEPKPEPKPYPEPKPEP KPEPKPEPKPEPKPKPEPKPHPEPKPDPKPEPKPHPEPEPKPEPKPEPKPHPEPEPKPEPKPEPKPEPKPEPK PKPKPEPKPKPEPKPYPEPKPKPEPKPEPKPEPKPEPKPEPKPEPKPEPKPHPKPEPKPEPKPEPKP EPKPEPKPEPKPEPEPKPEPKPEPKPEPKPYPEPKPDPKPEPKPHPEPKPEPKPKQPEPKPEPKPEPKPEPKPE PKPYPEPKPEPKPKPKPEPKPEAPPKHKPPHIPATDQ

[0164] >OsRePRP2.1 (SEQ ID NO:3)

[0165] MRSILSLCFHLALATALAANVPDHIANGRVIEAKSDPKPADPNPKPDPTPKPQPETKPSQPQNPQPNPQ PDPKPSQPDPKPTPQPEPKQDPKPNPQDPKPSQPDPKPTPQDPKQDPQPNPQDPKPTPQPNPKQDPQPNPQP DPKPTPQDPKQDPQPNPQSPKADPKPNPKPKPQPEPSPNPKPEPKPEPKPEPSPNPKPNPNPKPEPQDPKPEPK PQPEPSLPKPPPLSPAIAIIVPGN

[0166] >OsRePRP2.2 (SEQ ID NO:4)

[0167] MRRSILSLCFHLALVIALAANVPDIANGRVIEAKSDPKPADPKPKPDPTPKPQPETKPSQPQNPQPNPQ PDPKPSQPDPKPTPQPEPKQDPQPNPQDPKQSPQDPKPTPQPNPKQDPQPNPQDPKPTLQPNPKQDPQPNPQP NPKPTPQLDPKQDPQPNPQSPKADPKPNPKPKPQPEPSPNPKPEPKPEPKPEPSPNPKPNPNPKPEPQDPKPEPK PQPEPSQPKLPPLSPAIAIIVPGN

[0168] >OsRePRP1.1 (SEQ ID NO:5)



1 caacagcaga agtgagagag ggagaagaag ataagcgaag aggaggagct tagcttgcca  
61 gccatggota ggcctctcc ttgcctcact gccgcogtgc tctgtcttg ggcattggcg  
121 gtggcgagcg ctttagttga tgaagcggcg gcagctggcc agggactcgg ccattgggcc  
181 cgtttcatga gcaagcaggg ccgtgcgatg tacgagaagc cgccagagct ggagccgaag  
241 ccaaagccaa agcctcatcc taagcatgaa tcaaaaccgg agccaaagcc agaaccctaa  
301 ccggagccaa agccataccc agagccgaag ccagagacga aaccggagct aaagccagaa  
361 ccaaaacctt atccagaacc taaacctgag cctaagcctg aaccaaaaacc agaaccctaa  
421 ccatacccag agccgaagcc aaagcccaaa ccggagccaa agccagaacc aaaacctgag  
[0169] 481 cataaacctg aaccaaaacc agaaccagaa ccaaagccat acccaagcc aaagccagag  
541 ccaaaaccgg ggcccaaac ccgagccgaag ccagagccta agccacacc agaaccgaaa  
601 ccggagccca aaccaaagcc agtgccacac cctgaaccaa aaccggaacc aaagccggag  
661 cccaaaccac acccagaacc aaagcctgag ccgaaaccgg agcctaagct acaccggaag  
721 cctgagccaa agccacacc agagcctgag cctaagctta aacctgaacc aaaaccagag  
781 ccaaagccag agcctgaacc gaagcccgag ccaaagcctg aaccaaaacc agagcctaaa  
841 ccatatccaa agccaaaacc ggaacctaaa ccggtgcga agccgaagcc cattccacac  
901 ccaggaccaa aaccaaagcc taaacctgac ccaaagctag agcccaagcc acaccggag  
961 ccaaaaccac atccgatgcc tgaacctgaa ccaaagccta agccgaacc aaagccagag  
1021 cctaaacct acccagaacc aaagcctaaa ctgaaacctg aacctagcc tggaccgaaa  
1081 cctatagcac ccggaacaa gcacaagccg ccgcacatgc caccagcagc aaaccagtga  
1141 ccgagatcgc tggagaccga gcatttgctg gctgcacggg tgaggcaccg acgacattat  
[0170] 1201 ttcaccggag gaaggagcgc tagcgagtca ctacactgta ccgtttctgg aataaagtga  
1261 tgagctagct ttctgcttgc cttttctttt cctctcttat tttctttta tttcatgttg  
1321 gttttctgga tgtgccactg ctagctagtg taattaaatt atttattatg tgctaccgt  
1381 cttttttatt accgtgtctg tgacattcta ttgtctattg gcattattct cattgtaaaa  
1441 ttttttgta atattatttg tcatcatttt taccagctt ctaaaaaaaa aaa  
[0171] >OsRePRP1.2 (SEQ ID NO:6)

1 atggggagggc gctctccttg cctcgccgtc gccatgctcc tgcttggggc gttggcggtg  
 61 gcgagcgccct tcattgatga agcggcggct gctggcggg ggctcggcca tggcgcccgc  
 121 ttcattgagca agcagggctg tgtgacatac gagaagctgc cggagccgga gccgaagcca  
 181 aagccaaagc ctcatcctaa acccagccca aaacctgagc ccaagccaga gccggagcca  
 241 aaaccagtac ctgagcctga gctaaaccg gaaccaaagc cagaacccaa acctgagcct  
 301 aagcctgaac ctaaaccata cccagagcca aaaccggagc cgaagccaga gccaaaacct  
 361 gagccggagc ctaaacctga gctaaagcca gaacccaaac cagaacccaa gccgtaccca  
 421 gagccgaagc cagagccaaa accggaaccg aagccggaac caaacccgga gcccaaacca  
 481 aagccagagc ccaaaccaca cccagaacca aagcctgac cgaaacctga gctaaagcca  
 541 cacccagagc ctgagcctaa gctgaacct aagcctgagc ccaagccaca cctgagcct  
 [0172] 601 gaaccaaagc ctgagcctaa gctgagcca aagccagaac caaagccgga gccaaaacct  
 661 gaacccaaac caaagccaaa gccagagcca aagccaaagc ctgagccaa gcataacct  
 721 gagcctaagc ctaagcctga accaaagcct gagcctaagc ctgagccaaa gccagaacca  
 781 aagccggagc caaacctga accaaaacca gagccaaagc cagagccaaa gccaaagcct  
 841 gagcccaagc cacaccctaa gctgagcct aagcctgagc ccaagccaga accaaagcca  
 901 gagccaaaac ctgaacccaa accagagcca aaaccagagc ctgaaccgaa gctgagcca  
 961 aagcctgaac caaacccaga gcccaaacca tatccagagc ctaaacccgga tcccaaacca  
 1021 gaacccaaac cacaccaga accaaagcca gagcccaagc cacagccgga gcccaaacca  
 1081 gagccgaagc ctgaacctaa accagagcct aagcccgaa caaacccgga gctaaacca  
 1141 taccagagc caaagcctga accgaaacct aagcctaagc ctgagccaaa acctgaagca  
 1201 cctccgaaga agcacaagcc gccgcacata ccgccagcga ccgaccagtg a  
 [0173] OsRePRP2.1 (SEQ ID NO:7)  
 1 aacacaccta actaccacag cttgtgaact atcaagagtg agtagtagag tttgcagtga  
 61 caacgagatg aggagatcaa tctctcact gtgcttccat ttggcgcttg tcattgcaat  
 121 ggcagcaaat gttcctgaca ttgccaatgg acgctgatt gaagctaaat ctgatccaaa  
 181 gccagcagat cccaagccta aacctgacc aacacccaaa ccacaaccag agacaaagcc  
 [0174] 241 cagtcacag cctaacctc aaacctgacc acagccagat ccaaacccat caccgagcc  
 301 tgatccaaaa cctaccacac agcctgacc aaaacaagat cctcaaccaa acccagacc  
 361 ggatccaaaa caatgccgc agcctgacc aaaacctaca ccacagccta acccaaaaca  
 421 agatcctcaa ccgaaccac aacctgacc aaaaccaacg ctgcaaccta acccaaaaca  
 481 agatcctcag ccgaaccac agcctaacc gaaaccaacg ccacagcttg acccgaaca  
 541 agatcctcaa ccgaaccac aacctagcc caaagctgac ccaaacccaa atccaaagcc  
 601 taagccaaa ccggagccga gcccaaatcc taagccggag ccaaacctg aacccaaacc  
 661 tgagccgagt cctaacccca agccaaatcc taatcccaag ccggagccac agcctgacc  
 721 taagccgaaa cccaagcctc agccagagcc gtctcaacca aagctgccac cactttcacc  
 781 agcaatagct ataattgtg ccgggaactg agtagacttg gttgtttgct acgtatgac  
 [0175] 841 ccgcatactt ttggtatgta ctattgctct agtgactatt tgtgtgtttt tctgtgtgtg  
 901 ttcactagtg tctcatgtg gctatctatg tgtttctta atgocgttg atatgagcag  
 961 gcgtgcttct tataataaag cacaataca tacatacata cacatacata tacatatata  
 1021 tatacacgtg ttttatgtat gtgcgtacat accatcaata aaaagagcat gtaccctgt  
 1081 gtgtcaat  
 [0176] >OsRePRP2.2 (SEQ ID NO:8)

1 aacacaccta gctaccacag cttgtgtact gtcaagagtg agtagtagag tttgtagtga  
61 caacgagatg agatcaatcc tctcactgtg cttccatttg ggccttgcca ttgcattggc  
121 ggcaaatggt cctgatcaca ttgccaatgg acgcgtgatt gaagctaaat ctgatccaaa  
181 gccagcagat cccaatccta aacctgaccc aacacccaaa ccacaaccag agacaaagcc  
241 cagtccacag cctaaccctc aacctaaccc acagccagat ccaaaacctat caccgcagcc  
301 tgacccaaaa cctacaccac agcctgaacc aaaacaagat cctaaaccaa acccacaacc  
361 ggatccaaaa ccatctccgc agcctgaacc gaaacctaca ccacagcctg acccaaaaaca  
421 agatcctcaa ccgaaccac aacctgaccc aaaaccaacg ccgcaacctc acccaaaaaca  
[0177] 481 agatcctcaa ccgaaccac agcctgaccc aaaaccaacg ccacagcctg acccgaaaca  
541 agatcctcaa ccgaaccac aacctgaccc caaagctgac ccaaaaccaa atccaaagcc  
601 taagccacaa ccggagccga gcccaaatcc taagccggag ccaaaagcctg aacccaaacc  
661 tgagccaagt cctaaccoca agcccaatcc taatcctaag ccggagccac agcctgatcc  
721 taagccagaa ccaagcctc agccagagcc atctctgcca aagccaccac ctctttcacc  
781 agcaatagct ataattgtgc ccgggaactg agtagacttt ttgctacgta tgattccgca  
841 tagttttggt atgtactatt gctctagtga ctatctatgt gtttgtcgtg tgttgttcc  
901 tgggtgtatgt gtccatgtgg ctatctatgt gttttcttaa tgctgttgca tctgagcagg  
961 cgtgcttctt ataataaagc atatatatgc acgtgtgta tgtatgtgg tacatatata  
1021 ccatgaataa aaagagcatg tatcctgtg tgteact

[0178] >1XABRC321 (SEQ ID NO:9)

1 ggtaccgcaa ccgctgtcct cctaacgtgg ccgctcgaga ttgccaccgg tctagagtcg 61  
[0179] actgcagcaa ttccggcatg ccgcagcaca ctataaatac ctggccagac acacaagctg 121  
aatgcacag ttctccatcg tactcttcga gagcacagca agagag

[0180] >2XABRC321 (SEQ ID NO:10)

1 ggtaccgcaa ccgctgtcct cctaacgtgg ccgctcgaga ttgccaccgg ggtaccgcaa 61  
[0181] ccgctgtcct cctaacgtgg ccgctcgaga ttgccaccgg tctagagtcg actgcagcaa 121  
ttccggcatg ccgcagcaca ctataaatac ctggccagac acacaagctg aatgcacag 181  
ttctccatcg tactcttcga gagcacagca agagag

[0182] >3XABRC321 (SEQ ID NO:11)

1 ggtaccgcaa ccgctgtcct cctaacgtgg ccgctcgaga ttgccaccgg ggtaccgcaa 61  
[0183] ccgctgtcct cctaacgtgg ccgctcgaga ttgccaccgg ggtaccgcaa ccgctgtcct 121  
cctaacgtgg ccgctcgaga ttgccaccgg tctagagtcg actgcagcaa ttccggcatg 181  
[0184] ccgcagcaca ctataaatac ctggccagac acacaagctg aatgcacag ttctccatcg 241  
tactcttcga gagcacagca agagag

[0185] >Ubi:OsRePRP2.1 (SEQ ID NO:12)

1 ctgcagtgca gcgtagcccg gtcgtgcccc tctctagaga taatgagcat tgeatgteta  
61 agttataaaa aattaccaca tttttttttt gtcacacttg tttgaagtgc agtttateta  
121 tctttataca tatatntaaa ctttactcta cgaataatat aatctatagt actacaataa  
181 tatcagtggt ttagagaatc atataaatga acagttagac atgggtotaaa ggacaattga  
241 gtatnttgac aacaggactc tacagnttta tctntntagt gtgcatgtgt tctcctnttt  
301 tntnttgcaa atagcttcac ctatataata cttcatccat tttattagta catccattta  
361 gggntntaggg ttaatggntt ttatagacta atntntntag tacatctatt ttattctatt  
421 ttagcctcta aattaagaaa actaaaactc tntntntagt tntntntta ataatttaga  
481 tataaaatag aataaaataa agtgactaaa aattaaacia ataccntta agaaattaaa  
541 aaaactaagg aaacattntt cttgnttcga gtagataatg ccagcctgnt aaacgcctc  
601 gacgcagtc aacggacacc aaccagcgaa ccagcagcgt cgcgtcgggc caagcgaagc  
661 agacggcacg gcatctctgt cgtgcctct ggaccctct cgagagntcc gctccaccgt  
721 tggacttctg cgcctgtcgg catccagaaa ttgctggtgg gagcggcaga cgtgagcgg  
781 cacggcaggc ggcctcctcc tctctcagc gcaccggcag ctacggggga ttcctntccc  
841 accgctcctt cgtnttccct tctcgcctcg ccgtaataaa tagacacccc ctccacaccc  
901 tctntcccca acctcgtgnt gttcggagcg cacacacaca caaccagatc tccccaaat  
961 ccaccctcgc gcacctcgc tccaaggtac gccgctcgtc ctcccccccc ctctctacct  
1021 tctctagatc ggcgttccgg tccatggnta gggcccggta gntctacttc tgttcatgnt  
1081 tgtgnttagat ccgtgntntg gnttagatccg tgcctgctagc gntcgtacac ggatgcgacc  
[0186] 1141 tgtacgtcag acacgntctg attgctaact tgcacgtgnt tctccttggg gaatcctggg  
1201 atggctctag ccgntccgca gacgggatcg atntcatgat tntntntgnt tgcnttcata  
1261 gggntntgnt tgcctnttcc cttntnttca atatatgcg tgcactntgnt tgcctggntca  
1321 tctnttcatg cttntntntg tctntgntgt gatgatgtgg tctgnttggg cggctcctct  
1381 agatcggagt agaattctgt tcaaaactac ctgntgntt tattaatntt ggatctgnt  
1441 gtgtgtgcca tacatnttca tagnttacga ttgaagatga tggatggaaa katcagatc  
1501 ggatagntt acatgntgat gcggtnttta ctgatgcata tacagagatg cttntgntc  
1561 cttgnttntg atgatgtgnt gntgnttggc gntcctcctc tgcntctaga tccgagtaga  
1621 atactgntt aaactacctg gtgntntt taatnttgg aactgatntg tntgntcctc  
1681 atcttcatag ttacgagntt aagatggatg gaaatatcga tctaggatag gntatcatgt  
1741 tgatgtggnt tntactgatg catatacatg atggcatatg cagcatctat tcatatgctc  
1801 taaccttgag tacctatcta ttataataaa caagtatgnt ttataatntt tntgatctg  
1861 atatactntg atgatggcat atgcagcagc tatatgtgga tntntnttagc cctgccttca  
1921 tacctatntt atntgctntg tactgnttct tntgntgatg ctaccctgnt tntntgntgnt  
1981 tactnttgc gatgaggaga tcaatcctct cactgtgctt ccattntggc cttgntcctg  
2041 cattggcagc aaatgntcct gacnttgcga atggacgcgt gnttgaagct aaatctgatc  
2101 caaagccagc agatcccaag cctaaacctg acccaacacc aaaaccacia ccagagacia  
2161 agccagntcc acagcctaac cctcaacctc acccaagcc agatccaaaa ccatcaccgc  
2221 agcctgatcc aaaacctaca ccacagcctg aaccaaaaca agatcctcaa ccaaacccac  
2281 agccgatcc aaaacaatc cgcagcctg acccaaaccc tacaccacag ctaaacccaa

- 2341 aacaagatcc tcaaccgaac ccacaacctg acccaaaacc aacgctgeaa cctaacccea  
 2401 aacaagatcc tcagccgaac ccacagccta acccgaaacc aacgccacag cttgaccoga  
 2461 aacaagatcc tcaaccgaac ccacaaccta gccccaaagc tgacccaaaa ccaaatccaa  
 [0187] 2521 agcctaagcc acaaccggag ccgagcccaa atcctaagcc ggagccaaaa cctgaaccca  
 2581 aacctgagcc gagtcctaac cccaagccaa atcctaatec caagccggag ccacagcctg  
 2641 atcctaagcc agaacccaag cctcagccag agccgtctca accaaagctg ccaccacttt  
 2701 caccagcaat agctataatt gtgcccggga actga
- [0188] >3xABRC321i:OsRePRP2.1 (SEQ ID NO:13)  
 1 ggtaccgeaa cgcgtgtect cctacgtgg cggctcgaga ttgccaccgg ggtaccgcaa  
 61 cgcgtgtect cctacgtgg cggctcgaga ttgccaccgg ggtaccgcaa cgcgtgtect  
 121 cctacgtgg cggctcgaga ttgccaccgg tctagagtgc acctgcagca attccggcat  
 181 gccgcagcac actataaata cctggccaga cacacaagct gaatgcatca gttctccatc  
 241 gtactcttcg agagecacagc aagagagtga tcatttcagg taagatctag agtcgacctg  
 301 caggcgaccg tatgtatatt accctatctc taccttgcaa atcgcgtgtg taeggatett  
 361 ctccgtggtc gagccgagtg attgctgate tgatatecta tctgctgctt cgtttccttg  
 421 cgcaggccaa gcatcacgct gctgtacct ctgtaagttg atcagtcgct tgtggtaact  
 481 tttagtacgt ggggaagtaa tccttgtgct ggatgtgacc ctggcggate tgtataatac  
 541 aggtatgcgg atccccggg ctgcaggaat tcgatataca gctcaccatg aggagatcaa  
 601 tcctctcact gtgettccat ttggcgttg tcattgcatt gccagcaaat gttcctgaca  
 [0189] 661 ttgccaatgg acgctgtgatt gaagctaaat ctgatccaaa gccagcagat cccaagccta  
 721 aacctgacct aacaccaaaa ccacaaccag agacaaagcc cagtccacag cctaaccctc  
 781 aacctaaccc acagccagat ccaaaaccat caccgcagcc tgatccaaaa cctacaccac  
 841 agcctgaacc aaaacaagat cctcaaccaa acccacagcc ggatccaaaa caatcgcgcg  
 901 agcctgacct aaaacctaca ccacagccta acccaaaaca agatcctcaa ccgaaccac  
 961 aacctgacct aaaaccaacg ctgcaacct acccaaaaca agatcctcag ccgaaccac  
 1021 agcctaacc gaaccaacg ccacagcttg accgaaaca agatcctcaa ccgaaccac  
 1081 aacctagccc caaagctgac ccaaaaccaa atccaaagcc taagccacaa ccggagccga  
 1141 gcccaaatcc taagccggag ccaaaacctg aacccaaac tgagccgagt cctaacccca  
 1201 agcccaatcc taatcccaag ccggagccac agcctgatcc taagccagaa ccaagcctc  
 1261 agccagagcc gtctcaacca aagctgccc cactttcacc agcaatagct ataattgtgc  
 1321 ccgggaactg a
- [0190] >35S:OsRePRP2.1 (SEQ ID NO:14)  
 1 tcgagggatc cgtccccctg gttctctcca aatgaaatga acttcottat atagaggaag  
 61 ggtcttgega aggatagtgg gattgtgctg catccottac gtcagtggag attccagata  
 121 ggccctaacgc ttgtccaaga totattcagg attccagata ggccctaacgc ttgtccaaga  
 181 totattcagg atatoacatc aatccacttg ctttgaagac gtggttgaa cgtcttcttt  
 241 ttccacgatg ctctctgtgg gtgggggtcc atctttggga ccactgtcgg cagaggcctc  
 [0191] 301 ttcaacgatg gcctttcctt tatcgcaatg atggcatttg taggagccac ctctcttttc  
 361 cactatcttc acaataaagt gacagatagc tgggcaatgg aatccgagga ggtttccgga  
 421 taatgaggag atcaatctc tcaactgtgt tccatttggc gcttgtcatt gcattggcag  
 481 caaatgttcc tgacattgcc aatggacgag tgattgaagc taaatctgat ccaagccag  
 541 cagatcccaa gcctaaacct gacccaacac caaaaccaca accagagaca aagcccagtc

[0192]

601 cacagcctaa cctcaacct aaccacagc cagatccaaa acctcaecg cagcctgatc  
661 caaaacctac accacagcct gaacaaaac aagatcctca accaaacca cagccggatc  
721 caaaacaatc gccgcagcct gacccaaaac ctacaccaca gcctaacca aaacaagatc  
781 ctcaaccgaa cccacaacct gacccaaaac caacgtgca acctaacca aaacaagatc  
841 ctcaaccgaa cccacagcct aaccgaaaac caacgccaca gcttgaccgg aaacaagatc  
901 ctcaaccgaa cccacaacct agcccacaag ctgacccaaa accaatcca aagcctaagc  
961 cacaaccgga gccgagcca aatcctaage cggagccaaa acctgaacc aaacctgagc  
1021 cgagtcttaa cccaagcca aatcctaate ccaagccgga gccacagcct gatcctaagc  
1081 cagaacccaa gccacagcca gagccgtctc aaccaaagct gccaccactt tcaccagcaa  
1141 tagctataat tgtgccggg aactaccat acgatgttcc agattacgct tga

## 序列表

- <110> 中央研究院  
 <120> 增进植物逆境耐受性的方法  
 <130> IA0001/ACA0128US  
 <150> 62/472,669  
 <151> 2017-03-17  
 <160> 25  
 <170> PatentIn version 3.5  
 <210> 1  
 <211> 358  
 <212> PRT  
 <213> 水稻 (*Oryza sativa*)  
 <400> 1

```

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

```

195	200	205
Glu Pro Lys Pro Glu Pro Lys Leu His Pro Lys Pro Glu Pro Lys Pro		
210	215	220
His Pro Glu Pro Glu Pro Lys Leu Lys Pro Glu Pro Lys Pro Glu Pro		
225	230	235
Lys Pro Glu Pro Glu Pro Lys Pro Glu Pro Lys Pro Glu Pro Lys Pro		
	245	250
		255
Glu Pro Lys Pro Tyr Pro Lys Pro Lys Pro Glu Pro Lys Pro Val Pro		
	260	265
		270
Lys Pro Lys Pro Ile Pro His Pro Gly Pro Lys Pro Lys Pro Lys Pro		
	275	280
		285
Asp Pro Lys Leu Glu Pro Lys Pro His Pro Glu Pro Lys Pro His Pro		
	290	295
		300
Met Pro Glu Pro Glu Pro Lys Pro Lys Pro Glu Pro Lys Pro Glu Pro		
	305	310
		315
Lys Pro Tyr Pro Glu Pro Lys Pro Lys Leu Lys Pro Glu Pro Lys Pro		
	325	330
		335
Gly Pro Lys Pro Ile Ala Pro Pro Asn Lys His Lys Pro Pro His Met		
	340	345
		350
Pro Pro Ala Thr Asn Gln		
355		
<210> 2		
<211> 416		
<212> PRT		
<213> 水稻(Oryza sativa)		
<400> 2		
Met Ala Arg Arg Ser Pro Cys Leu Ala Val Ala Met Leu Leu Leu Gly		
1	5	10
		15
Ala Leu Ala Val Ala Ser Ala Phe Ile Asp Glu Ala Ala Ala Ala Gly		
	20	25
		30
Arg Gly Leu Gly His Gly Ala Arg Phe Met Ser Lys Gln Gly Arg Val		
	35	40
		45
Thr Tyr Glu Lys Leu Pro Glu Pro Glu Pro Lys Pro Lys Pro Lys Pro		
	50	55
		60
His Pro Lys Pro Thr Pro Lys Pro Glu Pro Lys Pro Glu Pro Glu Pro		
	65	70
		75
		80
Lys Pro Val Pro Glu Pro Glu Pro Lys Pro Glu Pro Lys Pro Glu Pro		
	85	90
		95
Lys Pro Glu Pro Lys Pro Glu Pro Lys Pro Tyr Pro Glu Pro Lys Pro		



100	105	110
Glu Pro Lys Pro Glu Pro Lys Pro	Glu Pro Glu Pro Lys Pro	Glu Pro Lys Pro Glu Pro
115	120	125
Lys Pro Glu Pro Lys Pro Glu Pro	Lys Pro Tyr Pro Glu Pro Lys Pro	
130	135	140
Glu Pro Lys Pro Glu Pro Lys Pro	Glu Pro Lys Pro Glu Pro Lys Pro	
145	150	155
Lys Pro Glu Pro Lys Pro His Pro	Glu Pro Lys Pro Asp Pro Lys Pro	
165	170	175
Glu Pro Lys Pro His Pro Glu Pro	Glu Pro Lys Pro Glu Pro Lys Pro	
180	185	190
Glu Pro Lys Pro His Pro Glu Pro	Glu Pro Lys Pro Glu Pro Lys Pro	
195	200	205
Glu Pro Lys Pro Glu Pro Lys Pro	Glu Pro Lys Pro Glu Pro Lys Pro	
210	215	220
Lys Pro Lys Pro Glu Pro Lys Pro	Lys Pro Glu Pro Lys Pro Tyr Pro	
225	230	235
Glu Pro Lys Pro Lys Pro Glu Pro	Lys Pro Glu Pro Lys Pro Glu Pro	
245	250	255
Lys Pro Glu Pro Lys Pro Glu Pro	Lys Pro Glu Pro Lys Pro Glu Pro	
260	265	270
Lys Pro Glu Pro Lys Pro Lys Pro	Glu Pro Lys Pro His Pro Lys Pro	
275	280	285
Glu Pro Lys Pro Glu Pro Lys Pro	Glu Pro Lys Pro Glu Pro Lys Pro	
290	295	300
Glu Pro Lys Pro Glu Pro Lys Pro	Glu Pro Glu Pro Lys Pro Glu Pro	
305	310	315
Lys Pro Glu Pro Lys Pro Glu Pro	Lys Pro Tyr Pro Glu Pro Lys Pro	
325	330	335
Asp Pro Lys Pro Glu Pro Lys Pro	His Pro Glu Pro Lys Pro Glu Pro	
340	345	350
Lys Pro Gln Pro Glu Pro Lys Pro	Glu Pro Lys Pro Glu Pro Lys Pro	
355	360	365
Glu Pro Lys Pro Glu Pro Lys Pro	Glu Pro Lys Pro Tyr Pro Glu Pro	
370	375	380
Lys Pro Glu Pro Lys Pro Lys Pro	Glu Pro Lys Pro Glu Ala	
385	390	395
Pro Pro Lys Lys His Lys Pro Pro	His Ile Pro Pro Ala Thr Asp Gln	
405	410	415

<210> 3  
 <211> 247  
 <212> PRT  
 <213> 水稻(Oryza sativa)  
 <400> 3  
 Met Arg Ser Ile Leu Ser Leu Cys Phe His Leu Ala Leu Ala Ile Ala  
 1                   5                   10                   15  
 Leu Ala Ala Asn Val Pro Asp His Ile Ala Asn Gly Arg Val Ile Glu  
                   20                   25                   30  
 Ala Lys Ser Asp Pro Lys Pro Ala Asp Pro Asn Pro Lys Pro Asp Pro  
                   35                   40                   45  
 Thr Pro Lys Pro Gln Pro Glu Thr Lys Pro Ser Pro Gln Pro Asn Pro  
                   50                   55                   60  
 Gln Pro Asn Pro Gln Pro Asp Pro Lys Pro Ser Pro Gln Pro Asp Pro  
 65                   70                   75                   80  
 Lys Pro Thr Pro Gln Pro Glu Pro Lys Gln Asp Pro Lys Pro Asn Pro  
                   85                   90                   95  
 Gln Pro Asp Pro Lys Pro Ser Pro Gln Pro Asp Pro Lys Pro Thr Pro  
                   100                   105                   110  
 Gln Pro Asp Pro Lys Gln Asp Pro Gln Pro Asn Pro Gln Pro Asp Pro  
                   115                   120                   125  
 Lys Pro Thr Pro Gln Pro Asn Pro Lys Gln Asp Pro Gln Pro Asn Pro  
                   130                   135                   140  
 Gln Pro Asp Pro Lys Pro Thr Pro Gln Pro Asp Pro Lys Gln Asp Pro  
 145                   150                   155                   160  
 Gln Pro Asn Pro Gln Pro Ser Pro Lys Ala Asp Pro Lys Pro Asn Pro  
                   165                   170                   175  
 Lys Pro Lys Pro Gln Pro Glu Pro Ser Pro Asn Pro Lys Pro Glu Pro  
                   180                   185                   190  
 Lys Pro Glu Pro Lys Pro Glu Pro Ser Pro Asn Pro Lys Pro Asn Pro  
                   195                   200                   205  
 Asn Pro Lys Pro Glu Pro Gln Pro Asp Pro Lys Pro Glu Pro Lys Pro  
                   210                   215                   220  
 Gln Pro Glu Pro Ser Leu Pro Lys Pro Pro Pro Leu Ser Pro Ala Ile  
 225                   230                   235                   240  
 Ala Ile Ile Val Pro Gly Asn  
                   245

<210> 4

<211> 247

<212> PRT

<213> 水稻(Oryza sativa)

<400> 4

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

<210> 5

<211> 1493

<212> DNA

<213> 水稻(Oryza sativa)

## &lt;400&gt; 5

caacagcaga agtgagagag ggagaagaag ataagcgaag aggaggagct tagcttgcca 60  
 gccatggcta ggcgctctcc ttgcctcact gccgccgtgc tcttgcttgg ggcatgtggcg 120  
 gtggcgagcg ctttagttga tgaagcggcg gcagctggcc agggactcgg ccatggcgcc 180  
 cgcttcatga gcaagcaggg ccgtgcgatg tacgagaagc cgccagagct ggagccgaag 240  
 ccaaagccaa agcctcatcc taagcatgaa tcaaaaccgg agccaaagcc agaacctaaag 300  
 ccggagccaa agccataccc agagccgaag ccagagacga aaccggagct aaagccagaa 360  
 ccaaaaccta atccagaacc taaacctgag cctaagcctg aacccaaacc agaaccaaag 420  
 ccatacccag agccgaagcc aaagcccaaa ccggagccaa agccagaacc aaaacctgag 480  
 cataaacctg aacccaaacc agaaccagaa ccaaagccat acccaagcc aaagccagag 540  
 ccaaaaccgg ggcccaaac ccgagccgaag ccagagccta agccacacc agaaccgaa 600  
 ccggagccca aacccaaagcc agtgccacac cctgaacca aaccggaacc aaagccggag 660  
 cccaaaccac acccagaacc aaagcctgag ccgaaaccg agcctaagct acaccggaag 720  
 cctgagccaa agccacacc agagcctgag cetaagetta aacctgaacc aaaaccagag 780  
 ccaaagccag agcctgaacc gaagcccgag ccaaagcctg aacccaaacc agagcctaa 840  
 ccataccaag agccaaaac ggaacctaaa ccggtgccga agccgaagcc cattccacac 900  
 ccaggaccaa aacccaaagcc taaacctgac ccaaagctag agcccaagcc acaccggag 960  
 ccaaaaccac atccgatgcc tgaacctgaa ccaaagccta agccgaacc aaagccagag 1020  
 cctaaacctat acccagaacc aaagcctaaa ctgaaacctg aacctagcc tggaccgaa 1080  
 cctatagcac cgccgaacaa gcacaagccg ccgcacatgc caccagcgac aaaccagtga 1140  
 cggcgatcgc tggagaccga gcatttgcgt gctgcacggt tgaggcaccg acgacattat 1200  
 ttcaccggag gaaggagcgc tagcgagtca ctacactgta ccgtttctgg aataaagtga 1260  
 tgagctagct ttctgcttgc cttttttttt cctctcttat tttctttta tttcatgttg 1320  
 gtttttcgga tgtgccactg ctagctagt taattaaatt atttattatg tgcctaccgt 1380  
 catttttatt accgtgtctg tgacattcta ttgtctattg gcattattct cattgtaaaa 1440  
 tcttttggtg atattatttg tcatcatttt taccagctt ctaaaaaaaaa aaa 1493

## &lt;210&gt; 6

## &lt;211&gt; 1251

## &lt;212&gt; DNA

<213> 水稻 (*Oryza sativa*)

## &lt;400&gt; 6

atggcgaggc gctctccttg cctcgcctgc gccatgctec tgcttggggc gttggcggtg 60  
 gcgagcgctt tcattgatga agcggcgget gctggccggg ggctcggcca tggcgcccgc 120  
 ttcatgagca agcagggtcg tgtgacatac gagaagctgc cggagccgga gccgaagcca 180  
 aagccaaagc ctcatcctaa acccagcca aaacctgagc ccaagccaga gccggagcca 240  
 aaaccagtac ctgagcctga gcctaaaccg gaacccaaagc cagaacccaa acctgagcct 300  
 aagcctgaac ctaaaccata cccagagcca aaaccggagc cgaagccaga gccaaaacct 360  
 gagccggagc ctaaacctga gcctaaagcca gaacccaaac cagaacccaa gccgtacca 420  
 gagccgaagc cagagccaaa accggaaccg aagccggaac caaaaccgga gcccaaacca 480

aagccagagc ccaaaccaca ccagAACCA aagcctgate cgaaacctga gcctaagcca 540  
 caccagagc ctgagcctaa gcctgaacct aagcctgagc ccaagccaca ccctgagcct 600  
 gaaccaaagc ctgagcctaa gcctgagcca aagccagaac caaagccgga gccaaaacct 660  
 gaacaaaaac caaagccaaa gccagagcca aagccaaagc ctgagcccaa gccataacct 720  
 gagcctaagc ctaagcctga accaaagcct gagcctaagc ctgagccaaa gccagaacca 780  
 aagccggagc caaaacctga accaaaacca gagccaaagc cagagccaaa gccaaagcct 840  
 gagcccaagc cacaccctaa gcctgagcct aagcctgagc ccaagccaga accaaagcca 900  
 gagccaaaac ctgaacccaaa accagagcca aaaccagagc ctgaaccgaa gcctgagcca 960  
 aagcctgaac caaaaccaga gccaaaacca taccagagc ctaaaccgga tccaaaacca 1020  
 gaaccaaaac cacaccaga accaaagcca gageccaagc cacagccgga gccaaaacca 1080  
 gagccgaagc ctgaacctaa accagagcct aagccgaac caaaaccgga gcctaaacca 1140  
 taccagagc caaagcctga accgaaacct aagcctaagc ctgagccaaa acctgaagca 1200  
 cctccgaaga agcacaagcc gccgcacata ccgccagcga ccgaccagtg a 1251

<210> 7

<211> 1088

<212> DNA

<213> 水稻 (*Oryza sativa*)

<400> 7

aacacaccta actaccacag cttgtgaact atcaagagtg agtagtagag tttgcagtga 60  
 caacgagatg aggagatcaa tcctctcaact gtgettccat ttggcgcttg tcattgcatt 120  
 ggcagcaaat gttcctgaca ttgccaatgg acgcgtgatt gaagctaaat ctgatccaaa 180  
 gccagcagat cccaagccta aacctgacce aacacaaaa ccacaaccag agacaaagcc 240  
 cagtccacag cctaaccctc aacctaacce acagccagat ccaaaccat caccgcagcc 300  
 tgatccaaaa cctacaccac agcctgaacc aaaacaagat cctcaacca acccacagcc 360  
 ggatccaaaa caatcgccgc agcctgacce aaaacctaca ccacagccta acccaaaaca 420  
 agatcctcaa ccgaaccac aacctgacce aaaaccaacg ctgcaaccta acccaaaaca 480  
 agatcctcag ccgaaccac agcctaacce gaaaccaacg ccacagcttg acccgaaaaca 540  
 agatcctcaa ccgaaccac aacctagccc caaagctgac caaaacca atccaaagcc 600  
 taagccacaa ccggagccga gccaaaatcc taagccggag caaaacctg aacccaaacc 660  
 tgagccgagt ctaaacceca agccaaaatcc taatcccaag ccggagccac agcctgatcc 720  
 taagccagaa cccaagcctc agccagagcc gtctcaacca aagctgccac cactttcacc 780  
 agcaatagct ataattgtgc ccgggaactg agtagacttg gttgtttgct acgtatgac 840  
 ccgcatactt ttggtatgta ctattgetet agtgactatt tgtgtgtttt tcgtgtgttg 900  
 ttcactagtg tgccatgtg gctatctatg gtttttetta atgccgttgc atatgagcag 960  
 gcgtgcttct tataataaag catacataca tacatacata catacataca tacatatata 1020  
 tatacacgtg ttttatgtat gtgcgtacat accatcaata aaaagagcat gtatccctgt 1080  
 gtgtcaat 1088

<210> 8

<211> 1057

<212> DNA

<213> 水稻 (*Oryza sativa*)

<400> 8

```

aacacaccta gctaccacag cttgtgtact gtcaagagtg agtagtagag tttgtagtga 60
caacgagatg agatcaatcc tctcactgtg cttccatttg gcgcttgcca ttgcattggc 120
ggcaaatggt cctgatcaca ttgccaatgg acgcgtgatt gaagctaaat ctgatccaaa 180
gccagcagat cccaatccta aacctgacce aacaccaaaa ccacaaccag agacaaagcc 240
cagtccacag cctaaccctc aacctaacce acagccagat ccaaaacct caccgcagcc 300
tgacccaaaa cctacaccac agcctgaacc aaaacaagat cctaaacca acccacaacc 360
ggatccaaaa ccatctccgc agcctgacce gaaacctaca ccacagcctg acccaaaaca 420
agatcctcaa ccgaacccac aacctgacce aaaaccaacg ccgcaacct acccaaaaca 480
agatcctcag ccgaacccac agcctgacce aaaaccaacg ccacagcctg acccgaaaca 540
agatcctcaa ccgaacccgc aacctagccc caaagctgac ccaaaacca atccaaagcc 600
taagccacaa ccggagccga gcccaaatcc taagccggag ccaaagcctg aacccaaacc 660
tgagccaagt cctaacecca agccaaatcc taatcetaag ccggagccac agcctgatcc 720
taagccagaa cccaagcctc agccagagcc atctctgcca aagccaccac ctctttcacc 780
agcaatagct ataattgtgc ccgggaactg agtagacttt ttgctacgta tgattccgca 840
tagttttggt atgtactatt gctctagtga ctatctatgt gtttgtcgtg tgttgttcac 900
tggtgtatgt gtccatgtgg ctatctatgt gttttcttaa tgctgttgca tctgagcagg 960
cgtgcttctt ataataaagc atatatatgc acgtgtgtta tgtatgtgcg tacatatata 1020
ccatgaataa aaagagcatg tatccctgtg tgctact 1057

```

<210> 9

<211> 166

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 1XABRC321

<400> 9

```

ggtaccgcaa cgcgtgtcct ccctacgtgg cggetcgaga ttgccaccgg tctagagtgc 60
actgcagcaa ttccggcatg ccgcagcaca ctataatac ctggccagac acacaagctg 120
aatgcatcag ttctccatcg tacttcttcca gagcacagca agagag 166

```

<210> 10

<211> 216

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 2XABRC321

<400> 10

```

ggtaccgcaa cgcgtgtcct ccctacgtgg cggetcgaga ttgccaccgg ggtaccgcaa 60

```

cgcgtgtcct ccctacgtgg cggetcgaga ttgccaccgg tctagagtcg actgcagcaa 120  
 ttccggcatg ccgcagcaca ctataaatac ctggccagac acacaagctg aatgcatcag 180  
 ttctccatcg tactcttcga gagcacagca agagag 216

<210> 11

<211> 266

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 3XABRC321

<400> 11

ggtaccgcaa cgcgtgtcct ccctacgtgg cggetcgaga ttgccaccgg ggtaccgcaa 60  
 cgcgtgtcct ccctacgtgg cggetcgaga ttgccaccgg ggtaccgcaa cgcgtgtcct 120  
 ccctacgtgg cggetcgaga ttgccaccgg tctagagtcg actgcagcaa ttccggcatg 180  
 ccgcagcaca ctataaatac ctggccagac acacaagctg aatgcatcag ttctccatcg 240  
 tactcttcga gagcacagca agagag 266

<210> 12

<211> 2735

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> Ubi:OsRePRP2.1

<400> 12

ctgcagtgca gcgtgaccgg gtcgtgcccc tctctagaga taatgagcat tgcattgtcta 60  
 agttataaaa aattaccaca tatttttttt gtcacacttg tttgaagtgc agtttatcta 120  
 tctttataca tatatttaaa ctttactcta cgaataatat aatctatagt actacaataa 180  
 tatcagtgtt ttagagaatc atataaatga acagttagac atggtctaaa ggacaattga 240  
 gtattttgac aacaggactc tacagtttta tcttttagt gtgcatgtgt tctccttttt 300  
 ttttttgcaa atagcttcac ctatataata cttcatccat tttattagta catccattta 360  
 gggtttaggg ttaatggttt ttatagacta attttttag tacatctatt ttattctatt 420  
 tttagcctcta aattaagaaa actaaaactc tatttttagt tttttattta ataatttaga 480  
 tataaaatag aataaaataa agtgactaaa aattaaaca atacccttta agaaatttaa 540  
 aaaactaagg aaacattttt ctgttttcga gtagataatg ccagcctgtt aaacgcctgc 600  
 gacgcagtct aacggacacc aaccagcgaa ccagcagcgt cgcgtcgggc caagcgaagc 660  
 agacggcacg gcattctctgt cgtgcctctt ggaccctctt cgagagttcc gctccaccgt 720  
 tggacttcgt ccgctgtcgg catccagaaa ttgcgtggcg gagcggcaga cgtgagccgg 780  
 cacggcagge ggctctctcc tctctctcag geaccggcag ctacggggga tctcttctcc 840  
 accgctcctt cgttttccct tctctgcccc ccgtaataaa tagacacccc ctccacaccc 900  
 tctttcccca acctcgtgtt gttcggagcg cacacacaca caaccagatc tcccccaaat 960  
 ccaccgctcg gcacctccgc ttcaaggtac gccgctcgtc ctccccccc ctctctacct 1020

tctctagatc ggcgttccgg tccatggta gggcccggta gttctacttc tgttcatggt 1080  
 tgtgttagat ccgtgtttgt gttagatccg tgctgctagc gttcgtacac ggatgcgacc 1140  
 tgtacgtcag acacgttctg attgctaact tgccagtgtt tctctttggg gaatcctggg 1200  
 atggctctag ccgttccgca gacgggatcg atttcatgat tttttttggt tcgttgcata 1260  
 gggtttgggt tgcccttttc ctttatttca atatatgccg tgcacttgtt tgcggttca 1320  
 tcttttcatg cttttttttg tcttggttgt gatgatgtgg tctggttggg cggtcgttct 1380  
 agatcggagt agaattctgt ttcaaacctac ctgggtggatt tattaatfff ggatctgtat 1440  
 gtgtgtgcca tacatattca tagttacgaa ttgaagatga tggatggaaa tatcgatcta 1500  
 ggataggtat acatgttgat gcgggtttta ctgatgcata tacagagatg cttttgttcg 1560  
 cttggttgtg atgatgtggt gtggttgggc ggtcgttcat tcgttctaga tcggagtaga 1620  
 atactgtttc aaactacctg gtgtatttat taatfffaga actgtatgtg tgtgtcatac 1680  
 atcttcatag ttacgagttt aagatggatg gaaatctga tctaggatag gtatacatgt 1740  
 tgatgtgggt ttactgatg catatacatg atggcatatg cagcatctat tcatatgctc 1800  
 taacctgag tacctatcta ttataataaa caagtatggt ttataattat tttgatcttg 1860  
 atatacttgg atgatggcat atgcagcagc tatatgtgga ttttttttagc cctgccttca 1920  
 tacgtatfff atttgccttg tactgtttct tttgtcgatg ctcacctgt tgtttggtgt 1980  
 tacttctgca gatgaggaga tcaatcctct cactgtgctt ccatttggcg cttgtcattg 2040  
 cattggcagc aaatgttctt gacattgcca atggacgcgt gattgaagct aaatctgatc 2100  
 caaagccagc agatcccaag cctaaacctg acccaacacc aaaaccacaa ccagagacaa 2160  
 agcccagtc acagcctaac cctcaacctt acccacagcc agatccaaaa ccatcaccgc 2220  
 agcctgatcc aaaacctaca ccacagcctg aaccaaaca agatcctcaa ccaaacccac 2280  
 agccggatcc aaaacaatcg ccgagcctg acccaaaacc tacaccacag cctaaccacaa 2340  
 aacaagatcc tcaaccgaac ccacaacctg acccaaaacc aacgctgcaa cctaaccacaa 2400  
 aacaagatcc tcaaccgaac ccacaacctt gcccacaaagc tgaccacaaa ccaaatccaa 2520  
 agcctaagcc acaaccggag ccgagcccaa atcctaagcc ggagccaaaa cctgaaccca 2580  
 aacctgagcc gagtccctaac cccaagccaa atcctaatec caagccggag ccacagcctg 2640  
 atcctaagcc agaaccacag cctcagccag agccttctca accaaagctg ccaccacttt 2700  
 caccagcaat agctataatt gtgcccggga actga 2735

<210> 13

<211> 1331

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 3xABRC321:OsRePRP2.1

<400> 13

ggtaccgcaa cgcgtgtcct ccctacgtgg cggctcgaga ttgccaccgg ggtaccgcaa 60  
 cgcgtgtcct ccctacgtgg cggctcgaga ttgccaccgg ggtaccgcaa cgcgtgtcct 120  
 ccctacgtgg cggctcgaga ttgccaccgg tctagagtcg acctgcagca attccggcat 180



gccgcagcac actataaata cctggccaga cacacaagct gaatgcatca gttctccatc 240  
 gtactcttcg agagcacagc aagagagtga tcatttcagg taagatctag agtcgacctg 300  
 caggcgaccg tatgtatatt accctatctc taccttgcaa atcgcgtgtg tacggatctt 360  
 ctccgtggtc gagccgagtg attgctgata tgatataccta tctgctgctt cgtttccttg 420  
 cgcaggccaa gcatcacgct gctgtaccct ctgtaagttg atcagtcgct tgttggtactt 480  
 tttagtacgt ggggaagtaa tccttgtgct ggatgtgacc ctggcggatc tgtataatac 540  
 aggtatgctg atccccggg ctgcaggaat tcgatatcaa gctcaccatg aggagatcaa 600  
 tcctctcact gtgcttccat ttggcgttg tcattgcatt ggcagcaaat gttcctgaca 660  
 ttgccaatgg acgcgtgatt gaagctaaat ctgatccaaa gccagcagat cccaagccta 720  
 aacctgacct aacacaaaaa ccacaaccag agacaaaacc cagtccacag cctaaccctc 780  
 aacctaacc acagccagat ccaaaaacct caccgcagcc tgatccaaaa cctacaccac 840  
 agcctgaacc aaaacaagat cctcaaccaa acccacagcc ggatccaaaa caatcgccgc 900  
 agcctgacct aaaacctaca ccacagccta acccaaaaaca agatcctcaa ccgaaccac 960  
 aacctgacct aaaaccaacg ctgcaaceta acccaaaaaca agatcctcag ccgaaccac 1020  
 agcctaacc gaaaccaacg ccacagcttg acccgaaaca agatcctcaa ccgaaccac 1080  
 aacctagccc caaagctgac ccaaaaaccaa atccaaagcc taagccaca cggagccga 1140  
 gcccaaatcc taagccggag ccaaaaacct aacccaaacc tgagccgagt cctaaccaca 1200  
 agccaaatcc taatcccaag ccggagccac agcctgatcc taagccagaa cccaagcctc 1260  
 agccagagcc gtctcaacca aagctgccac cactttcacc agcaatagct ataattgtgc 1320  
 ccgggaactg a 1331

<210> 14

<211> 1193

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 35S:0sRePRP2.1

<400> 14

tcgagggatc cgtccccctg gttctctcca aatgaaatga acttccttat atagaggaag 60  
 ggtcttgcca aggatagtgg gattgtgctg catcccttac gtcagtggag attccagata 120  
 ggcctaaccg ttgtccaaga tctattcagg attccagata ggcctaaccg ttgtccaaga 180  
 tctattcagg atatcacatc aatccaattg ctttgaagac gtggttggaa cgtcttcttt 240  
 ttccacgatg ctctctgtgg gtgggggtcc atctttggga ccaactgtcg cagaggcatc 300  
 ttcaacgatg gcctttcctt tatcgcaatg atggcattg taggagccac ctctcttttc 360  
 cactatcttc acaataaagt gacagatagc tgggcaatgg aatccgagga ggtttccgga 420  
 taatgaggag atcaatcctc tcaactgtgt tccatttggc gcttgtcatt gcattggcag 480  
 caaatgttcc tgacattgcc aatggacgcg tgattgaage taaatctgat ccaaagccag 540  
 cagatcccaa gcctaaacct gaccacaac caaaaccaca accagagaca aagcccagtc 600  
 cacagcctaa cctcaacct aaccacagc cagatccaaa accatcaccg cagcctgate 660  
 caaaacctac accacagcct gaacaaaaac aagatcctca accaaacca cagccggatc 720

caaaacaate gccgcagcct gacccaaaac ctacaccaca gcctaacca aaacaagatc 780  
 ctcaaccgaa cccacaacct gacccaaaac caacgtgca acctaacca aaacaagatc 840  
 ctcagccgaa cccacagcct aaccgaaaac caacgccaca gcttgaccg aaacaagatc 900  
 ctcaaccgaa cccacaacct agcccaaaag ctgacccaaa accaatcca aagcctaagc 960  
 cacaaccgga gccgagccca aatcctaagc cggagccaaa acctgaacc aaacctgagc 1020  
 cgagtcctaa ccccaagcca aatcctaate ccaagecggga gccacagcct gatcctaagc 1080  
 cagaacccaa gcctcagcca gagccgtctc aaccaaagct gccaccactt tcaccagcaa 1140  
 tagctataat tgtgcccggg aactacccat acgatgttcc agattacgct tga 1193

<210> 15

<211> 28

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> OsRePRP1.1 引子

<400> 15

acaagctcac agttcagtta cgtacaac 28

<210> 16

<211> 16

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> OsRePRP1.1 引子

<400> 16

gcgctccttc ctcgggt 16

<210> 17

<211> 25

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> OsRePRP1.2 引子

<400> 17

gatcacagaa gctcacagtt cagtt 25

<210> 18

<211> 18

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> OsRePRP1.2引子

<400> 18

tgactcgctc gctcctcc 18  
<210> 19  
<211> 24  
<212> DNA  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> OsRePRP2.1引子  
<400> 19  
atgaggagat caatcctctc actg 24  
<210> 20  
<211> 23  
<212> DNA  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> OsRePRP2.1引子  
<400> 20  
tcagttcccg ggcacaatta tag 23  
<210> 21  
<211> 24  
<212> DNA  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> OsRePRP2.2引子  
<400> 21  
aatgttcctg atcacattgc caat 24  
<210> 22  
<211> 24  
<212> DNA  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> OsRePRP2.2引子  
<400> 22  
cataccaaaa ctatgcgga tcat 24  
<210> 23  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> OsActin引子

<400> 23  
ctgatggaca ggttatcacc 20  
<210> 24  
<211> 22  
<212> DNA  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> OsActin引子  
<400> 24  
caggtagcaa taggtattac ag 22  
<210> 25  
<211> 4  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 脯氨酸富集基序  
<220>  
<221> 杂项特征  
<222> (2) .. (2)  
<220>  
<221> 杂项特征  
<222> (4) .. (4)  
<223> Xaa可为脯氨酸以外的任何天然存在的氨基酸  
<400> 25  
Pro Xaa Pro Xaa  
1

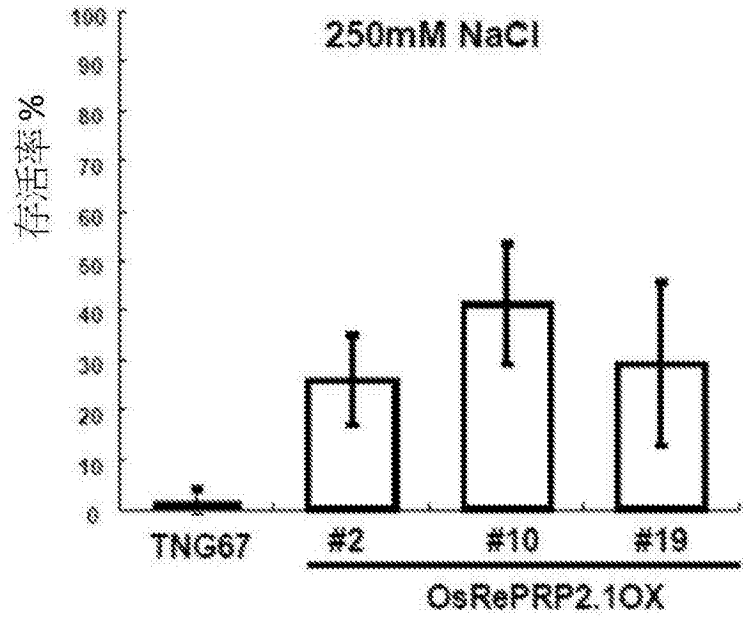
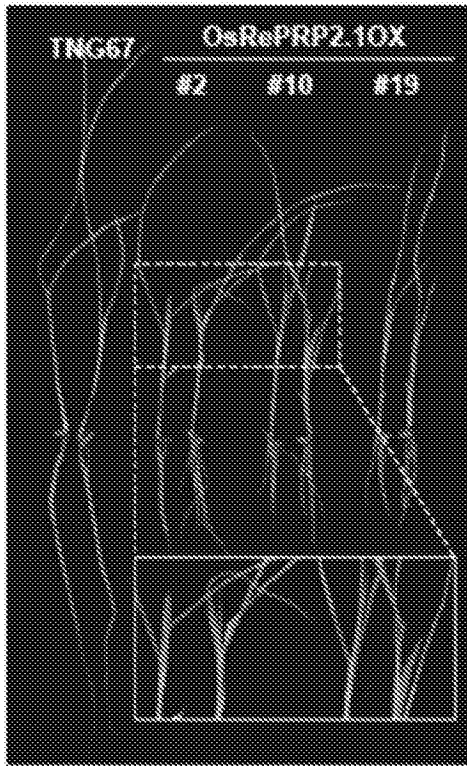


图1

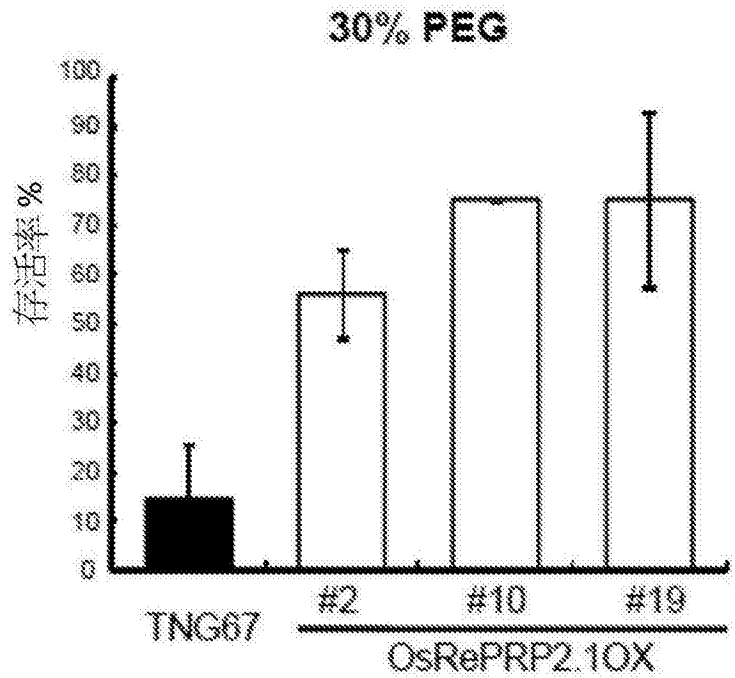
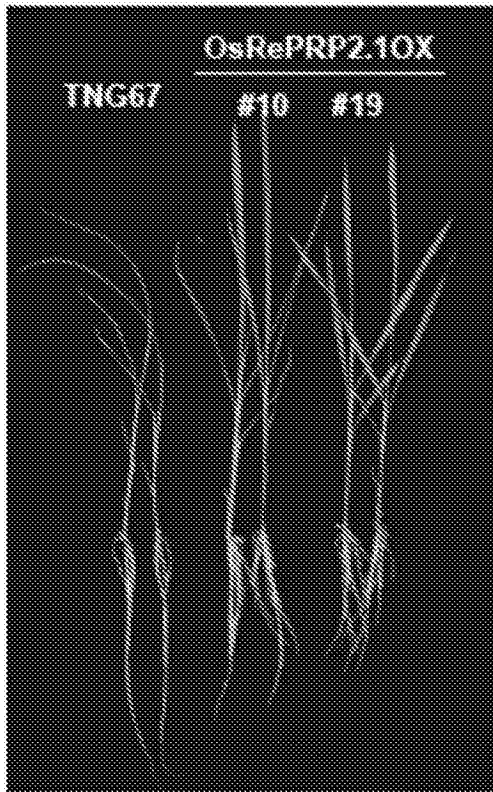


图2

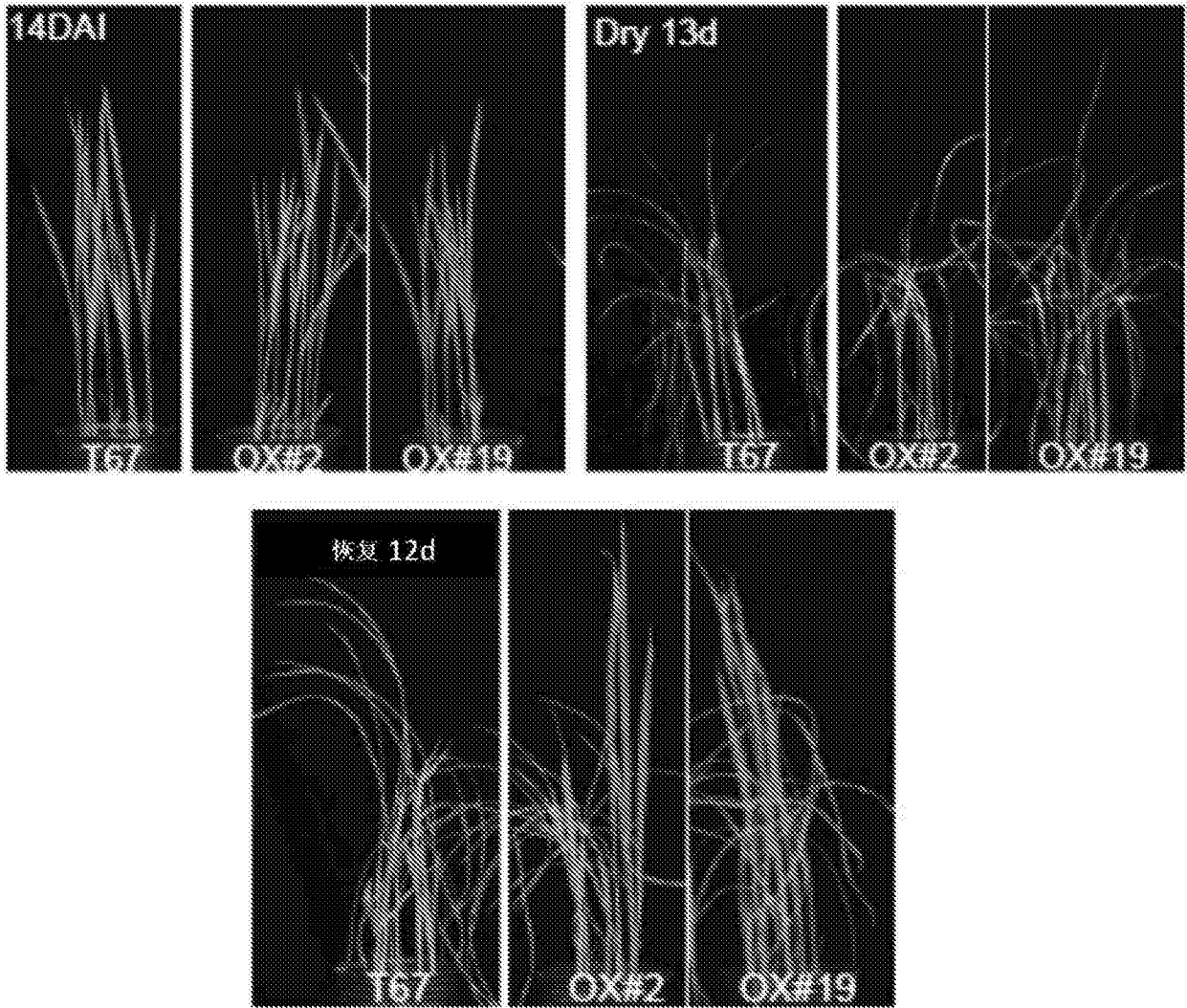


图3

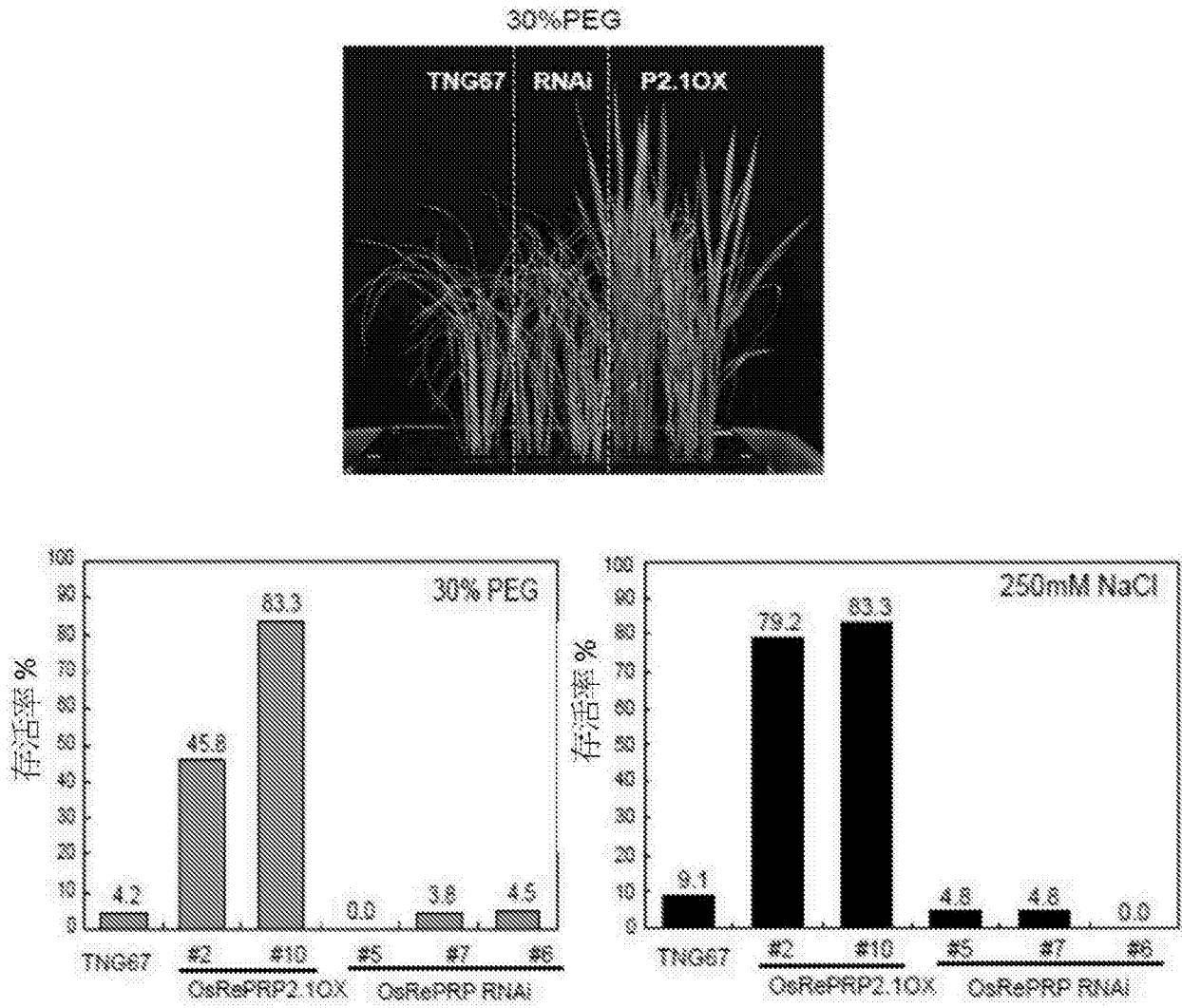


图4

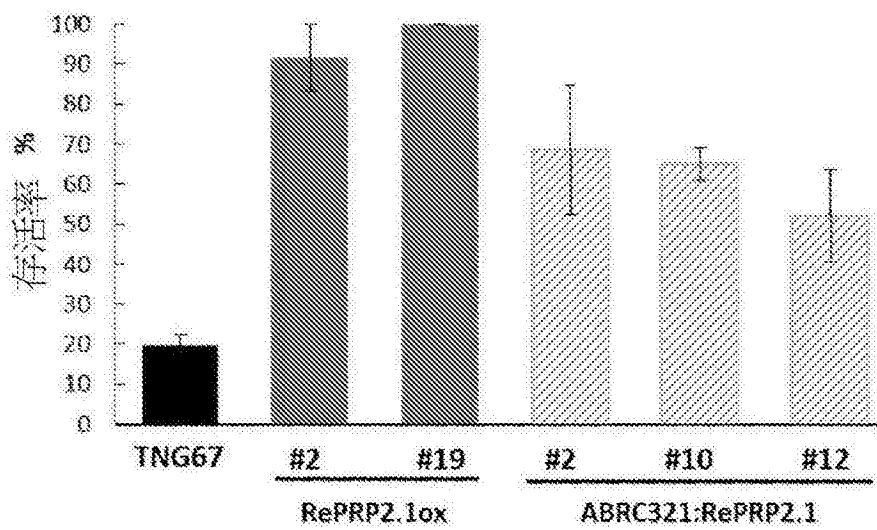


图5A

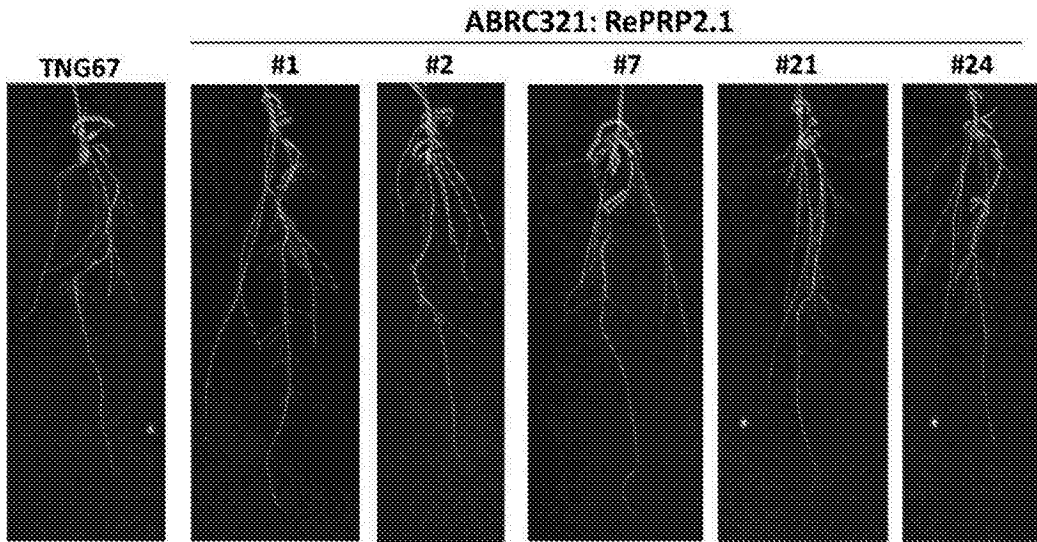


图5B



图6A



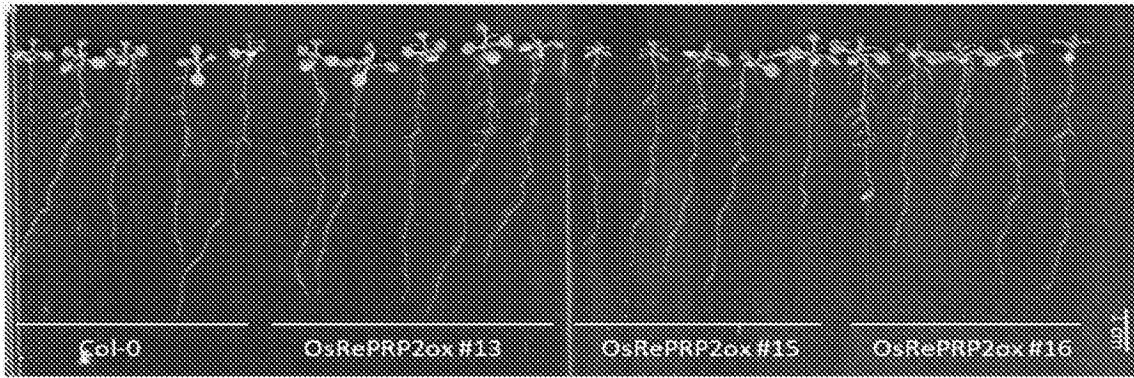


图6B

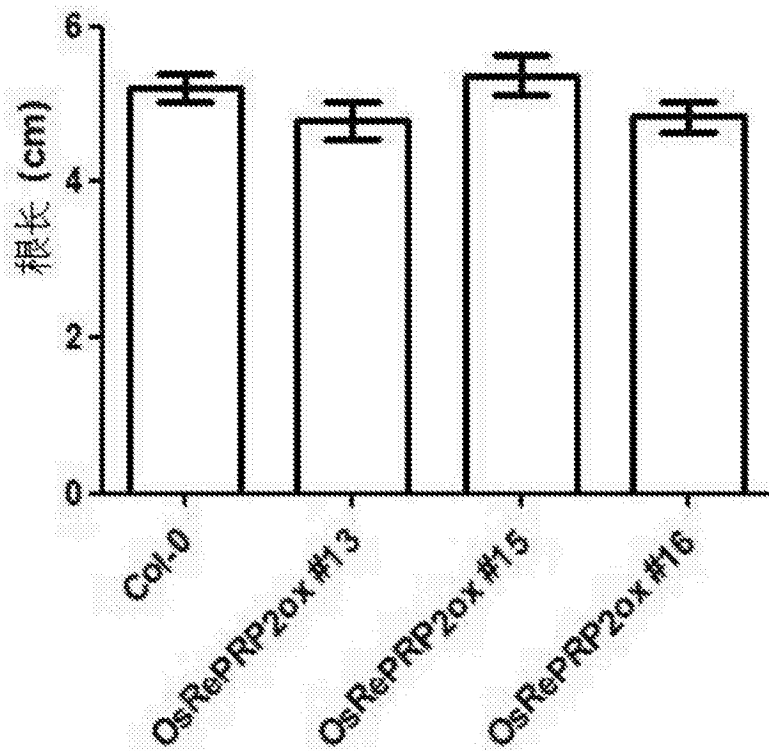


图6C