



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **127311** (13) **C2**
(51) МПК
C07K 14/415 (2006.01)
C12N 15/82 (2006.01)
C12Q 1/68 (2018.01)

НАЦІОНАЛЬНИЙ ОРГАН
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ ВЛАСНОСТІ
ДЕРЖАВНА ОРГАНІЗАЦІЯ
"УКРАЇНСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ
ОФІС ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ ТА ІННОВАЦІЙ"

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

<p>(21) Номер заявки: а 2019 04915</p> <p>(22) Дата подання заявки: 10.10.2017</p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права інтелектуальної власності: 20.07.2023</p> <p>(31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: 16306334.0</p> <p>(32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: 10.10.2016</p> <p>(33) Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку: EP</p> <p>(41) Публікація відомостей про заявку: 25.06.2019, Бюл.№ 12</p> <p>(46) Публікація відомостей про державну реєстрацію: 19.07.2023, Бюл.№ 29</p> <p>(86) Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ: PCT/EP2017/075849, 10.10.2017</p>	<p>(72) Винахідник(и): Беррі Саймон Тімоті (GB), Комадран Жорді (FR), Спесель Себастьян (FR)</p> <p>(73) Володілець (володільці): ЛІМАГРЕН ЮРОП, Rue Henri Mondor Biopôle Clermont-Limagne, 63360 Saint-Beauzire, France (FR)</p> <p>(74) Представник: Новікова Лідія Аркадіївна, реєстр. №36</p> <p>(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою: DATABASE EMBL [Online] 26 February 2001 (2001-02-26), "WHE2063_C10_E19ZS Wheat salt-stressed sheath cDNA library Triticum aestivum cDNA clone WHE2063_C10_E19, mRNA sequence.", retrieved from EBI accession no. EM_EST:BG313458 Database accession no. BG313458 KASSA MULUALEM T. et al. A saturated SNP linkage map for the orange wheat blossom midge resistance gene Sml / MuluaLEM T. Kassa, Sabrina Haas, Edgar Schliephake, Clare Lewis, Frank M. You, Curtis J. Pozniak, Ilona Krdmer, Dragan Perovic, Andrew G. Sharpe, Pierre R. Fobert, Michael Koch, Ian L. Wise, Paul Fenwick, Simon Berry, James Simmonds, Delphine Hourcade, Patrice Senellart, Laure Duchalais, Olivier Robert, Jutta Furrster, Julian B. Thomas, Wolfgang Friedt, Frank Ordon, Cristobal Uauy and Curt A. McCartney // Theoretical and applied genetics ; International journal of plant breeding research, Springer, Berlin, DE. - 2016. - Vol. 129. - no. 8. - P. 1507-1517</p>
--	--

(54) НУКЛЕЇНОВА КИСЛОТА, ЩО КОДУЄ РЕЗИСТЕНТНІСТЬ SM1 ДО ОРАНЖЕВОЇ ЗЛАКОВОЇ ГАЛИЦІ, І СПОСІБ ЇЇ ЗАСТОСУВАННЯ

(57) Реферат:

Винахід стосується нуклеїнових кислот, які кодують білки, пов'язані із резистентністю локусу Sm1 в пшениці, і застосування таких нуклеїнових кислот, зокрема для забезпечення або покращення резистентності до оранжевої злакової галиці (OWBM) в рослині.

UA 127311 C2

ГАЛУЗЬ ВИНАХОДУ:

Економічна значущість оранжевої злакової галиці.

Оранжева злакова галиця (OWBM; *Sitodiplosis mosellana* Gehin) - це комаха, яка наносить значну економічну шкоду як м'якій (*Triticum aestivum*), так і твердій пшениці (*Triticum durum*) в усіх основних зонах помірного клімату в світі, включаючи Північну Америку, Канаду, Європу та Азію (Harris et al, 2003). Крім м'якої пшениці *T. aestivum*, OWBM демонструє відкладання яєць та виживання на поколіннях шістнадцяти інших видів *Triticum* (Wise et al, 2001), а також на житі, ячмені, і на певній кількості диких трав (Zheng, 1965). Шкода, як спричиняється личинками OWBM, виявляється у значних втратах врожаю через опадання квіток, деформацію зерна і зменшення питомої ваги; зерно також стає більш вразливим до грибкових інфекцій (Oakley, 1994) і зазнає зниження якості через зниження числа падиння Хагберга (Miller and Halton, 1960). В Сполученому Королівстві втрати врожаю перевищили £30 мільйонів у 1993 (Oakley, 1994) і £60 мільйонів у 2004, незважаючи на оприскування більше 500,000 гектарів пшениці інсектицидами (Oakley et al, 2005). Chavalle et al (2015) продемонстрували, що взаємозв'язок між врожайністю та кількістю личинок є логарифмічним, що дозволяє припустити, що зниження врожаю було спричинено або ушкодженнями, спричиненими молодими личинками, що помирають на перших фазах розвитку, або активацією реакцій резистентності в рослині.

Життєвий цикл OWBM (Anon, 2016)

Личинки OWBM перезимовують у ґрунті у вигляді коконів до руйнування діпаузи (70 днів при температурі менше 10 °C), а потім активовані личинки рухаються вгору на поверхню ґрунту. Личинки засинають, як тільки опади зволожують ґрунт на глибину до 10 мм, а температура ґрунту піднімається вище 13° C. Тривалість стадії лялечки змінюється залежно від температури, але зазвичай триває від 2 до 4 тижнів. Підвищення температури після опадів стимулює виділення дорослих особів лялечок. Незабаром після вилуплення, самки виділяють статевий феромон, який притягує самців, ідентифікований як (2S, 7S) -2,7-нонанділ дибутират (Gries et al. 2000). Після спарювання на місці виникнення жіноча мошка відлітає в пошуках рослини-хазяїна. Пшениця вражається OWBM тільки в тому різі, якщо яйцекладка самиць відбувається протягом виходу колосу із флатового листа до цвітіння - приблизно протягом 7 днів (Elliot and Mann, 1996).

Самки активні в сутінках, віддаючи перевагу теплим, спокійним, вологим вечорам, але вони живуть лише від 3 до 7 днів. Яйця відкладають окремо або невеликими групами (зазвичай від 1 до 6 яєць) в ямках, але самки, як правило, відкладають яйця там, де інші вже відклали яйце. У колосі до цвітіння відкладають у дев'ять разів більше яєць, ніж у колосі після цвітіння (Ding and Lamb, 1999), оскільки жіноча мошка притягується до летких сполук, що виділяються з колосу до цвітіння (Birkett et al. 2004). Яйця вилуплюються через 4-7 днів, личинки вповзають у квіточки і харчуються на поверхні зерен в стадії розвитку. Личинки продовжуватимуть годуватися від 2 до 3 тижнів, а потім, після сильних дощів, випадають з колосу назад у ґрунт, утворюючи нові кокони, які можуть залишатися життєздатними в землі протягом 10 років або більше.

Хімічний контроль OWBM

Контроль OWBM у посівах пшениці може бути досягнутий шляхом розпилення хлорпірифосу (назва IUPAC: О,О-диетил О-3,5,6-трихлорпіридин-2-іл фосфоротиоат), який є фосфорорганічним пестицидом, що діє на нервову систему комах шляхом інгібування ацетилхолін естерази. На жаль, цей інсектицид вбиває тільки дорослу мошку і яйця, але не личинки в квітках пшениці і тому терміни нанесення розпилення є критичними. Розвиток феромонових пасток із використанням (2S, 7S) -2,7-нонанділ-дибутират (Bruce et al. 2007) дозволяє фермерам легко оцінити рівень зараження мошками в межах своїх полів. Підрахунок галиці може бути використаний як частина оцінки ризику виробника для визначення того, чи слід здійснювати обприскування (<http://uk.dowagro.com/wp-content/uploads/2014/05/Wheat-Blossom-Midge-Risk-Assessment-Chart.pdf>); однак, використання хлорпірифосу зараз заборонене у Великобританії, починаючи з 1 квітня 2016 року (<http://cereals.ahdb.org.uk/chlorpyrifos>). ЄС також нещодавно знизив максимальний рівень залишків хлорпірифосу на всіх харчових культурах (Регламент Комісії (ЄС) 2016/60).

Біологічний контроль OWBM

Є цілий ряд природних нищівників OWBM, але дані щодо їх ефективності обмежені (Doane et al, 2013), окрім паразитичної оси *Macroglanes penetrans*, яка відіграє важливу роль у зниженні інвазії OWBM у Західній Канаді (Olfert et al 2009).

Механізми резистентності рослин до комах-шкідників

У рослинах було виявлено багато різних механізмів підвищення резистентності до комаходів (War et al, 2012), але вони, як правило, поділяються на три категорії:

1) Толерантність - полігенна ознака, яка дозволяє рослині витримувати або відновлюватися від пошкодження комахами, без негативного впливу на ріст або виживання комахи

2) Антиксеноз - непереважна реакція комах на резистентну рослину, викликану морфологією рослин (наприклад, трихоми) або хімічними факторами, які негативно впливають на поведінку 5 комах, що часто призводить до уповільненого прийняття або прямої відмови.

3) Антибіоз (90 % всіх описаних випадків резистентності комах) - резистентна рослина негативно впливає на життєвий цикл комах через ступінь її виживання, розвитку або плодючості.

Багато випадків резистентності до комах за локусом кількісних ознак були генетично 10 відображені в різних видах рослинних культур (Smith and Clement, 2012), але до теперішнього часу успішно клоновані лише кілька основних генів. До них відносяться: Mi-1.2 з томатів (Rossi et al, 1998), Vph14 з рису (Du et al, 2009) і Vat з дині (Dogimont et al. 2014), всі з яких були ідентифіковані як білки із сайтом зв'язування нуклеотидів і регіоном збагачених лейцином 15 повторень (CC-NBS-LRR), також відомі як CNL або не -TIR NBS-LRR (Meyers et al, 1999).

Генетична резистентність до OWBM

Антиксеноз:

Для самиць злакової галиці існує принаймні три пункти поведінкової послідовності, що 20 ведуть до яйцекладки, і які підлягають стримуванню: 1) локалізація і посадка на рослині, 2) прийняття рослини і ініціювання зондування і 3) остаточне ініціювання яйцекладки (Gharalari et al, 2011). Явище стримування було продемонстровано Ламбом та ін. (2001, 2002, 2003), але його мультигенна природа та вплив на навколишнє середовище ускладнюють включення цього типу до програм селекції (Gharalari et al. 2009a). Вважається, що самиці галиці використовують дрібномасштабні характеристики та поверхневі хімічні речовини, включаючи летючі речовини, 25 для відбору місць яйцекладки на колосся пшениці (Gharalari et al. 2011). Летючі сполуки, які вироблені стримуючими генотипами, принаймні на менш бажаних стадіях росту (наприклад, після-цвітіння), зменшують яйцекладки на переважних генотипах і можуть викликати у самиць самостійне відкладання яєць на потенційних ділянках закладання личинок (Lamb et al. al, 2011). Не існує відомих морфологічних ознак, що враховують переваги для яйцекладки, крім невеликого ефекту відстані між колосками (Gharalari et al. 2009b).

Антибіоз:

Пшениця захищає себе від личинок принаймні двома шляхами, і обидва з них пов'язані з підвищеним виробництвом фенольних кислот у оболонці насіння, що розвивається (Ding et al, 2000):

1) Місце для харчування підходить для личинок лише на ранній стадії розвитку насіння (Ding 35 and Lamb, 1999). Через десять днів після цвітіння все насіння стає антибіотиком щодо знов вилуплених личинок. Отже, личинки пшеничної галиці живляться сенсibilізованими молодими насіннями протягом 10-12 днів, починаючи з того часу, коли відбувається запилення (Ding and Lamb, 1999).

2) Деякі генотипи пшениці виявляють гіперчутливу реакцію на поверхні насіння, яка вбиває 40 личинок, що живляться (Lamb et al. 2000), залишаючи так звані "пробки для рани". Ця гіперчутлива реакція швидко індукується живленням личинками (Ding et al. 2000) і знижує виживання личинок першого віку на 99 % (Lamb et al. 2000). McKenzie et al (2002) продемонстрували, що таку гіперчутливу відповідь контролював єдиним, частково домінуючий геном, який автори назвали Sm1. Одним з прикладів, опублікованих Blake та співавторами 45 (2011), було визначено локус кількісних ознак (QSm.mst-1A) в сорті ярової пшениці Reeder, що знизило інвазію OWBM на 42 % у ближній ізогенній лінії з локусами кількісних ознак і без них.

Локуси стійкості до антибіотиків Sm1:

Lamb et al (2015) показали, що експресія Sm1-локусу може змінюватися в залежності від 50 сортів пшениці, і автори вважають, що це може бути пов'язано зі швидкістю продукування та/або типами фенольних кислот, що утворюються на поверхні насіння після індукування резистентності (Ding et al. 2000). Lamb et al (2015) також відзначили, що успадкування Sm1 не залежить від інших механізмів резистентності, наприклад, стримування яйцекладки.

Томас та співавтори (2005) нанесли локус Sm1 на коротке плече хромосоми 2В у пшениці і розробили пов'язаний, домінантний SCARМаркер (WM1) для використання при відборі із 55 застосуванням маркерів (MAS). Зовсім недавно Kassa et al (2016) уточнили розташування Sm1-локусу і виявили, що ця геномна область у пшениці інвертована в порівнянні із геномами рису та Brachypodium. Вони також припускали, що Sm1 може бути традиційно-резистентним геном стійкості до типу CC-NBS-LRR, але вони були лише здатні ідентифікувати резистентність одного з генів-кандидатів типу NB-ARC у *B. distachyon*, і жоден не був знайдений на синтанічній ділянці 60 в рисі. Kassa et al (2016) також визначили два ОНП-маркери (kwm707 і kwm693), які могли б

бути використані для прогнозування присутності Sm1 локусу в широкому діапазоні сортів пшениці, що свідчить про єдине походження для Sm1; проте ці маркери не були на 100 % діагностичними.

5 Відтак, існує термінова потреба ідентифікувати досконалі маркери для Sm1 через клонування та визначення послідовності локусу.

КОРОТКИЙ ОПИС КРЕСЛЕНЬ

Фігура 1: представлення RGA1 і RGA2 показують відносне положення функціональних доменів, ідентифікованих за допомогою InterProScan: ((1) Суперспіраль; (2) NBS-ARC; (3) LRR; (4) NAM; (5) рКіназа; (6) PapD- подібний (також зветься домен основного білку сперми (MSP))).

10 Фігура 2. Фізичне вирівнювання між скафолдами BAC 715D09 і IWGSC WGA: IWGSCWGA02_2BS_ скафолд 14096 і IWGSCWGA02_2BS_скафолд11627. RGA.CS відноситься до гомологів генів RGA у сорті Chinese Spring, анотованих у BAC 715D09.

Фігура 3. Скріншот з пристрою для інтегративного перегляду геноміки (IVG), що показує вирівнювання геномної (gДНК-seq) і транскриптомної (мПНК-seq) Illumina, читається в області клону BAC 715D09, що містить RGA 1.

ДЕТАЛЬНИЙ ОПИС ВИНАХОДУ

Заявник ідентифікував генетичний детермінізм, який управляє резистентністю OWBM, і пропонує різні засоби для поліпшення або надання резистентності до OWBM у рослинах. Зокрема, заявник пропонує нуклеїнову кислоту, що кодує білок, пов'язаний з резистентністю локусу Sm1 у пшениці, а також застосування цих нуклеїнових кислот.

Винахід також відноситься до конструктів, які можуть бути використані в якості трансгенних для отримання трансгенних рослин, які мають поліпшувати або надавати резистентності по відношенню до ізогенних рослин, які не містять зазначений трансген. Винахід відноситься до трансгенних рослин, що містять такі конструкти, і до способу отримання таких рослин.

25 Зрештою, також розкриті маркери способи інтрогресування локусу резистентності Sm1 і спосіб ідентифікації цього локусу в рослинах.

В контексті цього винаходу рослина означає однодольну рослину, переважно зернову, зокрема з видів Triticum (пшениця), кукурудзи, рису, ячменю, сорго, проса, вівса, жита.

Пшениця є переважним зерновим відповідно до даного винаходу.

30 Відповідно до даного опису, дві рослини називаються "ізогенними" по відношенню до трансгену, якщо вони відрізняються в дуже незначній кількості локусів (менше 20, більш переважно менш ніж 10), і якщо одна несе трансген, а інша ні.

В одному з варіантів втілення винаходу представлена нуклеїнова кислота, що кодує білок, який забезпечує резистентність до оранжевої галиці пшениці, причому нуклеїнова кислота включає, принаймні, одну з групи, що складається з:

а) Група 1:

i. Нуклеїнова кислота, що включає послідовність SEQ ID NO: 4 або 5, або

ii. Нуклеїнова кислота, що кодує амінокислотну послідовність, що включає послідовність SEQ ID NO: 6, або

40 iii. Нуклеїнова кислота, що кодує амінокислотну послідовність, яка включає принаймні один мотив CC, один мотив NBS-ARC і один мотив LRR, і де послідовність мотиву LRR має принаймні 82 % ідентичності з фрагментом нуклеїнової кислоти, як зображено в послідовності SEQ ID NO: 8, або

iv. Фрагмент будь-якої з нуклеїнових кислот i), ii) або iii) або

45 v) фрагмент нуклеїнової кислоти з b) iv, як зображено в послідовності SEQ ID NO: 8;

b) Група 2:

i. Нуклеїнова кислота, що включає послідовність SEQ ID NO: 1 або 2, або

ii. Нуклеїнова кислота, що кодує амінокислотну послідовність, що включає послідовність SEQ ID NO: 3, або

50 iii. Нуклеїнова кислота, що кодує амінокислотну послідовність, яка включає принаймні один мотив CC, один мотив NBS-ARC і один мотив LRR, і де послідовність мотиву LRR має принаймні 78 % ідентичності з фрагментом нуклеїнової кислоти, як зображено в послідовності SEQ ID NO: 7, або

iv. Фрагмент будь-якої з нуклеїнових кислот i), ii) або iii) або

55 v) фрагмент нуклеїнової кислоти з a) iv, як зображено в послідовності SEQ ID NO: 7.

Нуклеїнові кислоти, що кодують аналог генів резистентності RGA 1 і RGA 2, цілком корелюють з резистентністю OWBM у рослинах і, більш конкретно, в пшениці. Кожна нуклеїнова кислота може бути використана окремо або в комбінації для поліпшення або надання резистентності рослині.

Як розкрито в цьому документі, послідовність SEQ ID NO: 3 забезпечує білок RGA1 пшениці, послідовність SEQ ID NO: 1 забезпечує кодування геномної послідовності для RGA 1, а послідовність SEQ ID NO: 2 забезпечує кодууючу послідовність пшениці (з розщепленої РНК або кДНК), що є кодууючою для RGA 1.

5 Аналогічним чином, послідовність SEQ ID NO: 6 забезпечує білок пшениці RGA 2, послідовність SEQ ID NO: 4 забезпечує геномну послідовність пшениці, що кодує RGA 2, а послідовність SEQ ID NO: 5 забезпечує послідовність кодування пшениці, що є кодууючою для RGA2.

10 Винахід також стосується білка, кодованого нуклеїновою кислотою згідно винаходу, що включає групу 1 та / або групу 2, як визначено вище. У кращому варіанті здійснення винахід відноситься до послідовностей SEQ ID NO: 3 і SEQ ID NO: 6.

Обидві білки RGA складаються з доменів із CC (суперспіраль), нуклеотидно-зв'язуючими сайтами (NBS-ARC) і із збагачених лейцином повторами (LRR), а також із змінними амінокінцевими та карбоксикінцевими доменами (Sekhwalet al, 2015). Фігура 1 показує відносне розташування цих різних доменів на білках RGA 1 і RGA 2.

15 Цікаво, що білок RGA 2 також включає домен NAM, домен р-кіназа і домен, подібний до PadD, який може бути введений в захисні системи рослин.

Різні RGA характеризуються повногеномною ідентифікацією та генетичним картируванням. Сотні RBS, що містять NBS-LRR, були ідентифіковані в різних рослинах, таких як Arabidopsis, ячмінь, рис, кукурудза і сорго.

20 Для характеристики цих білків доступні багато різних пакетів програмного статку, що можуть прогнозувати положення різних мотивів (тобто CC, NBS, LRR і кіназного домену) в поліпептиді, такі як, але не виключно, InterProScan (<https://www.ebi.ac.uk/interpro/search/seq-search>), MEME (meme-suite.org, Bailey та Elkan (1994)) або pfam_scan.pl (bit.ly/1M41KRu). Загальне програмне забезпечення, що використовується для ідентифікації домену RGA та мотиву, також перераховані в Sekhwalet al, (2015).

Більш конкретно, LRR- мотив RGA 1 послідовності SEQ ID NO: 3 відповідає фрагменту, визначеному положенням амінокислоти 599 по відношенню до положення амінокислоти 989, в той час як послідовність SEQ ID NO: 3 включає 1435 амінокислот.

30 LRR- мотив RGA 2 послідовності SEQ ID NO: 6 відповідає фрагменту, визначеному положенням амінокислоти 1310 по відношенню до положення амінокислоти 1615 в той час як послідовність SEQ ID NO: 6 включає 2303 амінокислоти.

Винахід також охоплює варіанти послідовностей нуклеїнової кислоти, що кодують варіантні білки RGA 1 або RGA 2, що мають одну або більше делецій/ додавань або одне або більше заміщень порівняно з відповідною послідовністю SEQ ID NO: 3 або послідовністю SEQ ID NO: 6, при збереженні функцій поліпшення або надання резистентності OWBM. Варіантний білок RGA 1 буде містити принаймні один мотив CC, один NBS-ARC і один mLRR, які кодуються нуклеїновою кислотою, що має принаймні 78, 79, 80, 85, 90, 95, 96, 97, 98 або 99 % ідентичності з послідовністю SEQ ID NO: 7.

40 Варіантний білок RGA 2 включатиме принаймні один мотив CC, один NBS-ARC і один LRR, які кодують нуклеїновою кислотою із принаймні 82, 83, 84, 85, 90, 95, 96, 97, 98 або 99 % ідентичності із послідовністю SEQ ID NO: 8. Варіантний білок RGA 2 додатково включає домен кіназа.

45 Варіантна нуклеїнова кислота призначена для позначення природних варіантів, визначених в різних сортах, або ортологічних послідовностей, ідентифікованих в різних культурах. Варіанти також можуть відповідати модифікаціям, введеним мутагенезом в послідовність нуклеїнової кислоти. Такі модифікації можуть бути виконані рандомно або в певних сайтах. Для досягнення таких модифікацій відомі різні способи. Один із способів - на основі рандомного мутагенезу, наприклад, TILLING (Till et al, 2003), перестановка ДНК (Stemmer, 1994) або прицільна модифікація послідовності із застосуванням техніки розриву подвійних зв'язків, зокрема, але не виключно, TALENs (WO2011072246) або CRISPR cas9 (WO2013181440).

50 Варіантна нуклеїнова кислота може кодувати варіантний білок, якщо модифікація нуклеїнової кислоти утворює новий кодон, що веде до нової амінокислоти. Потім можливо виконувати скринінг модифікації, що веде до білку із зміненою конформацією, що сприяє більш ефективності патогенній резистентності.

Переважно із застосуванням таких засобів редагування геномів очікують генерування мутантів шляхом досягнення повних модифікацій доменів, наприклад, способом "заміни доменів", для подальшого покращення функції резистентності.

60 Послідовності нуклеїнових кислот можливо ідентифікувати за базами даних, шляхом застосування програми BLASTN (зокрема, програми BLASTN 2.2.30; Altschul et al, 1997; Altschul

et al, 2005), переважно до послідовності SEQ ID NO: 1, 2, 4 або із застосуванням наступних параметрів алгоритму:

Очікуваний поріг: 10

Довжина сегмента: 11

5 Максимальні спів падіння в діапазоні запиту: 0

Показник делеції: Існування 5, Існування 2.

Відсутні фільтри для областей низької складності

10 Нижче викладені фрагменти нуклеїнових кислот. Нуклеїнові кислоти, що є фрагментами згідно винаходу, включають принаймні 20, 50, 100, 200, 300, 500 - 1,000 бп нуклеїнових кислот згідно винаходу.

Нуклеїнову кислоту можна застосовувати в конструкції під операційно зв'язаним гетерологічним промотором, що також є аспектом згідно даного винаходу.

15 При застосуванні в даному винаході гетерологічний промотор - це промотор, який не походить від того ж виду, від якого походить нуклеїнова кислота, або промотор походить з того ж виду, з якого нуклеїнова кислота, однак, його модифіковано для одержання послідовності, відмінної від нативної.

20 Функціонально пов'язані засоби - це функціональний зв'язок між регуляторним елементом (промотором) і нуклеїною кислотою, що дозволяє експресію нуклеїнової кислоти. Обидва елементи можуть бути відокремлені за послідовністю, що може підсилювати експресію нуклеїнових кислот - наприклад, інтрони.

В переважному варіанті втілення, в конструкції нуклеїнових кислот згідно винаходу нуклеїнову кислоту клонують нижче гетерологічного промотору, функціонального в клітині рослини.

25 Промотор, "активний в рослинах" - це промотор, що може стимулювати експресію гену, операційно зв'язаного із ним у клітині рослини.

Для експресії послідовність, яка є кодуючою для RGA 1 або RGA 2, може бути наявна під контролем конститутивного, тканинно-специфічного, регульованого в процесі розвитку, індукцйбельного або мейозного промотора.

30 Хоча деякі промотори можуть мати однаковий патерн регуляції при застосуванні в різних видах, часто переважним є застосування односім'ядольних промоторів у однодольних та дводольних промоторах дводольних рослин.

В переважному варіанті втілення така конструкція перебуває під контролем конститутивного промотора.

35 Приклади конститутивних промоторів, які можна застосовувати для експресії, включають промотор 35S або 19S (Kay et al, 1987), промотор актина рису (McElroy et al, 1990), промотор рCRV (Depigny-This et al, 1992), промотор CVMV (Verdaquer et al. 1996), убіхітиновий промотор 1 кукурудзи (Christensen and Quail, 1996), регулятивні послідовності Т-ДНК *Agrobacterium tumefaciens*, включаючи маномінсинтазу, нопалінсинтазу, октопінсинтазу.

40 Більш переважно, промотори, застосовувані згідно винаходу, є тими, що експресовані через розвиток насіння, наприклад, промотор HMWG (глутенин з високою молекулярною масою) пшениці (Anderson and Greene 1989; Roberts et al., 1989), ваксі-, цеїн- або бронзові промотори кукурудзи, або промотори, розкриті в US 20150007360, US 20120011621, US 20100306876, US 20090307795 або US 20070028327.

45 Можна застосовувати і інші придатні промотори. Це можуть бути індукований промотор, регульований розвитком промотор або тканинно-специфічний промотор, такий як лист-специфічний промотор, насіннево-специфічний промотор, BETL- специфічний промотор тощо. Численні тканинно-специфічні промотори описані в літературі, будь-який може застосовуватись. Можна посилатися на промотори, розкриті у US20130024998.

Винахід також включає вектор, що включає конструкцію нуклеїнової кислоти згідно винаходу.

50 Вектор, наприклад, плазмід, може застосовуватись для трансформації клітини-хазяїна. Конструкція векторів для трансформації клітин-хазяїнів може бути втілена фахівцем з рівня техніки із застосуванням стандартних технологій.

Рішення щодо застосування вектора для трансформації клітини, а також щодо того, яку саме клітину застосовувати, залежить від обраного способу трансформації, а також від обраної клітини-хазяїна.

55 При застосуванні способу введення "голих" нуклеїнових кислот вектор може бути мінімальною нуклеїною кислотою, необхідною для забезпечення бажаного фенотипу, без потреби у додаткових послідовностях.

60 Можливі вектори включають плазмідні вектори Ті, шаттл-вектори, призначені в основному для максимального виходу максимальної кількості копій, епісомальні вектори із вмістом

мінімальних послідовностей, необхідних для однозначної реплікації при здійсненні трансформації, транспозонні вектори, включаючи можливі РНК - форми у генних послідовностях. Обрання векторів та способи їх конструкції загальновідомі фахівцям з рівня техніки, в цілому описані в загальних технічних довідниках (Mullis and Faloona, 1987).

5 Для інших способів трансформації, які вимагають вектора, обрання відповідного вектору є відносно простим, оскільки обмеження є мінімальними. Очевидними мінімальними ознаками вектора є те, що необхідну нуклеїнову кислоту вводять у відносно інтактному стані. Таким чином, будь-який вектор, що дозволяє одержати рослину із введеною ДНК - послідовністю, має бути прийнятним. Також будь-який вектор, що вводить практично інтактну РНК, яка може бути перетворена на стабільно-збережену ДНК - послідовність, має бути прийнятним.

10 Для способів трансформації в клітині рослини можна запропонувати способи прямого переносу таких генів, наприклад, пряма мікроінжекція у зародки рослини, вакуумна інфільтрація або електропорація, пряма преципітація за допомогою PEG або бомбардуванням пушкою з часток, покритих плазмідною ДНК.

15 Переважно трансформувати рослину клітину бактеріальним штамом, зокрема, *Agrobacterium*, зокрема, *Agrobacterium tumefaciens*. Зокрема, можливо застосовувати спосіб, описаний Ishida et al. (1996) для трансформації односім'ядольних.

20 Однак, переважними є будь-які додатково додані послідовності векторів, що забезпечують резистентність деградації фрагмента нуклеїнової кислоти, що підлягає введенню, що сприяє способу геномної інтеграції або забезпечує засоби для легкого обрання тих клітин або рослин, які фактично трансформовані. Це значно зменшує складнощі в обранні трансгенних рослин, придатних для застосування.

25 Вектор також може існувати, наприклад, у формі фага, плазміда або косміда. Конструкція таких векторів експресії для трансформації добре відома з рівня техніки, передбачає застосування стандартних технологій. Для прикладу можна зазначити способи, описані Sambrook et al. (1989).

Для транс формуючих бактерій вектор в цілому визначають як молекулу нуклеїнової кислоти, яка має елементи, що дозволяють підтримувати її в клітині-хазяїні (наприклад, походження реплікації, що працює в бактеріальній клітині-хазяїні).

30 Винахід також стосується клітини-хазяїна, що містить принаймні конструкт нуклеїнової кислоти, що включає групу 1 і/або групу 2, як описано вище.

Рішення щодо застосування заданої клітини-хазяїна, або яку саме клітину-хазяїна застосовувати, залежить від способу трансформації.

35 Клітина-хазяїн може являти собою будь-яку прокаріотичну або еукаріотичну клітину. Будь-яка з великого числа доступних і добре відомих клітин-хазяїв може бути використана в практиці даного винаходу. Вибір конкретного хазяїна залежить від ряду факторів, визнаних в даній галузі техніки. До них відносяться, наприклад, сумісність з обраним вектором експресії, біо-безпекою і витратами. Корисні клітини-хазяїн включають такі бактерії, як *E.coli* sp. або *Agrobacterium*. Клітина рослини-хазяїна також може бути використана, зокрема, клітина односім'ядольних

40 рослин, зокрема клітина рослин зернових, вибрана, зокрема, з групи, що складається з кукурудзи, пшениці, ячменю, переважно, пшениці.

Більш конкретно, клітина-хазяїн, використовувана при здійсненні винаходу, це *Agrobacterium tumefaciens*, або *Agrobacterium rhizogenes*, згідно зі способом, описаним Jouanin et al., (1987). У конкретному варіанті втілення зазначений конструкт нуклеїнової кислоти стабільно інтегрований в геном зазначеної клітини-хазяїна. Цей варіант здійснення є особливо цікавим для клітин-хазяїв рослини. Стабільна інтеграція всередині геному означає, що касета експресії може бути передана потомству зазначеної клітини-хазяїна після поділу.

45 Винахід також охоплює трансгенну рослину, що містить принаймні одну клітину, що містить конструкт нуклеїнової кислоти, як визначено вище, переважно стабільно інтегровану в межах свого геному.

Частина такої трансгенної рослини, зокрема плоди, насіння, зерно або пилки, що включає таку клітину або утворюється з такої клітини, також охоплюється цим винаходом.

55 Слід нагадати, що з однієї трансформованої рослинної клітини можна регенерувати цілу рослину. Таким чином, в подальшому аспекті даний винахід забезпечує трансгенні рослини або їх частини, включаючи касету експресії згідно винаходу. Регенерація може протікати відомими методами.

Насіння, що виростає шляхом запліднення з цієї рослини, також містить цей трансген в їх геномі.

Зазначена рослина або частина рослини згідно з винаходом може бути рослиною або її частиною з різних видів, зокрема, однодольних. Зазначена рослина переважно є зерною рослиною.

Зазначену рослину переважно вибирають із групи, що складається з кукурудзи, рису, пшениці і ячменю. У переважному варіанті зазначена рослина є пшеницею.

Таким чином, винахід стосується, зокрема, трансгенної пшениці, що містить, принаймні, одну клітину, що включає конструкт нуклеїнової кислоти згідно винаходу, стабільно інтегровану в геномі.

У конкретному варіанті втілення зазначена рослина, зокрема зазначена пшениця, містить множину клітин що включають конструкт нуклеїнової кислоти згідно винаходу, стабільно інтегровану в геномі.. У цьому варіанті втілення, можливо, що деякі клітини зазначеної рослини не містять трансген.

В іншому варіанті втілення згаданий трансген, що включає конструкт нуклеїнової кислоти за винаходом, присутній у всіх клітинах зазначеної рослини, зокрема, в зазначеній пшениці.

В іншому варіанті втілення трансген вводиться в клітини рослин, такі, що тимчасово експресовані, або через генетичний конструкт, не інтегрований в геном. Таким чином, для тимчасової експресії можуть застосовуватись агро-інфільтрація або будь-які інші способи, такі як ін'єкція або розприскування.

Гібридні рослини, отримані схрещуванням рослин згідно винаходу, також утворюють частину винаходу, коли вони містять принаймні одну клітину, що містить касету експресії згідно винаходу.

Будь-яка рослина, як описано вище, може містити один або кілька трансгенів на додаток до касети згідно винаходу. Можна відзначити трансгени, які забезпечують чоловічу стерильність, чоловічу фертильність, резистентність до гербіциду (зокрема, гліфосат, глюфосинат, імідазоліон, сульфонілсечовина, L-фосфінотрицин, триазин, бензонірил), резистентність до комах (зокрема, трансгени, що кодуєть токсин *Bacillus thuringiensis*), толерантність до водного стресу. Ці рослини можуть бути отримані шляхом схрещування зазначених рослин згідно винаходу з іншими рослинами, що містять зазначені трансгени. Альтернативно, рослини можуть бути спільно трансформовані з касетою експресії, що містить кілька різних трансгенів, включаючи трансген згідно винаходу.

Трансгенні рослини, що включають касету експресії згідно з винаходом, мають підвищену або покращену резистентність до OWBM порівняно з контрольними рослинами, що відповідають нетрансгенним рослинам, що не включають зазначену касету експресії.

У цьому винаході резистентність до OWBM вимірюється наступним чином: рослини вирощують в польових умовах і фенотипують на початку літа, як тільки феромонові пастки вказують на наявність мошки. Фенотипування здійснюють шляхом візуального огляду окремих квіток на наявність 10 колосах з 10 окремих рослин, як правило, через чотири-п'ять тижнів після цвітіння, в молочній фазі. Рослина вважається резистентною, якщо в колосі немає личинок мошки. І навпаки, рослина є чутливою, якщо принаймні одна личинка спостерігається в межах відібраних проб.

Винахід відноситься до різних способів застосування рослин згідно даного винаходу. Більш конкретно, винахід відноситься до способу надання або поліпшення стійкості до OWBM в рослині, що передбачає стадії, які включають:

а) трансформацію принаймні клітини або тканини рослини вектором, що містить в якості трансгену конструкт нуклеїнової кислоти згідно винаходу.

б) культивування клітини (клітин) або рослинної тканини, трансформованих для одержання трансгенної рослини, що включає, принаймні, клітину, яка містить у своєму геномі принаймні зазначений конструкт нуклеїнової кислоти,

який відрізняється тим, що зазначена трансгенна рослина має знов набуту або покращену резистентність порівняно з рослиною, що не містить зазначену конструкт нуклеїнової кислоти.

Спосіб ідентифікації (тобто скринінгу, селекції) трансгенної рослини, яка може бути використана в селекційному (тобто селекційно-насіницькому) процесі для отримання рослини з покращеною або наданою резистентністю, яка включає етап ідентифікації в популяції рослин рослини, що містять конструкції нуклеїнових кислот, описані вище, також є частиною винаходу.

Таким чином, таким способом є спосіб *in vitro*, призначений для ідентифікації у популяції рослин тих, які несуть трансген згідно винаходу.

Процес селекції для отримання рослини з поліпшеною або знов наданою резистентністю виконують відомими в даній області техніки способами, шляхом схрещування, зворотного схрещування і стабілізування рослин, які мають підвищену або знов надану резистентність.

Спосіб ідентифікації рослини з поліпшеною або знову наданою резистентністю, що включає етап ідентифікації в популяції рослин, що містять конструкт нуклеїнової кислоти або трансген, як описано вище, також є частиною винаходу. Покращена або надана резистентність визначається після порівняння з ізогенними рослинами, які не містять конструкт нуклеїнової кислоти або трансген.

Передбачається, що трансгенна рослина з набутою резистентністю означає рослину, яка первісно є чутливою до OWBM і являє собою резистентний фенотип після набуття трансгену шляхом трансформації або в процесі селекції. Трансгенна рослина з поліпшеною резистентністю - це рослина, яка первісно має резистентність до OWBM внаслідок присутності принаймні одного стійкого локусу до OWBM, і має більш ефективну резистентність або більш стійку резистентність після формування трансгену шляхом трансформації або в процесі селекції.

У конкретному варіанті селекцію або ідентифікацію здійснюють із використанням маркера, який є специфічним для трансгену. У цьому варіанті здійснення стадії селекції, таким чином, переважно передують стадія, що включає генотипування зазначеної популяції рослин.

У конкретному варіанті втілення стадії селекції передують стадія, що включає екстрагування РНК з індивідуумів у зазначеній популяції.

У конкретному варіанті втілення стадії селекції передують стадія, що включає екстрагування білків з індивідуумів у зазначеній популяції.

У конкретному варіанті втілення зазначена популяція являє собою потомство, отримане від схрещування трансгенної рослини, причому зазначений трансген включає касету експресії, як описано вище, з лінією рослин, яка не містить зазначений трансген (лінія рослини-реципієнта).

У переважному варіанті втілення способи застосовуються для злаків, зокрема, рису, кукурудзи, пшениці, ячменю. Переважно, якщо зазначена рослина є пшеницею.

Винахід також охоплює маркери, що використовуються для ідентифікації локусу резистентності Sm1 у рослинах. Лocus Sm1 призначений позначати хромосомальний регіон, генетично пов'язаний та що містить гени резистентності до OWBM. Більш конкретно, лocus Sm1 має хромосомний інтервал, визначений маркерами ОНП Wa_c6957_32 і Excalibur_c1787_1301 (Фігура 2). Таблиці 1А і 1В наводять деталі ДНК послідовностей, застосовуваних для розвитку кодомінантних ОНП і маркерів ПЛР в режимі реального часу відповідно, що були виконані заявником в дуже невеликому генетичному інтервалі 0.067 cM для застосування у селекції за допомогою маркерів для локусу Sm1.

Використовуваний тут термін "маркер" відноситься до специфічної послідовності ДНК, ідентифікованої в геномі рослини, і яка може бути використана для визначення того, чи має рослина успадкувала певний фенотип або алель, що представляє інтерес, з батьківської рослини.

Маркер може включати кодуєчу або некодуєчу послідовність. Зокрема, згаданий маркер може бути фрагментом геномної послідовності SEQ ID NO: 1 або SEQ ID NO: 4, що дозволяє виявити, відповідно, наявність або відсутність нуклеїнової кислоти, що кодує RGA 1, або наявність нуклеїнової кислоти, що кодує RGA 2 в рослині. Згаданий маркер також може представляти собою фрагмент відповідної кодуєчої послідовності SEQ ID NO: 2 або послідовності SEQ ID NO: 5.

Більш конкретно, маркер, застосовуваний для ідентифікації наявності або відсутності в геномі рослини нуклеїнової кислоти, що кодує RGA 1, це фрагмент нуклеїнової кислоти, закодований пептидом, визначеним за мотивом LRR послідовності SEQ ID NO: 3, зазначений фрагмент нуклеїнової кислоти має послідовність, як зображено у послідовності SEQ ID NO: 7

Більш конкретно, маркер, застосовуваний для ідентифікації наявності або відсутності в геномі рослини нуклеїнової кислоти, що кодує RGA, це фрагмент нуклеїнової кислоти, закодований пептидом, визначеним за мотивом LRR послідовності SEQ ID NO: 6, зазначений фрагмент нуклеїнової кислоти має послідовність, як зображено у послідовності SEQ ID NO: 8.

Зокрема, маркери згідно винаходу також можуть застосовуватись як проба для ідентифікації та ізоляції ортологів генів, що кодує RGA 1 і RGA 2. Ортологи призначені позначати гени, які знаходяться у різних видах, що мають спільних попередників, і є кодуєчими для білків, що виконують аналогічну функцію в рослині - в даному випадку, резистентність до OWBM.

Більш конкретно, проба для ідентифікації та ізоляції в геномі рослини ортологів RGA 1 зображена в послідовності SEQ ID NO: 7, а проба для ідентифікації та ізоляції ортологів RGA 2 зображена в послідовності SEQ ID NO: 8.

Для оцінки наявності або відсутності послідовності нуклеїнової кислоти у геномі рослини можуть застосовуватись будь-які способи з рівня техніки. Деякі з прийнятних способів

включають, але не виключно, секвенування, гібридизацію, полімеразну ланцюгову реакцію (ПЛР), лігазну ланцюгову реакцію (ЛЛР).

Маркери згідно винаходу також можуть включати один або більше одонуклеотидних поліморфізмів або ОНП, ідентифікованих між двома різними чутливим та резистентними геномами. Також можливо ідентифікувати інерційно-делеційний поліморфізм (INDEL).

Даний маркер переважно локалізований у локусі Sm1 locus, що включає і RGA 1, і RGA 2 нуклеїнові кислоти, зв'язані маркерами Wa_c6957_32 і Excalibur_c1787(Фігура 2). Більш переважно, розкрито ОНП в маркерах (ідентифікованих за нуклеотидною послідовністю) для визначення в рослині, чи наявні будь-які рекомбінантні хромосомальні фрагменти, що зберігають Sm1-алель, що надає резистентність OWBM. В таблиці 1 наведені ДНК - послідовності як чутливих, так і резистентних алелів в пшениці.

Таблиця 1:

Послідовності маркерів:
 А- Маркер, що демонструє одонуклеотидний поліморфізм між резистентними та сенсibilізованими геномами пшениці.

Маркерна послідовність алелів резистентності	Маркерна послідовність сенсibilізованих алелів
послідовність SEQ ID NO: 9 Маркер Wa_c6957_32 CGGGACAGCCAAGAGAAATrCCATTTGGCGA[T]CGTTCAAATGTGCACTGCATTaCGTACTGCCG TCGCCGTCTGTCTCTTTGACTGTCTG	послідовність SEQ ID NO: 10 Маркер Wa_c6957_32 CGGGACAGCCAAGAGAAATTCATTTGGCGA[C]CGTTCAAATGTGCACTGCATTCTCGTACTGC CGTCGCCGTCTGTCTCTTTGAGTCTG
послідовність SEQ ID NO: 11 Маркер Excalibur_c1787 CATATTGATGAACAAGAACAAGTATAGTGTGC GGCCAAGCCAGGGACCATGCCACCGTGTCTCC AGGCGTTATGTTGTCTGTGAC[G]CTGTGACGCG AAGAGGCGGCGCCGCCATACATGCCGGTGTGA CGACATGCTCCTAGTGCAGAGCACCAGCATCA CCCAAGATCTTGGTGAGATCAATTATCAAGAAT TGTTCCGACGTGGCCAGGGCGGATA	послідовність SEQ ID NO: 12 Маркер Excalibur_c1787_1301 CATATTGATGAACAAGAACAAGTATAGTGTGC GGCCAAGCCAGGGACCATGCCACCGTGAaCC AGGCGTTATGTTGTCTGTGAC[A]CTGTGACGCG AAGAGGCGGCGCCGCCATACATGCCGGTGTGA CGACATGCTCCTAGTGCAGAGCACCAGCATC ACCCAAGATCTTGGTGAGGATA
ПОСЛІДОВНІСТЬ №: 13 Маркер 1 GTATGAAAAGTATGAAAATAGCACTTGCTTGTAT TGTAGACCTACGGTTT[T]CTAACTATAGACTTA GTAACATACCCACATGAAATAACATACCA	ПОСЛІДОВНІСТЬ №: 14 Маркер 1 TATCAAAAGTATGAAAATAGCACTTGCTTGTAT GTAGACCTACGGTTT[A]CTAACTATAGACTTAG TAATAAACATACCCACATGAAATAACATACCA
ПОСЛІДОВНІСТЬ №: 15 Маркер 2 TGaCAACAGTCAAGTACCTTTTATCCTTTAGA TGCTCGGTGAGGTCTGTAATGAG[C]TCGTGCA CCTCATTAGCGACGGGTGGTTGATCCGGACG AACTTGTGCGAGTATGCTCCTCAGGATCCTCC TCATGTCAGGTTTCTTGGCGGTCCGCACGAAA GCCCGGACAGCA	ПОСЛІДОВНІСТЬ №: 16 Маркер 2 TACCTTTTATCCTTCAGATGCTCGGTGAGGTC ATGAATGAG[G]TCGTGACCTCATTAGCGTCTG GGTGGTTGGTGGGACGAACTTGTGCGAGTA TGCTCCTCAGGATCCTCCTCATGTCAGGTTTC TTGGCCGTCCGCACAAAAGCTCGGCAGTCGA AGT

Маркерна послідовність алелів резистентності	Маркерна послідовність сенсibilізованих алелів
GAAGT	
ПОСЛІДОВНІСТЬ №: 17 Маркер 3 TGCTCAACAGCTCAAGTACCTTTTATCCTTTAG ATGCTCGGTGAGGTCTGTAATGAGCTCGTGCA CCTCATTAGCGACGGGTGGTTG[A]TCCGGACG AACTTGTGCGAGTATGCTCCTCAGGATCCTCC TCATGTCAGGTTTCTTGGCGGTCCGCACGAAA GCCCGGACAGCA GAAGT	ПОСЛІДОВНІСТЬ №: 18 Маркер 3 TACCTTTTATCCTTCAGATGCTCGGTGAGGTC ATGAATGAGGTCTGACCTCATTAGCGTCTG GGTGGTTG[G]TGGGACGAACTTGTGCGAGT ATGCTCCTCAGGATCCTCCTCATGTCAGGTTT CTTGGCCGTCCGCACAAAAGCTCGGCAGTCG AAGT
ПОСЛІДОВНІСТЬ №: 19 Маркер 4 TGCTCAACAGCTCAAGTACCTTTTATCCTrTAG ATGCTCGGTGAGGTCTGTAATGAGCTCGTGCA CCTCATTAGCGACGGGTGGTTGAT[C]CGGACG	ПОСЛІДОВНІСТЬ №: 20 Маркер 4 TACCTTTTATCCTTCAGATGCTCGGTGAGGTC ATGAATGAGGTCTGACCTCATTAGCGTCTG GGTGGTTGGT[G]CGGACGAACTTGTGCGAGT

AACTTGTGCGAGTATGCTCCTCAGGATCCTCC TCATGTCAGGTTTCTTGGCGGTCCGCACGAAA GCCCCGCGAGCA GAAGT	ATGCTCCTCAGGATCCTCCTCATGTCAGGTTT CTTGGCCGTCCGCACAAAAGCTCGGCAGTCC AAGT
ПОСЛІДОВНІСТЬ №: 21 Маркер 5 CCAAGTGTTAGTATACTCTAGGAAGCTTTATGC GCCAACTTTGCATGTAGGTAACATAAAACTGG G[T]GAAAAGGTTGCTGACAGAGCCTGGATATT CCTCGCACGAAACCGACATGCTAGGAGTCACT AGATGTGTTGAAATTG	ПОСЛІДОВНІСТЬ №:22 Маркер 5 CCAAGTGTTAGTATACTCTAGGAAGCTTTATGC CGCCAACTTTGCATGTAGGTAACATAAAACTGG GG[C]GAAAAGGTTGCTGACAGAGCCTGGATA TTCCTCGCACGAAACCGACATGCTAGGAGTCA CTAGATGTGTTGAAATTG

B- Маркер, що показує наявність або відсутність в геномі рослини (Маркер ПЛР в режимі реального часу в генах RGA)

	Праймер F	Праймер R	Проба MGB*	Амплікони або послідовність маркерів
NBS1 8000	ПОСЛІДОВНІСТЬ №:23 CGACGGCGCAC GTGAT	ПОСЛІДОВНІСТЬ №:24 AACGGACGACGAA TGCAAAT	ПОСЛІДОВНІСТЬ №:25 TGGACTCGATCC ATTG	ПОСЛІДОВНІСТЬ №:26 CGACGGCGCACGTGATG CTGGACTCGATCCATTGC ATTTGCATTTCGTCTCCG TT
NBS4 4000	ПОСЛІДОВНІСТЬ №:27 ACGCTCCGCAAA AATCTGA	ПОСЛІДОВНІСТЬ №:28 AACAAACGAATAGC GCCTTGAG	ПОСЛІДОВНІСТЬ №:29 TGACCGGGACG AGCA	ПОСЛІДОВНІСТЬ №:30 ACGCTCCGCAAAAATCTG ATTGACCGGGACGAGCAG CTCAAGGCGCTATTTCGTT GTT
*MGB: Білок, що зв'язується із малою борідкою.				

5

При застосуванні в описі термін "алель" (алелі) означає будь-яку одну або більше альтернативних форм гену в певному локусі. У диплоїді (або амфідиплоїдній клітині організму), алелі заданого гену розташовані у специфічній локації або локусі на хромосомі. Один алель наявний на кожній хромосомі пари гомологічних хромосом.

10

При посиланні на "рослину" або "рослини" слід розуміти також частини рослин (клітини, тканини або органи, насінневі стручки, насінини, деякі частини, наприклад, коріння, листя, квіти, пилок, тощо), потомство рослин, які зберігають відмітні характеристики батьків. "Рослина" також стосується лінії, сорту, або рослини категорії еліта.

15

Винахід стосується способу ідентифікації рослин, резистентної до OWBM, що включає локус Sm1. Спосіб передбачає ідентифікацію резистентної до OWBM рослини у порівнянні із рослиною, яка не містить нуклеїнової кислоти згідно винаходу, причому спосіб включає такі стадії:

а) Ізоляція геномної послідовності ДНК або нуклеїнової кислоти РНК з рослини, і

20

б) Ідентифікація наявності нуклеїнової кислоти згідно винаходу або наявності резистентних алелів і/або відсутності чутливих алелів маркеру в локусі Sm1.

В переважному варіанті втілення способи застосовують до зернових, зокрема, до рису, кукурудзи, пшениці, ячменю. В переважному випадку рослиною є пшениця.

25

Наявність або відсутність нуклеїнової кислоти у винаході ідентифікована маркером або фрагментом, одержаним з такої нуклеїнової кислоти. Спосіб може базуватися на ідентифікації наявності або однієї нуклеїнової кислоти, що кодує або RGA 1, або RGA 2, або наявності обох нуклеїнових кислот, що кодують RGA 1 RGA 2 в резистентній рослині. Аналогічним чином, спосіб може базуватися на ідентифікації відсутності таких нуклеїнових кислот у чутливій рослині.

30

Маркери, що становлять предмет інтересу, у локусі Sm1 згідно даного винаходу, визначені ОНП Wa_c6957_32 і Excalibur_c1787 (Фігура 2), і вони пов'язані із резистентністю до Sm1. Вираз "Маркери, зв'язані із резистентністю до Sm1" означає маркери, що демонструють поліморфізм ДНК між резистентною рослиною та чутливою рослиною, або маркери, що ампліфікують ділянку ДНК з резистентної рослини, яка відсутня у чутливій рослині. Переважно маркери у локусі Sm1 є маркерами, переліченими в таблиці 1. Більш переважно, маркери, що являють собою предмет дослідження, є ко-домінантними маркерами, зазначеними в Таблиці 1А. Кодомінантні маркери є більш інформативними, оскільки вони можуть визначати гетерозиготні рослини, які успадкували як резистентні, так і чутливі алелі, і є більш точними, оскільки неправильна ампліфікація ПЛР

35

маркерів не може тлумачитися як чутлива, як може бути у випадку домінантних маркерів, таргетованих на резистентний алель.

Для оцінки наявності або відсутності ОНП можна застосовувати будь-який спосіб, відомий з рівня техніки. Деякі прийнятні способи включають, але не виключно, секвенування, гібридизацію, полімеразну ланцюгову реакцію (ПЛР), лігазну ланцюгову реакцію (ЛЛР), і генотипування шляхом секвенування (ГШС), або їх комбінації.

Фахівцю з рівня техніки доступні різні способи на основі ПЛР. Зокрема, можливо використовувати спосіб ПЛР в режимі реального часу або спосіб KASP від KBioscience (LGC Група, Teddington, Middlesex, Сполучене Королівство).

Виконують послідовні раунди ампліфікації ПЛР для ампліфікування таргетованої послідовності (маркер) із застосуванням помічених флуоресценцією праймерів. Особливості випромінюваної флуоресценції використовують для ідентифікації алельної форми або форм (як у випадку із гетерозиготами), наявними в комбінації із вивчених ДНК.

При застосуванні в даному описі під праймером розуміють будь-яку нуклеїнову кислоту, що придатна для ініціювання синтезу зростаючої нуклеїнової кислоти у матрично-залежних процесах, таких як ПЛР. Як правило, праймери є олігонуклеотидами із 10 - 30 нуклеотидами, але можна застосовувати і довші послідовності. Праймери можна використовувати у дволанцюговій формі, хоча одно ланцюгова є переважною. Альтернативно, можна застосовувати проби нуклеїнової кислоти. Пробі нуклеїнової кислоти включають будь-які нуклеїнові кислоти із принаймні 30 нуклеотидами, які можуть специфічно гібридуватися при стандартних жорстких умовах із заданою нуклеїновою кислотою. Стандартні жорсткі умови включають умови для гібридизації, описані, наприклад, у Sambrook et al.(1989), що можуть включати: 1) іммобілізацію фрагментів геномної ДНК рослини або бібліотеки ДНК на фільтрі 2) попередню гібридизацію фільтру протягом 1-2 годин при 65 °C у 6x SSC 5x реагенті Денхардта, 0.5 % SDS (додецилсульфат натрія) і 20 мг/мл денатурованого носія ДНК 3) додавання пробі (помічена 4), інкубованої протягом 16 0 24 годин 5) промивання фільтра однократно протягом 30 хвилин при 68 °C у 6x SSC, 0.1 % SDS (додецилсульфат натрія) 6) промивання фільтру тричі (двічі протягом 30 хвилин у 30 мл і однократно протягом 10 хвилин у 500 мл) при 68 °C у 2x SSC 0.1 % SDS (додецилсульфат натрія).

Винахід також передбачає спосіб інтрогресування резистентності Sm1 в рослині, який передбачає стадії

а) Схрещування першої резистентної рослини, що включає нуклеїнову кислоту згідно винаходу або резистентний алель, як зазначено в таблиці 1, із другою рослиною, який відрізняється тим, що друга рослина не включає нуклеїнову кислоту згідно винаходу або резистентний алель, як зазначено в Таблиці 1

б) Зворотне схрещування потомства зі стадії а) із зазначеною другою рослиною

с) Ідентифікація і селекція на стадії б) однієї або більше рослин, що включають нуклеїнову кислоту згідно винаходу або резистентний алель, як вказано в Таблиці 1, пов'язаний із резистентністю OWBM.

При застосуванні в даному описі термін "інтрогресія" стосується фрагменту ДНК окремої рослини, який передають другій рослині. Більш конкретно, в межах першої задачі друга рослина є чутливою до OWBM рослиною. Інтрогресія дозволяє одержати нову резистентну рослину із чутливої рослини шляхом переміщення від резистентної рослини до чутливої рослини хромосомального фрагменту, що включає нуклеїнову кислоту згідно винаходу. Трансфер зазначеної нуклеїнової кислоти ідентифікують маркерами згідно даного винаходу.

В межах другої задачі зазначена друга рослина є резистентною до OWBM завдяки наявності в геномі принаймні одного локусу резистентності, що відрізняється від локусу Sm1. Інтрогресія локусу Sm1 в зазначену другу рослину дозволяє поєднання локусу Sm1 із іншими резистентними до OWBM локусами. Такий процес добре відомий як "пірамідування генів" або "стекінг генів". У випадку генів резистентності стекінг покращує резистентність шляхом надання рослині підвищеної тривалості резистентності у порівнянні із рослиною, що має лише один локус резистентності.

В переважному варіанті втілення способи застосовують до зернових, зокрема, до рису, кукурудзи, пшениці, ячменю. Переважною рослиною пшениця

Винахід також стосується застосування нуклеїнової кислоти згідно винаходу або будь-якого фрагменту зазначеної нуклеїнової кислоти як засобу скринінгу для ідентифікації нової ліганд-пептидної взаємодії із білком, закодованим нуклеїновою кислотою згідно винаходу.

З рівня техніки добре відомі способи ідентифікації взаємодії ліганд-білок, наприклад, дріжджові двогібридні системи (Fields and Song, 1989), або імунопреципітація.

Винахід також включає спосіб модифікації нуклеїнової кислоти згідно винаходу для покращення функції білку, закодованого нуклеїновою кислотою для покращення резистентності OWBM.

5 Добре відомі способи модифікації геномної ДНК або "редагування геному", наприклад, TALENs (WO2011072246) або CRISPR Cas9 (WO2013181440).

Даний винахід також пропонує ділянки промоторів генів, що кодують білки, які забезпечують резистентність OWBM відповідно до даного винаходу і включають послідовність із принаймні 80 %, переважно принаймні 85 %, більш переважно принаймні 90 %, а найпереважніше - принаймні із 95 % ідентичності послідовності до послідовності трьох ділянок промоторів. 10 Процент ідентичності підраховують будь-якими способами аналізу послідовності, що відомий фахівцю з рівня техніки, зокрема, із використанням алгоритмів, таких як алгоритм Нідлмана-Вунша. Процент ідентичності підраховують по всій довжині заданої послідовності.

В переважному варіанті втілення послідовність SEQ ID NO: 31 або послідовність SEQ ID NO: 32, або будь-яка послідовність із принаймні 80 %, переважно принаймні 85 %, більш переважно 15 принаймні 90 %, найпереважніше принаймні 95 % ідентичності послідовності SEQ ID NO: 31 або послідовність SEQ ID NO: 32 включають ділянку промотора гена, що кодує білок, який надає стійкості до OWBM відповідно до винаходу. В переважному варіанті втілення винаходу послідовності SEQ ID NO: 33 - SEQ ID NO: 37 або будь-які послідовності із принаймні 80 %, 20 переважно принаймні 85 %, переважніше принаймні 90 %, найпереважніше принаймні 95 % ідентичності послідовностям SEQ ID NO: 33 - ID NO: 37 включають ділянку промотора гена, що кодує білок, який надає резистентності OWBM відповідно до винаходу.

ПРИКЛАДИ:

Приклад 1. Точне картування геномної ділянки, що включає локус Sm1

А: Точне картування на основі карт генетичних зв'язків:

25 Sm1 ген резистентності оранжевій галиці пшениці (OWBM) було вперше картовано на коротке плече хромосоми 2B by Thomas et al (2005) із застосуванням SSR- маркерів, а його локалізоване положення нещодавно було уточнене Kassa et al (2016). Однак, популяції, що застосовувалися для карт зчеплення, були відносно невеликими, тому роздільна здатність генетичних карт не є дуже високою. Як наслідок, винахідники мали обробити великі популяції F2 30 і додаткові ДНК - маркери для насичення ділянки з метою скринінгу нових випадків рекомбінації. В цілому було розроблено 259 нових ОНП для аналізу рекомбінантних рослин, як описано нижче, для точного картування заданої ділянки та ідентифікації генів в локусі резистентності Sm1.

У 2011 році 4466 рослин F2 були одержані шляхом самовідтворення кросів F1 між сортами 35 озимої пшениці із Великобританії Xi19 (чутливі) і Robigus (резистентні до Sm1). Такі зразки були генотиповані із 8 маркерами ОНП, що були точно розподілені між 12.3 cM і 41.3 cM на генетичній карті хромосоми 2B для ідентифікації рекомбінантів на ділянці. Субпанель з 376 ліній була додатково генотипована із додатковим набором 42 маркерів ОНП для одержання більш 40 детальної генетичної карти ділянки навколо локусу Sm1.

Після двох додаткових раундів самовідтворення рекомбінантних рослин F2 із добром 45 маркерів загалом 111 гомозиготних рекомбінантів F4 були згенеровані на ділянці Sm1 в 2BS. Такі рекомбінанти F4 були генотиповані із додатковими 42 маркерами ОНП, як описано вище, і фенотиповані протягом літа 2013 на резистентність до OWBM в польових умовах. Фенотипування здійснювали протягом 4-5 тижнів після цвітіння, в молочній фазі (Kassa et al, 2016; Ellis et al, 2009), шляхом візуального інспектування окремих суцвіть на принаймні 10 колосах 10 окремих рослин родини F4. Родини F4 із повною відсутністю личинок галиці в колосі 50 були враховані як резистентні; якщо принаймні одна личинка була знайдена, всю родину F4 вважали чутливою. Рівні враження галицею були високими, а локус Sm1 картовано, без будь-яких неясностей, до генетичного інтервалу 0.49 cM (визначено по 22 рекомбінантах з 4466 рослин F2).

При дослідженні наявних приватних та публічних геномних ресурсів були ідентифіковані ще 186 ОНП в інтервалі 0.49 cM або близько до нього. Такі додаткові маркери уможливають 55 подальшу дискримінацію 22 рекомбінантних рослин і зниження генетичного інтервалу, що включає Sm1, тільки до 0.067 cM. Подальший аналіз фізичної карти (див. Приклад 1: В) і послідовностей з транскриптомічного експерименту (див. Приклад 3) додає ще 23 додаткові ОНП до ділянки, яка в цілому забезпечує 259 маркерів, тісно пов'язаних із локусом Sm1.

В: Точне картування на основі фізичних карт:

В якості геномних ресурсів для уможливлення фізичного картування локусу Sm1 використовувалися як контиги хромосоми IWGSC (The International Wheat Genome Sequencing

Consortium (IWGSC) (2014)), та і цільні зборки геномів IWGSC, 'IWGSC WGA' (доступні з червня 2016 з репозиторію URGI IWGSC).

Права межа інтервалу Sm1 була заякорена на контиг IWGS 2BS:5245756 (11643 bp) із 21 маркерами ОНП на цьому контизі. Три маркери ОНП (наприклад, Excalibur_c1787_1301, зображений в послідовності SEQ ID NO: 10) підтвердили точковий розрив при рекомбінації на контизі IWGS 2BS:5245756. Ліва межа була заякорена на контиг IWGS 2BS:5191992 (937 bp) єдиним ОНП (наприклад, Wa_c6957_32, зображений в послідовності SEQ ID NO: 9).

Після вивільнення геномної послідовності пшениці 'IWGSC WGA' в цілому 93 маркери ОНП були заякорені на бажаній ділянці, на двох скафолдах: IWGSCWGA02_2BS_скафолд14096 і IWGSCWGA02_2BS_С скафолд11627, що мають 675,277 bp і 2,720,717 bp по довжині відповідно. Генетичний порядок 93 маркерів ОНП у біпарентальній картирувальній популяції Xi19 x Robigus відповідав фізичному положенню ОНП у скафолдах 'IWGSC WGA'. ОНП-Маркери Wa_c6957_32 і Excalibur_c1787_1301 обмежують кордони інтервалу Sm1 (Фігура 2) і визначають ділянку 941,325 bp на геномі 'IWGSC WGA' Chinese Spring (122,033 bp на IWGSCWGA02_2BS_скафолд14096 і 819,292 bp на IWGSCWGA02_2BS_скафолд11627; Фігура 2).

Паралельно, також була піддана скринінгу бібліотека Renan BAC, наявна в Центрі геномів рослин INRA GNRG (<http://cnrgv.toulouse.inra.fr/>). Renan - це резистентний до галиці сорт озимої пшениці із Франції, ідентичний із Robigus на локусі Sm1, як визначено генотипуванням обох сортів 21 ОНП, розвинутими в інтервалі, визначеному Wa_c6957_32 і Excalibur_c1787_1301. Бібліотека BAC була піддана скринінгу чотирма маркерами ОНП, розташованими на контизі 2BS:5245756, і одним ОНП з кожного з п'яти контигів IWGSC поблизу до 2BS:5245756 (наприклад, 2BS:5157057, 2BS:5163033, 2BS.5191992, 2BS.5174837 і 2BS:5175242).

Був ідентифікований один клон BAC (715D09) довжиною 110 kbp, що включає праву межу локусу Sm1. Анотація цього клону BAC виявила два гени-аналоги із стійкістю до хвороб: RGA 1 і RGA 2, а також ген кінази багатого на цистеїн рецептора. ПЛР - маркери в режимі реального часу, виділені з послідовності двох генів RGA (Таблиця 1B), були генотиповані на субпопуляції рекомбінантних рослин з картувальної популяції Xi19 x Robigus, що підтвердили генетичне розташування і інтервалі.

Ген RGA 1 кодує білок із послідовністю SEQ ID NO: 3, а ген RGA 2 білок з послідовністю SEQ ID NO: 6. Обидва білка мають мотиви CC, NBS і LRR класичних генів стійкості до CNL, як показано на Фігурі 1. Цікаво, що позначення RGA 2 виявило наявність додаткових доменів, які також можуть бути залучені для захисту рослин (тобто NAM, р-кіназа і PapD- подібні домени). Недавні дослідження стверджують, що ці "інтегровані домени" можуть виникати внаслідок злиття між NLR (нуклеотид-зв'язуючий домен, багатий на лейцинові повтори), і що ці додаткові домени служать "приманками" для ефektorних білків, отриманих з патогенів; це уможливорює розпізнавання патогенезу (Sarris et al, 2016).

Аналіз BLAST двох сДНК RobigusRGA щодо повного набору даних IWGSC WGA ідентифікував регіон у межах IWGSCWGA02_2BS_скафолд11627 з відсотком ідентичності в межах від 78 до 82 % для фрагментів розміром більше 700 bp. Більш конкретно, нуклеотиди 1,173 і 968, що кодують LRR- домени RGA 1 і RGA 2, відповідно, мають два BLAST- хіти кожного з них в інтервалі 141,193 bp в межах IWGSCWGA02_2BS_скафолд 11627 (тобто RGA.CS1 і RGA.CS2, показані в Фігурі 2). Відсотки ідентичності 77,81 і 77,27 для RGA 1 і 81,75 і 80,75 для RGA 2 дозволяють припустити тандемне дуплікування двох спадкових генів RGA.

Спостережуваний відсоток ідентичності істотно не відрізнявся від отриманих пізніше за допомогою аналізу BLAST мРНК щодо всіх IWGSC WGA (див. розділ "Диференційна експресія на рекомбінантних рослинах"). Не було виявлено більш високих відсотків ідентичності в геномі, що свідчить про спільне походження між RGA 1 і RGA 2 і кластером генів RGA, ідентифікованих в IWGSCWGA02_2BS_скафолд11627 (тобто RGA.CS1 і RGA.CS2, показані на Фігурі 2). Фрагмент IWGSCWGA02_2BS_скафолд11627, що залишається в інтервалі Sm1, був анотований на основі оцінки MAKER, а дані ST / mRNAseq використовувалися для перевірки якості анотації. Збережено тільки гени високої довіри (HC), що підтримуються функціональними позначеннями (Uniprot / Swissprot).

390 bp домену р-кінази RGA 2 співпадали із процентом ідентичності 96.69 % із кіназою, розташованою на точці рекомбінації на IWGSCWGA02_2BS_скафолд11627. Кодомінантні маркери, перелічені в таблиці 1A, розташовані на домені р-кінази. Збагачений цистеїном рецептор кінази на кінці BAC був картований зовні інтервалу (Фігура 2).

Процент ідентичності до інших кіназ, наявних у IWGSCWGA02_2BS_скафолд11627, був нижчим 90 %. Такі дані дозволяють припустити спадкову перестановку на цій ділянці у

резистентних до галиці лініях, із видаленням приблизно 600 т.н. між першими двома RGA генами Chinese Spring (тобто, RGA.CS1 і RGA.CS2, як показано на Фігурі 2) і цією кіназою.

Слід відзначити, що Kassa et al (2016) описують Bradi5g00870 as a гіпотетичний ген-кандидат для Sm1, проте така генна послідовність RGA не знайдена у заданому інтервалі, ідентифікованому у даному винаході.

Приклад 2: Секвенування Robigus і Xi19

Було згенеровано 30 кратне геномне покриття Xi19 і Robigus. Біоінформаційне картування гДНК зчитується до IWGSCWGA02_2BS_скафолд14096,

IWGSCWGA02_2BS_скафолд11627, а послідовність BAC підтверджує значні структурні відмінності на ділянці, що пояснює відсутність рекомбінантності. Як правило, відсутні зчитування гДНК-seq від Xi19, картовані на послідовність BAC Renan (Фігура 3). Як правило, жодна з гДНК-seq не зчитується з Robigus, які картовані на частину скафолд11627, локалізовану в інтервалі. Це вказує, що вміст гену у відповідних геномних ділянках чутливих та резистентних рослин дуже дивергентний, що, можливо, викликано локальними хромосомальними перебудовами. Нещодавно були опубліковані аналогічні структурні перебудови між референтними геномними послідовностями сорту Chinese Spring і ділянкою, що містить ген резистентності до фузаріозу (Fhb1) (Schweiger et al, 2016).

Приклад 3: Диференційна експресія на рекомбінантних рослинах

Завдяки основним структурним відмінностям між референтним геномом 'Chinese Spring' і Renan в локусі Sm1, наступне дослідження полягало в секвенуванні транскриптоми з колосся пшениці 12 і 14 чутливих рослин, які були піддані рекомбінації дуже близько до локусу Sm1, а також двох батьківських ліній Xi19 і Robigus. Задача полягала в збиранні доказів експресії генів-кандидатів, ідентифікованих на ділянці, а також у перевірці наявності нових генів, які були відсутні у референтному геномі, але наявні в локусі Sm1. 25 обраних рослин, а також батьківські форми, були висіяні в полі, а окремі колоси були відібрані на сухому льоді, із наступною атакою галиці. З цих 25 зразків тканин була екстрагована мРНК, із застосуванням для секвенування спарених кінців із використанням секвенатора Illumina HiSeq 2500, який був наданий зовнішнім сервісним провайдером: Service XS. Набори даних RNA-Seq Illumina, згенеровані на 25 лініях, були проаналізовані для повторного держання транскриптомної збірки. Ріди RNA-Seq з кожної окремої лінії були знов картовані на цих нових транскриптомних збірках, а генна експресія з 12 резистентних ліній була порівняна із експресією 13 чутливих ліній для ідентифікації генів із різною експресією.

Перший скринінг був виконаний із послідовностей із різною експресією, вираженою в присутності 566 генів, які були анотовані із генами комах і були знайдені тільки в зразках чутливих рослин; таким чином, підтвердилося, що зразки колосся пшениці містили личинки галиці в стадії розвитку. Відтак, відсутність експресії генів в зразках резистентних рослин можна інтерпретувати як безпосередній ефект локусу резистентності Sm1.

Серед диференційно-експресованих генів рослин, 6 мали надекспресовані послідовності у резистентних лініях, а 21 були надекспресовані у чутливих лініях. Послідовність 27 зібраних контигів EST використовувалася для аналізу BLAST щодо послідовностей IWGSC WGA і BAC для валідації їх геномного положення. (Таблиця 2). Тільки 6 генів (3 надекспресовані і 3 недоекспресовані гени), загалом з 27, були картовані на заданому інтервалі (Таблиця 2). Решта контигів мала співпадіння BLAST із процентним відношенням ідентичності >97 % по відношенню до ділянок на інших хромосомах пшениці або були більш фізично віддалені на хромосомі 2B (Таблиця 2).

Нижченаведена таблиця 2 демонструє хромосомальну локацію 27 диференційно-експресованих EST, ідентифікованих між резистентними та чутливими рослинами, підданими аналізу РНК-секвенування. Нижче "+" означає надекспресію у резистентних лініях, а "-" означає надекспресію у чутливих лініях. IWGSC WGA показує хіти на 2BS для EST1, ідентифіковані IWGSC WGA контиги 3 і 6 IWGSCWGA02_2BS_скафолд11627. EST21 (2BS*) позначає більше 200 Мбайт/с з локусу Sm1. EST22 (RGA.Xi19) анотують як білок RGA, він має 89 % ідентичності до RGA.CS1 (Фігура 2).

Ознака	Експресія		IWGSC WGA	Процент ідентичності із IWGSC WGA	Процент ідентичності із BAC715D09
EST1	+	RGA1	2BS	78 %	100 %
EST2	+		5DL	100 %	
EST3	+	RGA2	2BS	87 %	100 %
EST4	+		5BS	98 %	
EST5	+		5DL	100 %	
EST6	+	Кіназа	2BS	77 %	100 %
EST7	-		6AL	100 %	
EST8	-		7DL	96 %	
EST9	-		2AL	99 %	
EST10	-		1DS	98 %	
EST11	-		4DL	99 %	
EST12	-		1AL	97 %	
EST13	-		3AL	96 %	
EST14	-		7DL	99 %	
EST15	-		6BS	89 %	
EST16	-		2DL	97 %	
EST17	-		6DL	98 %	
EST18	-		2BL	99 %	
EST19	-		3DL	100 %	
EST20	-		4DL	100 %	
EST21	-		2BS*	99 %	
EST22	-	RGA.Xi19	2BS	89 %	
EST23	-		6DL	100 %	
EST24	-		3DL	98 %	
EST25	-		4AS	98 %	
EST26	-		2BS	100 %	
EST27	-		2BS	100 %	

Оскільки резистентність Sm1 була відзначена як частково домінантна (McKenzie et al, 2002), наступні аналізи були сфокусовані на 6 надекспресованих генах. Серед цих кандидатів (EST1 - 6 у Таблиці 2), 3 гени були розміщені на клоні BAC(715D09). Як очікувалося, ці 2 гени були відсутні у Xi19, і не було можливо картувати будь-які з ридів Xi19 RNA-Seq до послідовності BAC. (EST1 відповідає RGA 1, а EST 3 відповідає RGA 2). І навпаки, не було можливо картувати будь-які з ридів Robigus RNA-секвенування до фрагменту IWGSCWGAV_02_2BS_скафолду11627, що залишився в діапазоні. Інші три гени картовані із сильними BLAST хітами до хромосом 5DL і 5BS.

Приклад 4: Аналіз маркерів навколо локусу Sm1 із застосуванням генетично-різноманітної панелі

Загалом були відібрані, 23,400 лінії серед кросів, сегрегованих для Sm1 із 10 ОНП-маркерами, розподіленими вздовж локусу Sm1 для пошуку екстра-рекомбінантів у заданій області. Загалом було ідентифіковано 576 гіпотетичних рекомбінантів, які, разом з батьківськими лініями, були також генотиповані із двома маркерами ПЛР в режимі реального часу, виділеними з RGA 1 і RGA 2 (Таблиця 1B) і 46 маркерами, що включають 24 ОНП з діапазону і 22 маркери, у щільно фланкуючій ділянці. Ці результати демонструють, що випадки рекомбінації не були встановлені між двома генами RGA, і рекомбінантні рослини не були знайдені на невеликій ділянці 0.067 см, ідентифіковані у біпарентальній картуючій популяції Xi19 x Robigus. Відсутність рекомбінації на ділянці викликана відсутністю будь-якої гомології послідовності між резистентними та чутливими лініями. Крім того, всі лінії, що несуть два гени Robigus RGA, поділяють гаплотип Robigus на основі 24 Маркерів у заданому інтервалі, що припускає єдине походження або спільного попередника для резистентного локусу Sm1.

Серед 576 ліній було виділено суб-панель із 113 різноманітних ліній для аналізу фенотипу. Така суб-панель містить багато рекомбінантних рослин різного генетичного походження для валідації будь-яких потенційно-діагностичних ОНП- маркерів. Всі рекомбінантні рослини та їх батьківські лінії були висіяні та генотиповані влітку 2014. Наявність двох генів RGA завжди демонструвала те, що є 100 %- діагностичним щодо наявності Sm1. З цих 24 маркерів в цьому

діапазоні 5 були ідентифіковані як корелюючі із наявністю або відсутністю двох RGA (Таблиця 1А), що робить їх ідеальними для селекції Sm1-гену із застосуванням маркерів.

Приклад 5: Ідентифікація геномних областей, які мають промоторні мотиви промоторів для генів RGA1 і RGA2

5 Послідовність 715D09 BAC, що містить два гени RGA, була подана до TSSP (Прогнозування промоторів рослин (з використанням RegSite Plant DB, Softberry Inc.)) з використанням алгоритму, реалізованого на сайті www.softberry.com.

Послідовності довільних 3000 bp вгору від сайту початку трансляції (TSS) двох генів, що є предметом розгляду і включають прогнозовані послідовності промоторів, є такими, як
10 викладено в послідовності SEQ ID NO: 31 для RGA1 і послідовності SEQ ID NO: 32 для RGA2. У межах цих 3000 bp для обох генів були визначені додаткові ділянки прогнозованих промоторів, що включають TATA-бокс і сайти зв'язування фактора транскрипції.

Положення прогнозованих послідовностей промоторів у послідовності SEQ ID NO: 31 на основі алгоритму TSSP, є такими:

15 Положення промотору 285 із TATA-бокс в положенні 251;
Положення промотору 1380 із TATA-бокс в положенні 1364;
Положення промотору 2609 із TATA-бокс на позиції 2591.

Положення прогнозованих послідовностей промоторів у послідовності SEQ ID NO: 32 на основі алгоритму TSSP є наступними:

20 Положення промотору 942 із TATA-бокс в положенні 907;
Положення промотору 2475 із TATA-бокс в положенні 2461.

Приклад 6: Функціональне вивчення генів RGA1 і RGA2

Функції генів RGA1 і RGA2 можуть бути перевірені різними способами, добре відомими в даній галузі. Генетична трансформація сенсibilізованих сортів пшениці, які надекспресують RGA1 або RGA2 під різними промоторами, може бути отримана і перевірена на їх здатність
25 забезпечувати резистентність OWBM - резистентність у теплицях або в полі.

Валідація також може бути досягнута шляхом мутагенезу способами, відомими фахівцю в даній області техніки, з, наприклад, обробкою EMS. Валідація включає одержання декількох незалежних мутантів "із втратою резистентності", отриманих від обробки EMS резистентних сортів пшениці, із подальшою ідентифікацією мутацій в гені-кандидаті; таким чином підтверджується функція резистентності гена. Наприклад, такий метод описаний Periyannan et al. (2013), і застосовується для ідентифікації гена стійкості до іржі пшениці Sr33.

ПОСИЛАННЯ:

35 Altschul SF, Madden TL, Schaffer AA, Zhang J, Zhang Z, Miller W, Lipman DJ (1997) Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Res.* 25: 3389-3402

Altschul SF, Wootton JC, Gertz EM, Agarwala R, Morgulis A, Schaffer AA, Yu YK (2005) Protein database searches using compositionally adjusted substitution matrices. *The FEBS Journal* 272: 5101-5109

40 Anderson OD, Greene FC (1989) The characterization and comparative analysis of high-molecular-weight glutenin genes from genomes A and B of hexaploid bread wheat. *Theoretical and Applied Genetics* 77: 689-700

Anon (2016) Orange wheat blossom midge. AHDB Information sheet № 53 Summer 2016 (<https://cereals.ahdb.org.uk/>)

45 Bailey TL and Elkan C (1994) Fitting a mixture model by expression maximization to discover in biopolymers. *Proceedings of the International Conference on Intelligent Systems for Molecular Biology* 2: 28-36

Birkett MA, Bruce TJA, Martin JL, Smart LE, Oakley J, Wadhams LJ (2004) Responses of female orange wheat blossom midge to wheat panicle volatiles. *Journal of Chemical Ecology* 30: 1319-1328

50 Blake NK, Stougaard RN, Weaver DK, Sherman JD, Lanning SP, Narouka Y, Xue Q, Martin JM, Talbert LE (2011) Identification of a quantitative trait locus for resistance to *Sitodiplosis mosellana* (Gehin), the orange wheat blossom midge, in spring wheat. *Plant Breeding* 130: 25-30

Bruce TJ, Hooper AM, Ireland L, Jones OT, Martin JL, Smart LE, Oakley J, Wadhams LJ (2007) Development of a pheromone trap monitoring system for orange wheat blossom midge, *Sitodiplosis mosellana*, in the UK. *Pest Management and Science* 63: 49-56

55 Chavalle S, Censier F, San Martin y Gomez G, De Profta M (2015) Protection of winter wheat against orange wheat blossom midge, *Sitodiplosis mosellana* (Gehin) (Diptera: Cecidomyiidae): efficacy of insecticides and cultivar resistance. *Pest Management Science* 71: 783-790

- Christensen AH, Quail PH (1996) Ubiquitin promoter-based vectors for high-level expression of selectable and/or screenable marker genes in monocotyledonous plants. *Transgenic Research* 5: 213-218
- 5 Depigny-This D, Raynal M, Aspart L, Delseny M, Grellet F (1992) The cruciferin gene family in radish. *Plant Molecular Biology* 20: 467-479
- Ding H, Lamb RJ (1999) Oviposition and larval establishment of *Sitodiplosis mosellana* (Diptera: Cecidomyiidae) on wheat at different growth stages. *The Canadian Entomologist* 131: 475-481
- Ding H, Lamb RJ, Ames N (2000) Inducible production of phenolic acids in wheat and antibiotic resistance to *Sitodiplosis mosellana*. *Journal of Chemical Ecology* 26: 969-985
- 10 Doane JF, Olfert OO, Elliott RH, Hartley S, Meers S (2013) *Sitodiplosis mosellana* (Gehin), orange wheat blossom midge (Diptera: Cecidomyiidae). In "Biological control programmes in Canada 2001-2012". Eds PG Mason & DR Gillespie. Chapter 39, pp 272-276
- Dogimont C, Chovelon V, Pauquet J, Boualem A, Bendahmane A (2014) The Vat locus encodes for a CC-NBS-LRR protein that confers resistance to *Aphis gossypii* infestation and *A. gossypii*/7-mediated virus resistance. *The Plant Journal* 80: 993-1004
- 15 Du B, Zhang W, Liu B, Hu J, Wei J, Shi Z, He R, Zhu L, Chen R, Han B, He G (2009) Identification and characterization of Bph14, a gene conferring resistance to brown planthopper in rice. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 106: 22163-22168
- Elliot RH, Mann LW (1996) Susceptibility of red spring wheat, *Triticum aestivum* L. cv. Katepwa, during heading and anthesis to damage by wheat midge, *Sitodiplosis mosellana* (Gehin) (Diptera: Cecidomyiidae). *The Canadian Entomologist* 128: 367-375
- 20 Ellis SA, Bruce TJA, Smart LE, Martin JA, Snape J, Self M (2009) Integrated management strategies for varieties tolerant and susceptible to wheat blossom midge. HGCA project report No. 451.
- Fields S, Song O (1989) A novel genetic system to detect protein-protein interactions. *Nature* 340: 245-246
- Gharalari AH, Fox SL, Smith MAH, Lamb RJ (2009a) Oviposition deterrence in spring wheat, *Triticum aestivum*, against orange wheat blossom midge, *Sitodiplosis mosellana*: implications for inheritance of deterrence. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 133: 74-83
- 30 Gharalari AH, Fox SL, Smith MAH, Lamb RJ (2009b) The relationship between morphological traits of the spring wheat spike and oviposition deterrence to orange wheat blossom midge. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 132: 182-190
- Gharalari AH, Smith MAH, Fox SL, Lamb RJ (2011) Volatile compounds from non-preferred wheat spikes reduce oviposition by *Sitodiplosis mosellana*. *The Canadian Entomologist* 143: 388-391
- 35 Gries R, Gries G, Khaskin G, King S, Olfert OO, Kaminski LA, Lamb R, Bennett R (2000) Sex pheromone of orange wheat blossom midge, *Sitodiplosis mosellana*. *Naturwissenschaften* 87: 450-454.
- Harris MO, Stuart JJ, Mohan M, Nair S, Lamb RJ, Rohfritsch O (2003) Grasses and gall midges: Plant defense and insect adaptation. *Annual Review of Entomology* 48: 549-577
- 40 Ishida Y, Saito H, Ohta S, Hiei Y, Komari T, Kumashiro T (1996) High efficiency transformation of maize (*Zea mays* L.) mediated by *Agrobacterium tumefaciens*. *Nature Biotechnology*, 14: 745-750
- Jouanin L, Guerche P, Pamboukdjian N, Tourneur C, Casse Delbart F, Tourneur J (1987) Structure of T-DNA in plants regenerated from roots transformed with *Agrobacterium rhizogene* strain A4. *Molecular and General Genetics* 206: 387-392
- 45 Kassa MT, Haas S, Schliephake E, Lewis C, You FM, Pozniak CJ, Kramer I, Perovic D, Sharpe AG, Fobert PR, Koch M, Wise IL, Fenwick P, Berry S, Simmonds J, Hourcade D, Senellart P, Duchalais L, Robert O, Forster J, Thomas JB, Friedt W, Ordon F, Uauy C, McCartney CA (2016) A saturated OHП linkage map for the orange blossom midge resistance gene Sm1. *Theoretical and Applied Genetics* 129: 1507-1517
- 50 Kay R, Chan, A, Daly M, McPherson J (1987) Duplication of CaMV 35S promoter последовність creates a strong enhancer for plant genes. *Science* 236:1299-1302
- Lamb RJ, McKenzie RIH, Wise IL, Barker PS, Smith MAH (2000) Resistance to *Sitodiplosis mosellana* (Diptera: Cecidomyiidae) in spring wheat (Gramineae). *The Canadian Entomologist* 132: 591-605
- 55 Lamb RJ, Smith MAH, Wise IL, Clarke P, Clarke J (2001) Oviposition deterrence to *Sitodiplosis mosellana* (Diptera: Cecidomyiidae): a source of resistance for durum wheat (Gramineae). *The Canadian Entomologist* 133: 579-591
- Lamb RJ, Wise IL, Smith MAH, McKenzie RIH, Thomas J, Olfert OO (2002) Oviposition deterrence against *Sitodiplosis mosellana* (Diptera: Cecidomyiidae) in spring wheat (Gramineae). *The Canadian Entomologist* 134: 85-96
- 60

- Lamb RJ, Sridhar P, Smith MAH, Wise IL (2003) Oviposition preference and offspring performance of a wheat midge *Sitodiplosis mosellana* (Gehin) (Diptera: Cecidomyiidae) on defended and less defended wheat plants. *Environmental Entomology* 32: 414-420
- Lamb RJ, Smith MAH, Wise IL, McKenzie RIH (2015) Resistance to wheat midge (Diptera: Cecidomyiidae) in winter wheat and the origins of resistance in spring wheat (Poaceae). *The Canadian Entomologist* 1: 1-10.
- McElroy D, Zhang W, Cao J, Wu R (1990) Isolation of an efficient actin promoter for use in rice transformation. *The Plant Cell* 2: 163-171
- McKenzie RIH, Lamb RJ, Aung T, Wise IL, Barker P, Olfert OO (2002) Inheritance of resistance to wheat midge, *Sitodiplosis mosellana*, in spring wheat. *Plant Breeding* 121: 383-388
- Meyers BC, Dickerman AW, Michelmore RW, Sivaramakrishnan S, Sobral BW, Young ND (1999) Plant disease resistance genes encode members of an ancient and diverse protein family within the nucleotide-binding superfamily. *The Plant Journal* 20: 317-332.
- Miller BS, Halton P (1960) The damage to wheat kernels caused by the wheat blossom midge (*Sitodiplosis mosellana*). *Journal of Science, Food & Agriculture* 12: 391-398
- Mullis KB, Faloona FA (1987) Specific synthesis of Δ HK in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. *Methods in Enzymology* 155:335-350
- Oakley JN (1994) Orange wheat blossom midge: a literature review and survey of the 1993 outbreak. Research Review No. 28, HGCA, Hamlyn House, Highgate Hill, London, UK
- Oakley JN, Talbot G, Dyer C, Self MM, Freer JBS, Angus WJ, Barrett JM, Feuerhelm G, Snape J, Sayers L, Bruce TJA, Smart LE, Wadhams LJ (2005) Integrated control of wheat blossom midge: variety choice, use of pheromone traps and treatment thresholds. HGCA Project, Report 363
- Olfert O, Elliott RH, Hartley S (2009) Non-native insects in agriculture: strategies to manage the economic and environmental impact of wheat midge, *Sitodiplosis mosellana*, in Saskatchewan. *Biological Invasions* 11: 127-133
- Periyannan S, Moore J, Ayliffe M, Bansal U, Wang X, Huang L, Deal K, Luo M, K Mia genes, encodes the wheat stem rust race Ug99. *Science*, 10.1126/1239028.
- Robert LS, Thompson RD, Flavell RB (1989) Tissue-specific expression of a wheat high molecular weight glutenin gene in transgenic tobacco. *The Plant Cell* 1: 569-578
- Rossi M, Goggin FL, Milligan SB, Klaoshian I, Ullman DE, Williamson VM (1998) The nematode resistance gene Mi of tomato confers resistance against the potato aphid. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 95: 9750-9754
- Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T (1989) *Molecular cloning: a laboratory manual*. Cold Spring Harbor, New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Sarris PF, Cevik V, Dagdas G, Jones JDG, Krasileva KV (2016) Comparative analysis of plant immunoreceptor architectures uncovers hostproteins likely targeted by pathogens. *BMC Biology* 14:8
- Schweiger W, Steiner B, Vautrin S, Nussbaumer T, Slegwart G, Zamini M, Jungreithmeier F, Gratl V, Lemmens M, Mayer KFX, Berges H, Adam G, Buerstmayr H (2016) Suppressed recombination and unique candidate genes in the divergent haplotype encoding Fhb1, a major Fusarium head blight resistance locus in wheat. *Theoretical and Applied Genetics* 129: 1607-1623
- Sekhwil KM, Pingchuan L, Lam I, Wang X, Cloutier S, You FM (2015) Disease resistance gene analogs (RGAs) in Plants. *The International Journal of Molecular Sciences* 16: 19248-19290
- Smith CM, Clement SL (2012) Molecular bases of plant resistance to arthropods. *Annual Review of Entomology* 57: 309-28
- Stemmer PC (1994) Δ HK shuffling by random fragmentation and reassembly: In vitro recombination for molecular evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 91:10747-10751
- Till BJ, Colbert T, Tompa R, Enns LC, Codomo CA, Johnson JE, Reynolds SH, Henikoff JG, Greene EA, Stein MN, Comai L, Henikoff S (2003) High-throughput TILLING for functional genomics. *Plant Functional Genomics: Methods and Protocols*. Edited by: Grotewald E. Clifton, NJ, Humana Press, 205-220
- The International Wheat Genome Sequencing Consortium (IWGSC) (2014) A chromosome-based draft послідовність of the hexaploid bread wheat (*Triticum aestivum*) genome. *Science* 345, Issue 6194
- Thomas J, Fineberg N, Penner G, McCartney C, Aung T, Wise I, McCallum B (2005) Chromosome location and Mapxeps of Sm1: a gene of wheat that conditions antibiotic resistance to orange wheat blossom midge. *Molecular Breeding* 15: 183-192
- Verdaquer B, de Kochko A, Beachy RN, Fauquet C (1996) Isolation and expression in transgenic tobacco and rice plants, of the cassava vein mosaic virus (CVMV) promoter. *Plant Molecular Biology* 31:1129-1139

War AR, Paulraj MG, Ahmad T, Buhroo AA, Hussain B, Ignacimuthu S, Sharma H C (2012) Mechanisms of plant defense against insect herbivores. Plant Signalling & Behaviour 7: 1306-1320

Wise I, Lamb R, Smith M (2001) Domestication of wheats (Gramineae) and their susceptibility to herbivory by Sitodiplosis mosellana (Diptera: Cecidomyiidae). The Canadian Entomologist 133: 255-67

5 Zheng S (1965) Wheat Midge. Beijing: Agricultural Press.

<110> LIMAGRAIN EUROPE

10 <120> НУКЛЕІНОВА КИСЛОТА, ЩО КОДУЄ РЕЗИСТЕНТНІСТЬ SM1 ДО ОРАНЖЕВОЇ ЗЛАКОВОЇ ГАЛИЦІ, І СПОСІБ ЇЇ ЗАСТОСУВАННЯ

<130> B373277 D36620

<150> EP16306334.0

15 <151> 2016-10-10

<160> 37

<170> Patentin version 3.5

20

<210> 1

<211> 8139

<212> DNA

<213> Triticum aestivum

25

<400> 1

```

atgccggcag cagcggcggc gggtcagtt ttccagttc cagtttctta gcagcggcac      60
catacggatc ccacctgaca atatggcccc argatcaaat accacattga cttcatccac      120
gtcagcaaac cacctttttt tattttgacg ggaaggtata ctttattagg tcaaataacg      180
gttacgtcag caaaccacct aagtgaaccc atctaggacc atttctaacc ggacgagata      240
gataaggagg ttaagagagc agaaaaaatg atcagggggg tatgtgaacc atccattttg      300
ttcaggcttc ggggggtggt tfggtaaaat ggactttttt ttttcaggaa aaaaaaagac      360
caacgatctc ctttttctta cacaaatctc ctttctgcct cgtccaatgc tcagctttcc      420
cttcttgctc cgtcaaccga actctcccc tctccaacat ttgtaccccc accagatctt      480
gccccaaatc tcttcttctc cacaactcat gcccggaacc tctcttccct gctccaaggc      540
ccaaagcttg cagcaaggct tcgcggttgg aaatctgtga tggcttcccc aaccccaact      600
ccaatctaga tcttgctggt cttccccgag ctctgtgttac cccgccggtg acggtcgtcc      660
gtgcggtact gagctccatc ctctagcagt gcatctcggg gtggcgggtca caccaaaagc      720
ataagttaat ttgaggagcg agcgggtcac cgaggatatg aggtggtggt gggagtggtg      780
agcgtgctgg cgagcagcct ggttccgaag ctgctcacag tcttacagaa caagtggcga      840
gggtcggagg acattgaaga ggacgtctgc tccttgcatc gagaggttga catgatttat      900
gcttctagca aggatcagat ctctgcacaag gggcagccca gtgaccaaga gatcttgtct      960
ttgaaagaat tctgtgattt ggctcataac atcgaggact gcctagacca gttcattcct      1020
tgcgctgaat gcggaagggg aaaactgaag atcctggatc caagcaagtt ccgtgatgag      1080
30 atcaagagac tcaagcggga gctggatgct gcacaacagc ggagggacag acacgtcgtt      1140
    
```

gccgaatcca acgtcaacaa cagcagcagc accgctgtcg tggaggatac gggcaaaaaa 1200
 tatgaggctt gtcctgcagt gggcatcgag caagcaaagg gggagcttag ggcgttgtta 1260
 gttggcggcg aagcaagcaa gctgagggtg gtctccatcc tcggatttgg gggetccgga 1320
 aaaacagcac tcgcctggga agtgtacaaa tgccctcaag tcgccaagga atfcagttgt 1380
 cgtgcctggg cgaccatggc gtccgagcag aaacacgaca tctctggcaa ggaggcactc 1440
 ttgaaggcta tacaaaaggg gcttcttggg gaaaaaacac cggagcccgt gcaacagaca 1500
 cccctggagc tcgaaaacaa tatcagtcac cttctccgga ttaatagggt aggattaatc 1560
 ctaaactgtc actcgggaata ttcacaactt gataccgtga agaaatataa gagcgttttag 1620
 atcaccaaag tagtagtgat ctaaacactc ttatatttct ttacagatat cttatcacca 1680
 gtttagatct gcttaattgt aggattcagt ttgtatctaa gattcaaagg aatttgatag 1740
 gatttttggg tgatttagat cattaggaat tctctatgc ttgttgtttg attcatagtt 1800
 ttggaatcct taggattcat ttgtactcta tttttgggtg tacatttcca tccgttgaaa 1860
 cctctttgta gatttcattt gtttttctg tgttgtaaaa cacttttggg ccaaatttct 1920
 tcagttttat aatcctatat gagattcaag aggacatggc actccaatct tgtcattttc 1980
 ttattcccgc attttgggaa tcctaagatt aacatgtgac cgaggtcttg caagtgtcca 2040
 agtacaagta tagttgtatc atcaggtttt cactgacagt attaatatct cagttcaata 2100
 tgaaacccaa cgatcatagt ggggtggcatt gcccttaggc tatttctggg gtcgttggtc 2160
 actagttaat tccaggggga aaatctgcac atggatttac taaaaataa agaacttttc 2220
 gtatttttag agttattcat tagttatgca accagtaatt gtaaaggctg gaaaaaatgg 2280
 taacgataag caagaatttt cgtccaaata ctggacagat tagctgatca agtcattggg 2340
 tcgtatttcc agtagaatgc ttgcatacca aatatattct gaagatactt tatcctctaa 2400
 tatagagttc agtagtctga aacatttacc gatttggctg acaggtgttt aattgtaatt 2460
 gataacatca agatggagct ctggcacgca ataaaaaccta tcttcccaga tgaaacggag 2520
 agcagaatcc tagtgaccac aactgtgacc tcagtagcta atgcctgcag cttgcataac 2580
 ggttatgcgt acagtataag atctcttagt gcaaaacagt ccaaggatta tctagacaag 2640
 aagcttttct tcgatggatg ctctattggat gtggagtggg gtaccgcaat cgtgaacaaa 2700
 tgtgatggc acccacttgc tcttgttagt gttgccgaag ctttgcaagg ttgcggtgtg 2760
 gtgacaggag atcactgtga agcaataagc gagaacctgg gtttccgtat ggaggagaac 2820
 tggaatggc acttcacaaa actgcaacaa gttctaataga atgattacag cagtctgcct 2880
 gacaattctt caagaacctg ctactatac acaagtatat tcccaaatag tcgccccttc 2940

5

aacacgaaca gtcttacgag gcgattgtca gccgaagggg acatacaggg tgatgataaa 3000
 cgcagtgccc agcaggttgc atatgaccac ttggataaat tgattgaccg gaatatcatc 3060
 cggcctatcg acgcacacaa caattcaaaa gtgaagacgt gcagaacaca tggaatcatg 3120
 aatcagttaa tgttgtataa gtccaggctc tcgaatttca tttctacatc tattaatgat 3180
 aataaccgaa gtaattaccg tcacctgggt atccagaata acagaaacgg taaaagcttc 3240
 agtccagaaa caagtgtcaa gggcaagcag ctgcgtcccc ggtctctaac agtctttggg 3300
 agtgcagaag aagccgttcc agatttgaag agttgtgagc tgctgagagt gttggatctg 3360
 aaagaatgca atgatttgag ggaccaacat ctcgagcaca tatacaagct gttgcatcta 3420
 aaatatctgg ccctcgggga ttctagtagc aaatatctgg atagaatggg aaagctacat 3480
 tgtttagaga cactcgactt gaggaagagg aaaatcgaga tactgccagt ggaagtcac 3540
 agtttgcccc acctagcaca tctgttggga aagttcaagc taaacaagtt gggtaagagg 3600
 aagcttaaaag agttccggtc aaacaaatgc aacttggaaga ctgtagcagg agttattgtt 3660
 gacagcgact ctggattcct ggaattgatg gttcatttga agcaacttag aaaggccaag 3720

 atatggtgcy agctcactag cacagattgc aagaacatac tgggttcaact ttcaaaggcc 3780
 attcaaaagt ttgctaagga tggcatagat actccagtag gtgaccgtgg tcgcctatca 3840
 ctccatttca acaattattc tgaaggtctg ttgcactgtg aagatgaccc cacatttctt 3900
 ggttatctta actcgtgaa actgcaaggc agcctgagtc agttccctaa gtttgctaag 3960
 tccctcgatg gtctgcaaga actgtgcctt acatatacta atctgacggg ggctgatctt 4020
 ctactaggte tgtgtaggct acgacgcttg gtttatctca aactgatcga agtccatctt 4080
 gcggatttag acttagaaga tggggatctc ccaaaactgc aacgtctatg cctcgtgggtg 4140
 caacagecca gattccccag tatccgaaca ggcgctctgc cgaaactaac ttcaattcag 4200
 ttgctctgtg gtggctctgga agatcttggg ggcacgaaa tgggaattgtt caaggacctc 4260
 cgggaaatcg ctcttgattc tacggccaac ccaaaaacca taaagctctg ggaagatgaa 4320
 gctaagaagc accccaagag gccaacgggt atcttgctcg ataaggttgt tgctccagcc 4380
 gaagctacgg ctccggtgaa atatgtcgcc tctgcaaag cctacaacaa ttgctacgcc 4440
 5 gacgctctgg agcgggaagt gcagaggcca tgtcaagtaa caccttcgcy cgagcaatcc 4500
 ccgccacctc gctctcagcc tgatcatcaa gctcaagttc gcaatggatt aggtttgcat 4560
 atttctcatg ccaatcattg ctctgctaac atagcaaaat aatgttgcat gtttagttgt 4620
 caataacggt ctacacgttc tggataacta gaaatagtct catttctatt ttgtgtattc 4680
 cagctttgcc atcttgtttt ggagcaccag aagccggtga agccgacggc gcacgtgatg 4740
 ctggactcga tccattgcat ttgcattcgt cgtccggtga gcaggcgaac aagacagtgc 4800
 catcgatcat gcccaacggg agcaaggagg tgtgagtgac acgggggcct ggaaatctct 4860
 tttctaggte gtccagtcta tttagtttct gaataaattc cggccatgta ccagcattgg 4920

cagatgcttc tgtctggatg ctgcatggca accgggaaaa gacttactat tttctattca 4980
 tgtatcgggc accttttaaa tttcgtattt atgggttctg caccctgaat ctgtgttggg 5040
 ggataaatgt attatgtcag tcttatcaac gatttctcat aaattcactt ggatctgttt 5100
 atttcgtgcg atttttttgt ggtaggaatg cttttgttga attttctttt gaaaaaaagc 5160
 atgccgcaaa attcagaata ggggaagggg gtctttctgg gcaagtccaa gattatacgc 5220
 aagaacagag cattttccct ttttgccggg agcgggaaca gagcatgtgc tctgcttfga 5280
 gcagagccgg ggcattctc cteectttgg gctcgactaa aaggttgtgg ccagcccgg 5340
 cccgctctc ttgggttggg ccaaaaaggg cccgcccggac tcctcgggga gtatgcagcg 5400
 gcggcggcgc aggtgcttct ccaagccggc ccagtatttt gaggggtgaac ggaatggtga 5460
 ttgcaagtec acgcacccgc accgcgcgct agaatttgtt agctggttac cccctcttcc 5520
 accgaattgt agtgtaggca gcaatatata tatttgcttc ccccggtggt agtatTTTT 5580
 tttgaggata actttcaatt tattcatcgg ctgtcaaagt agtacaaga acaccagaag 5640
 taaaatatac atctagctaa cagaaaagat tagttttctg catcaaatta atcagtatag 5700
 ttctcccccg tggccaatag gctgtcaatt agcccatcca acttgcttct cgtggagcct 5760
 catgaagagg aaaagcgtgt ttttttttct tttcgcgttc aggcaaggat gtgcttccac 5820
 aagagatgct tctcgaatga gaaaaaaaaat catgcttccg tccagggcct gccctgaggg 5880
 ggtggcaggg gggcggccgc ccagggcccc cgaaatctag ggccccctc cagggttcgc 5940

 aaggagccca tggcccaaac cataaggagg cgtcgacctt gacgcacgga gaaatccctg 6000
 ttttcttct tccccttgcg agttcggcgc ttcgcgacga tcgtattccc ccgagggccc 6060
 cggtcgcgag tcgcaacgcc gatgtagatc gctctccgcc atgcggccgg ctggtcttcc 6120
 tccaggtccc cggctcccgc gtgttatccc ccgttcgtga gttttctctc atgtgcaaga 6180
 cgaaaccacc ccacttataa agtcatccct aacctctctt ttctagttgg tcagatctta 6240
 gaaggctctg catatgatgc agcagcagtc agcagtacaa aattgtagat ggtgtttaca 6300
 atagcccttt tgttcatatg gtgctaccgt acaaaattta caattgtatt gcatcatalc 6360
 5 ccccgcttgt ctaattaagt aaaggaatac actatftaca tttttcattt tttttggaa 6420
 caatagacaa taataagtta ggtaaaggaa tgaatctaaa aagaaacgag attattattt 6480
 tgatctttat agtaggggccc ccgggttgta atttcgcctt ggctcctgaa atatcaggac 6540
 cggccctgct tccgtcttag gttttcttct tccggttttt ttgtggaaaa aatttccatc 6600
 gaaacctatg aacaagggat ctagattcga aaatctctat gggaaatcga acggtgaaaa 6660
 cgcttcgcga tttagatgca cggtttaaga gataaacctt tttaaaatga tttatgtaaa 6720

ttgtttttgt aatataattta tttataatat ttggaagtat agattgaagt taaaaaagaa 6780
 gtataaacga ggttgtggtc tcccatgctt ctgggccggc ccatctcgcg cgctgcttga 6840
 tgtgaggctt ccctcgggtc cactacaagc aaggatatagc tgcgctcgag cagaacccgc 6900
 atcgcaacct atcggcctac cctcgcggga gctcctatct gccgctaact acggcaaatg 6960
 tccaaggaac gcacaggcgg gtctcccgac tgggccgggc catgtggctc tcccgttccg 7020
 gctagccaag aaactacatc gctcgcctgc aaaaaagaat gccctagcag gattcgaaca 7080
 caataccacg tcgtgcttca caagtattac tcctaccact tgagctagcg agctaggtgt 7140
 tttcacggac agcgcaaata cttagaacc aaaccaagcg cggatatgaa cgtatttcaa 7200
 atttcaacac gaaatattat tttggagaaa aagtgaattc tgtatgaaac cgcaaacact 7260
 tttcgaaatt gtgtatattt taaaaactca aacatttcaa aaaacacaaa caatttctgg 7320
 aaactgaaac aatttttaaa ctcccccaa gaaattgcaa aacattttgt acaaaaactag 7380
 aacatttttt gaatggaaaa acaattttta gttacacaaa catttttgaa aaatgggaaa 7440
 aaattgaatc tcccgaaatt ttttgagaa caccaacatt ttctgaaact cctgaacaga 7500
 gttcaatgca caaactattt ttaaaaattg cgaacaaatt ttgaaaacat gaacattact 7560
 taaaaaatca tgaacatttt ttatactcct gaacaaaaat tgtaaaccga aatgctattg 7620
 taaatttgag acaattttcg taatactgaa caaaatttga gaagttgcca aatgctgaac 7680
 aattttgtgat aaatcaaca attttaaat ttatgaacat tttccaata acataaaaag 7740
 gaaaaacaaa gaaaaaagaa cacgaaaaaa gagagaaaaat aataaacaaa caggaaaaaa 7800
 agaaaaagaa aaaatgaaaa gaaaaaacag gttcaggaac ctactaagtc ccaaaaccgg 7860
 gaacaccggc ctggaacctt ccagcaaatt attattagct agtggttggtg gtgattagat 7920
 agctaccgca gctagtggtt gttgtgatta gctagctaga atgagtttaa aaatgatgat 7980
 gtgctacact atgattatga tgattaaata actactgttg gtggtaatga ctatgatgat 8040
 gattacatag cttgtgctgg cggattagat tcaagtggag gcaacatgtg gtgcacatca 8100

5

aaaatactac tagtccaaac tagatcaagt ttggattag 8139

<210> 2

<211> 4308

10

<212> DNA

<213> Triticum aestivum

<400> 2

atgccggcag cagcggcggc gggcaagaa aaaaaaagac caacgatctc ctttttcccta 60
 cacaaatctc ctttctgcct cgccaatgc tcagctttcc cttcttgctc cgtcaaccga 120
 actctcccc tctccaacat ttgtaccccc accagatctt gcccacaaatc tcttctctc 180
 cacaactcat gcccggaaacc tctcttccct gctccaaggc ccaagcttg cagcaaggct 240
 tcgcggttg aaatctgtga tggcttcccc aaccccaact ccaatctaga tcttgctggt 300
 cttccccgag ctcgtgttac cccgcccgtg acggtcgtcc gtgcggtggt ggtgggagtg 360

15

grgagcgcctg cggcgagcag cctgggtccg aagctgctca cagtcttaca gaacaagtgg 420
 cgagggtcgg aggacattga agaggacgctc tgctccttgc atcgagaggt tgacatgatt 480
 tatgcttcta gcaaggatca gatctcgcac aaggggcagc ccagtgacca agagatcctg 540
 tctttgaaag aattctgtga tttggctcat aacatcgagg actgcctaga ccagttcatt 600
 ccttgcgctg aatgcggcaa gggaaaactg aagatcctgg atccaagcaa gttccgtgat 660
 gagatcaaga gactcaagcg ggagctggat gcggcacaac agcggagggg cagacacgctc 720
 gttgccgaat ccaacgtcaa caacagcagc agcaccgctg tcgtggagga tacgggcaaa 780
 aaatatgagg cttgtcctgc agtgggcatc gagcaagcaa agggggagct tagggcgctg 840
 ttagttygcg gcgaagcaag caagctgagg gtggtctcca tctcgggatt tgggggctcc 900
 ggaaaaacag cactcgcctg ggaagtgtac aaatgccctc aagtcgcaa ggaattcagt 960
 tgctcgtcct gggcgacctat ggcgtccgag cagaaacacg acatctctgg caaggaggca 1020
 ctcttgaagg ctatacaaaa ggggcttctt ggagaaaaaa caccggagcc cgtgcaacag 1080
 acacccttgg agctcgaaaa caatatcagt catcttctcc ggattaatag gtytttaatt 1140
 gtaattgata acatcaagat ggagctctgg caccgaataa aacctatctt cccagatgaa 1200
 accggagagca gaatcctagt gaccacaact gtgacctcag tagctaattg ctcagcctg 1260
 cataacgggt atgcttacag tataagatct cttagtgtcaa aacagtccaa ggattatcta 1320
 gacaagaagc ttttcgtcga tggatgctca ttggatgtgg agtggggtag cgcaatcgtg 1380
 aacaaatgtg atggtcaccc acttgctctt gttagtgttg ccgaagcttt gcaaggttgc 1440
 ggtgtggtga caggagatca ctgtgaagca ataagcgaga acctggggtt ccgtatggag 1500
 gagaactgga atggtcactt cacaaaactg caacaagttc taatgaatga ttacagcagt 1560
 ctgcctgaca attcttcaag aacctgctta ctatacaaa gtatatctcc aatagtcgc 1620
 ccttcaaca cgaacagtct tacgaggcga ttgtcagccg aagggtacat acagggtgat 1680
 gataaacgca gtgccagca gtttgcata gaccacttgg ataaattgat tgaccggaat 1740
 atcatccggc ctatcgagc acacaacaat tcaaaagtga agacgtgcag aacacatgga 1800
 atcatgaatc agttaatggt gtataagtcc aggtcttcca atttcattc tacatctatt 1860
 5 aatgataata accgaagtaa ttaccgtcac ctggttatcc agaataacag aaacggtaaa 1920
 agcttcagtc cagaaacaag tgtcaagggc aagcagctgc gtccccggtc tctaacagtc 1980
 tttgggagtg cagaagaagc cgtccagat ttgaagagtt gtgagctgct gagagtgttg 2040
 gatctgaaag aatgcaatga tttgaggac caacatctcg agcacatata caagctgttg 2100
 catctaaaat atctggccct cggggattct agtagcaaat atctggatag aatgggaaaag 2160
 ctacattggt tagagacact cgacttgagg aagaggaaaa tcgagatact gccagtgga 2220

gtcacacagtt tgccccacct agcacatctg ttgggaaagt tcaagctaaa caagttgggt 2280
 aagaggaagc ttaaagagtt ccggtcaaac aaatgcaact tggagactgt agcaggagtt 2340
 attgttgaca gcgactctgg attcctggaa ttgatggttc atttgaagca acttagaaaag 2400
 gtcaagatat ggtgcgagct cactagcaca gattgcaaga acatactggg ttcactttca 2460
 aaggccattc aaaagtttgc taaggatggc atagatactc cagtaggtga ccgtgggtgc 2520
 ctatcactcc atttcaacaa ttattctgaa ggtctgttgc actgtgaaga tgaccccaca 2580
 tttcttgggt atcttaactc gctgaaactg caaggcagcc tgagtcagtt ccctaagttt 2640
 gctaagtccc tcgatggctt gcaagaactg tgccctacat atactaatct gacgggggct 2700
 gatctctac taggtctgtg taggtacga cgcttggttt atctcaaact gatcgaagtc 2760
 catcttgcgg atttagactt agaagatggg gatctcccaa aactgcaacg tctatgcctc 2820
 gtgggtgcaac agcccagatt ccccagtatc cgaacaggcg ctctgccgaa actaacttca 2880
 attcagttgc tctgtgggtg tctggaagat cttgggtggca tcgaaatgga attgttcaag 2940
 gacctccggg aaatcgctct tgattctacg gtcaacccaa aaaccataaa gctctgggaa 3000
 gatgaagcta agaagcaccc caagaggcca acggttatct tgctcgataa ggttgttget 3060
 ccagccgaag ctacggcttc ggtgaaatat gtcgcctcct gcaaagccta caacaattgc 3120
 tacgccgacg ctctggagcg gaagttgcag aggtcatgtc aagtaacacc ttcgcgcgag 3180
 caatccccgc cacctcgctc tcagcctgat catcaagctc aagttcgcaa tggattagct 3240
 ttgccatctt gttttggagc accagaagcc ggtgaagccg acggcgcacg tgatgctgga 3300
 ctcgatccat tgcattttgca ttcgtcgtcc gttgagcagg cgaacaagac agtgccatcg 3360
 atcatgceca acgggagcaa ggaggtgaat gcttttgttg aattttcttt tgaaaaaaag 3420
 catgccgcaa aattcagaat aggggaaggg ggtctttctg ggcaagtcca agattatacg 3480
 caagaacaga gcattttccc tttttgcggg aagcgggaac agagcatgtg ctctgctttg 3540
 agcagagccg gggccattct cctcctcttg ggctcgacta aaaggttgtg gccagccccg 3600
 gcccgctcct cttgggttgg accaaaaggg gcccgcccga ctcatcgggg agtatgcagc 3660
 ggcggcggcg caggggggtg cagggggggc gccgcccagg gccccgaaa tctagggccc 3720
 cctccaggg ttcgcaagga gcccatggcc caaacataa ggaggcgtcg acctagacgc 3780
 acggagaaat ccctgttttc cttcttcccc ttgcgagttc gccgcttcgc gacgatcgta 3840
 ttcccccgag ggccccggtc gcgagtcgca acgccgatat tgaagttaa aaagaagtat 3900
 aaacgaggtt gtggtctccc atgcgtctgg gccggcccat ctgcgcgct gcttgatgtg 3960
 aggttccct cggctcact acaagcaagg tatagctgcg ctcgagcaga acccgcacgc 4020
 caacctatcg gcttaccctc gcgggagctc ctatctgccg ctaactacgg caaatgtcca 4080
 aggaacgcac aggcgggtct cccgactggg ccgggccatg tggctctccc gttccggcta 4140
 gccaaagaac tacatcgctc gctcgcaaaa aagaatgcc tagcaggatt cgaacacaat 4200
 accacgtcgt gcttcacaac ttgtgctggc ggattagatt caagtggagg caacatgtgg 4260
 tgcacatcaa aaatactact agtccaaact agatcaagtt tggattag 4308

5

<210> 3
 <211> 1435
 <212> PRT
 <213> Triticum aestivum

5

<400> 3

Met Pro Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gln Glu Lys Lys Arg Pro Thr Ile
 1 5 10 15

Ser Phe Phe Leu His Lys Ser Pro Phe Cys Leu Val Gln Cys Ser Ala
 20 25 30

Phe Pro Ser Cys Ser Val Asn Arg Thr Leu Pro Leu Ser Asn Ile Cys
 35 40 45

Thr Pro Thr Arg Ser Cys Pro Lys Ser Leu Leu Leu His Asn Ser Cys
 50 55 60

Pro Glu Pro Leu Phe Pro Ala Pro Arg Pro Lys Ala Cys Ser Lys Ala
 65 70 75 80

Ser Arg Leu Glu Ile Cys Asp Gly Phe Pro Asn Pro Asn Ser Asn Leu
 85 90 95

Asp Leu Ala Gly Leu Pro Arg Ala Arg Val Thr Pro Pro Val Thr Val
 100 105 110

Val Arg Ala Val Val Val Gly Val Ala Ser Ala Ala Ala Ser Ser Leu
 115 120 125

Val Pro Lys Leu Leu Thr Val Leu Gln Asn Lys Trp Arg Gly Ser Glu
 130 135 140

Asp Ile Glu Glu Asp Val Cys Ser Leu His Arg Glu Val Asp Met Ile
 145 150 155 160

Tyr Ala Ser Ser Lys Asp Gln Ile Ser His Lys Gly Gln Pro Ser Asp
 165 170 175

Gln Glu Ile Leu Ser Leu Lys Glu Phe Cys Asp Leu Ala His Asn Ile
 180 185 190

Glu Asp Cys Leu Asp Gln Phe Ile Pro Cys Ala Glu Cys Gly Lys Gly
 195 200 205

Lys Leu Lys Ile Leu Asp Pro Ser Lys Phe Arg Asp Glu Ile Lys Arg
 210 215 220

Leu Lys Arg Glu Leu Asp Ala Ala Gln Gln Arg Arg Asp Arg His Val
 225 230 235 240

10

Val Ala Glu Ser Asn Val Asn Asn Ser Ser Ser Thr Ala Val Val Glu
 245 250 255
 Asp Thr Gly Lys Lys Tyr Glu Ala Cys Pro Ala Val Gly Ile Glu Gln
 260 265 270
 Ala Lys Gly Glu Leu Arg Ala Leu Leu Val Gly Gly Glu Ala Ser Lys
 275 280 285
 Leu Arg Val Val Ser Ile Leu Gly Phe Gly Gly Ser Gly Lys Thr Ala
 290 295 300
 Leu Ala Trp Glu Val Tyr Lys Cys Pro Gln Val Ala Lys Glu Phe Ser
 305 310 315 320
 Cys Arg Ala Trp Ala Thr Met Ala Ser Glu Gln Lys His Asp Ile Ser
 325 330 335
 Gly Lys Glu Ala Leu Leu Lys Ala Ile Gln Lys Gly Leu Leu Gly Glu
 340 345 350
 Lys Thr Pro Glu Pro Val Gln Gln Thr Pro Leu Glu Leu Glu Asn Asn
 355 360 365
 Ile Ser His Leu Leu Arg Ile Asn Arg Cys Leu Ile Val Ile Asp Asn
 370 375 380
 Ile Lys Met Glu Leu Trp His Ala Ile Lys Pro Ile Phe Pro Asp Glu
 385 390 395 400
 Thr Glu Ser Arg Ile Leu Val Thr Thr Thr Val Thr Ser Val Ala Asn
 405 410 415
 Ala Cys Ser Leu His Asn Gly Tyr Ala Tyr Ser Ile Arg Ser Leu Ser
 420 425 430
 Ala Lys Gln Ser Lys Asp Tyr Leu Asp Lys Lys Leu Phe Val Asp Gly
 435 440 445
 Cys Ser Leu Asp Val Glu Trp Gly Thr Ala Ile Val Asn Lys Cys Asp
 450 455 460
 Gly His Pro Leu Ala Leu Val Ser Val Ala Glu Ala Leu Gln Gly Cys
 465 470 475 480
 Gly Val Val Thr Gly Asp His Cys Glu Ala Ile Ser Glu Asn Leu Gly
 485 490 495
 Phe Arg Met Glu Glu Asn Trp Asn Gly His Phe Thr Lys Leu Gln Gln
 500 505 510
 Val Leu Met Asn Asp Tyr Ser Ser Leu Pro Asp Asn Ser Ser Arg Thr
 515 520 525

Cys Leu Leu Tyr Thr Ser Ile Phe Pro Asn Ser Arg Pro Phe Asn Thr
 530 535 540
 Asn Ser Leu Thr Arg Arg Leu Ser Ala Glu Gly Tyr Ile Gln Gly Asp
 545 550
 Asp Lys Arg Ser Ala Gln Gln Val Ala Tyr Asp His Leu Asp Lys Leu
 565 570 575
 Ile Asp Arg Asn Ile Ile Arg Pro Ile Asp Ala His Asn Asn Ser Lys
 580 585 590
 Val Lys Thr Cys Arg Thr His Gly Ile Met Asn Gln Leu Met Leu Tyr
 595 600 605
 Lys Ser Arg Ser Ser Asn Phe Ile Ser Thr Ser Ile Asn Asp Asn Asn
 610 615 620
 Arg Ser Asn Tyr Arg His Leu Val Ile Gln Asn Asn Arg Asn Gly Lys
 625 630 635
 Ser Phe Ser Pro Glu Thr Ser Val Lys Gly Lys Gln Leu Arg Pro Arg
 645 650 655
 Ser Leu Thr Val Phe Gly Ser Ala Glu Glu Ala Val Pro Asp Leu Lys
 660 665 670
 Ser Cys Glu Leu Leu Arg Val Leu Asp Leu Lys Glu Cys Asn Asp Leu
 675 680 685
 Arg Asp Gln His Leu Glu His Ile Tyr Lys Leu Leu His Leu Lys Tyr
 690 695 700
 Leu Ala Leu Gly Asp Ser Ser Ser Lys Tyr Leu Asp Arg Met Gly Lys
 705 710 715 720
 Leu His Cys Leu Glu Thr Leu Asp Leu Arg Lys Arg Lys Ile Glu Ile
 725 730 735
 Leu Pro Val Glu Val Ile Ser Leu Pro His Leu Ala His Leu Leu Gly
 740 745 750
 Lys Phe Lys Leu Asn Lys Leu Gly Lys Arg Lys Leu Lys Glu Phe Arg
 755 760 765
 Ser Asn Lys Cys Asn Leu Glu Thr Val Ala Gly Val Ile Val Asp Ser
 770 775 780
 Asp Ser Gly Phe Leu Glu Leu Met Val His Leu Lys Gln Leu Arg Lys
 785 790 795 800
 Val Lys Ile Trp Cys Glu Leu Thr Ser Thr Asp Cys Lys Asn Ile Leu
 805 810 815

Gly Ser Leu Ser Lys Ala Ile Gln Lys Phe Ala Lys Asp Gly Ile Asp
 820 825 830
 Thr Pro Val Gly Asp Arg Gly Arg Leu Ser Leu His Phe Asn Asn Tyr
 835 840 845
 Ser Glu Gly Leu Leu His Cys Glu Asp Asp Pro Thr Phe Leu Gly Tyr
 850 855 860
 Leu Asn Ser Leu Lys Leu Gln Gly Ser Leu Ser Gln Phe Pro Lys Phe
 865 870 875 880
 Ala Lys Ser Leu Asp Gly Leu Gln Glu Leu Cys Leu Thr Tyr Thr Asn
 885 890 895
 Leu Thr Gly Ala Asp Leu Leu Leu Gly Leu Cys Arg Leu Arg Arg Leu
 900 905 910
 Val Tyr Leu Lys Leu Ile Glu Val His Leu Ala Asp Leu Asp Leu Glu
 915 920 925
 Asp Gly Asp Leu Pro Lys Leu Gln Arg Leu Cys Leu Val Val Gln Gln
 930 935 940
 Pro Arg Phe Pro Ser Ile Arg Thr Gly Ala Leu Pro Lys Leu Thr Ser
 945 950 955 960
 Ile Gln Leu Leu Cys Gly Gly Leu Glu Asp Leu Gly Gly Ile Glu Met
 965 970 975
 Glu Leu Phe Lys Asp Leu Arg Glu Ile Ala Leu Asp Ser Thr Val Asn
 980 985 990
 Pro Lys Thr Ile Lys Leu Trp Glu Asp Glu Ala Lys Lys His Pro Lys
 995 1000 1005
 Arg Pro Thr Val Ile Leu Leu Asp Lys Val Val Ala Pro Ala Glu
 1010 1015 1020
 Ala Thr Ala Ser Val Lys Tyr Val Ala Ser Cys Lys Ala Tyr Asn
 1025 1030 1035

Asn Cys Tyr Ala Asp Ala Leu Glu Arg Lys Leu Gln Arg Ser Cys
 1040 1045 1050
 Gln Val Thr Pro Ser Arg Glu Gln Ser Pro Pro Pro Arg Ser Gln
 1055 1060 1065
 Pro Asp His Gln Ala Gln Val Arg Asn Gly Leu Ala Leu Pro Ser
 1070 1075 1080
 Cys Phe Gly Ala Pro Glu Ala Gly Glu Ala Asp Gly Ala Arg Asp
 1085 1090 1095
 Ala Gly Leu Asp Pro Leu His Leu His Ser Ser Ser Val Glu Gln
 1100 1105 1110
 Ala Asn Lys Thr Val Pro Ser Ile Met Pro Asn Gly Ser Lys Glu
 1115 1120 1125
 Val Asn Ala Phe Val Glu Phe Ser Phe Glu Lys Lys His Ala Ala
 1130 1135 1140
 Lys Phe Arg Ile Gly Glu Gly Gly Leu Ser Gly Gln Val Gln Asp
 1145 1150 1155
 Tyr Thr Gln Glu Gln Ser Ile Phe Pro Phe Cys Gly Lys Arg Glu
 1160 1165 1170
 Gln Ser Met Cys Ser Ala Leu Ser Arg Ala Gly Ala Ile Leu Leu
 1175 1180 1185
 Leu Leu Gly Ser Thr Lys Arg Leu Trp Pro Ser Pro Ala Arg Ser
 1190 1195 1200
 Ser Trp Val Gly Pro Lys Gly Ala Arg Pro Thr His Arg Gly Val
 1205 1210 1215
 Cys Ser Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly Arg Gly Ala Ala Ala Gln
 1220 1225 1230

Gly Pro Arg Asn Leu Gly Pro Pro Ser Arg Val Arg Lys Glu Pro
 1235 1240 1245

Met Ala Gln Thr Ile Arg Arg Arg Arg Pro Arg Arg Thr Glu Lys
 1250 1255 1260

Ser Leu Phe Ser Phe Phe Pro Leu Arg Val Arg Arg Phe Ala Thr
 1265 1270 1275

Ile Val Phe Pro Arg Gly Pro Arg Ser Arg Val Ala Thr Pro Ile
 1280 1285 1290

Leu Lys Leu Lys Lys Lys Tyr Lys Arg Gly Cys Gly Leu Pro Cys
 1295 1300 1305

Val Trp Ala Gly Pro Ser Arg Ala Leu Leu Asp Val Arg Leu Pro
 1310 1315 1320

Ser Val Ser Leu Gln Ala Arg Tyr Ser Cys Ala Arg Ala Glu Pro
 1325 1330 1335

Ala Ser Gln Pro Ile Gly Leu Pro Ser Arg Glu Leu Leu Ser Ala
 1340 1345 1350

Ala Asn Tyr Gly Lys Cys Pro Arg Asn Ala Gln Ala Gly Leu Pro
 1355 1360 1365

Thr Gly Pro Gly His Val Ala Leu Pro Phe Arg Leu Ala Lys Lys
 1370 1375 1380

Leu His Arg Ser Leu Ala Lys Lys Asn Ala Leu Ala Gly Phe Glu
 1385 1390 1395

His Asn Thr Thr Ser Cys Phe Thr Thr Cys Ala Gly Gly Leu Asp
 1400 1405 1410

Ser Ser Gly Gly Asn Met Trp Cys Thr Ser Lys Ile Leu Leu Val
 1415 1420 1425

Gln Thr Arg Ser Ser Leu Asp
 1430 1435

5

- <210> 4
- <211> 10607
- <212> DNA
- <213> Triticum aestivum

10

- <400> 4

	atgctggatgg gctgggacacg cgcgcttgct cgtccctggc ccgcatgtca gcgacacaaa	60
	gtaaaacccc tctgcggccc ctttggcgcc atcctccccc cccaaaccct cccacatccc	120
	gcccgtccca ctcccttccc cgtccatggc cgcgcgccag ccgaactcct gctggctggc	180
	cgctgacccc ccccccccg aatggccaag aagaagaagg acaaggcgcc aaggaagccg	240
	cggtcggagt gcacgcggga ggagatcgcc aagttggacg cggaatcggg gaagaggagg	300
	ggccggaggg cggctgccaa aaccaacatc gccgcggcca agagagttgc cgagcgcgct	360
	gcgattgagg ccgcacggca caaggccgag gtcgaggaga aggaggccat cgtcagcaaa	420
	gcgcgcgccc ttctcatggc tggcatttgt cgtccgcccc gtttctctgg aagggccgct	480
	ggtccggcga gcacaaggtc gtcggtcgcc cggcctccgc actgccagtc gccgacatcg	540
	cggaccacgc ccttgctgcc cggctttcct ccaccaaggc acgacggcca gacccgtttc	600
	ggggggctgc cggatgtgag catgatcgcg ccgtccacac cacgcccc cggcgcctc	660
	gacctcaacg tcacccttgg gtccagcagc ggcggccggc cgtcggctga gatgcaaaga	720
	aagcaagcac ggctgcccgtt taccggcacc atgccgtccc cccgcgtctt gttcgatgga	780
	atgccaacac caacgatacc agtcgacgac ccctagtatg gccagttcat ggaggaagtg	840
	atctacgagg gttggcacgt ccctgtctat gatcccaggg agacccaaag tcaggatggc	900
	tggggccagt tcaactgccga tgaagaggcc aacgaccgtg ctgactacga tcatggtgac	960
	tcgtggcatg aagacgatga catttatgtc gaagggtgat gtgatgaaga agaaagaaat	1020
	gacgttgaca ttagtgttga gccattgttc atcgacgagc tgacacaaag agcggaaagca	1080
	caaaagaaga ggaagagcat tcgcacgagt tcatacacac aagatgagga caagttgatt	1140
	tgccaagctt ggatggagat tagccaagat ccaaggaccg gcgcgcaaca aaagggatt	1200
	gttttttggg cgagagtcca caaaacattc catgaaagga agttgtttga gccctaccaa	1260
	tttgaaagca accgtggcat cggctcgatt caaaagagat ggttgttcat ccaacaagag	1320
	tgcaacaagt atcaagccgc atttgagagc gttcaagcac ggcccgtgag tggctcggc	1380
	gttggggaca tggatgtctc ttcttcttg ccctttcctt gctacggcca tgagacttcg	1440
5	gccttgatca tgtttgcatg ttcacttggt gttgatcata tgttgtaggc atttcaatct	1500
	ttggaggcat tcaaggcccg gcacaatgac acgccgttca ctcttacgca ttgttgact	1560
	atgatcaaca tttgccctaa gttcaaggac caataaccgtg aactccaaag gaagagaggc	1620
	ctgaagacgg ccaagtacgc cggaggtgga gatggcgagg cgttcaagag gccgaggggc	1680
	aagaccaact ccaaggttga cgacatacgt gatgcctcat ccatggcatt gcatgacact	1740
	ttgcatgaca tgatgtcgca aaaggatgtg aggaacgaga agaagcggca aagcaatggc	1800

aagcaaatga agcaataacct agagcttcaa acgaagaagc ttgagatgga ggaggcggct 1860
aagagaagga agatcggcat ggaggaggag gtccggcaga ggcagctcga catcgaggcc 1920
atcaatgccg ccaccaaagc gaaggaggtg gccctcgcga tcatgagcgt ggacttgctg 1980
aagatgagtg agaagacgag ggcctggttc gaggccaggc agaaggagat gctcgacgcc 2040
gacggcctga actaggctcgt ccgatcggcc gtggccgttc ttttttgag gctggcatgg 2100
gtaccgcgcg cccgctgggc cgctggccat gtgccggcga gaaaaacatt tttttgaag 2160
gtcggctgtg ttgccggccg ctggctgtgt tgccgacgag gacgtccatt ctttttgag 2220
gctggctgtg ttagcggccg ctggcgtgat ggacgtgtat gtcgctggct ttgttgccgg 2280
cgtgcgtgat gaactggggc cgtagggctt ggcatttgaa atgttgcttt ttttaata 2340
gacgcggaca tggggctgga cgcacggcca ccgcatctca gaccaggccc ggacacgacc 2400
ccatctcctg accaaacgga cagaatccgg acaaatcgaa catccgggtc gcgcggtgga 2460
gttggcctta gggccgcgta agaggcgttc aacgtactac taaacgtcca caaaaaaaaa 2520
cgtactacta aacgtctacc agcggactcg acacctcgta tatgttgggc agtgcgagga 2580
gaacaaagaa gacgttgacg cgttgacgct gctcaagggc gcagctgagg gcgctgcaga 2640
gttcaagcgc gcggcgcggc gcagatctct accgtcgggc aggaggagaa gcccgaggaa 2700
ccaatgaagc ctgagcccga cccgggcgtc gccgtctggc agcccgacgg cgacgggtga 2760
ggatttttcg tgtttcctcc ctctccgct cggggatttg gccttcttgt tagttacttt 2820
gggtgctcgt cttgtgtttc tgttgacagag agatcgacat ggatctgctg cctccgatta 2880
gcgcgtctct gggcgcctat gcctcccttt cggggaagct ggatgcgctc caggataccg 2940
aactcaagga tgagatccgg aaacttggat cccggtgct gaagctctcc gagccacatg 3000
aaccctcgtc tgcggcgagg atctggatga atgaggcgcg cgaactatcc tatgacatgg 3060
taaactgtgt cgacgcggat gcagactgga tcgacaagat gtcaagaata ttcaagccac 3120
gcgtgaagga ggccaatggg cggtagcaca gatacaagct tgagagcgtc cccagccgtg 3180
cagctgtctt agcgatccca atggtggtcg gcgacgcccg ccggaagcca gatctactcg 3240
tcggccttca cgccaatggg ggcgcttcg aaacgctccg caaaaatctg attgaccggg 3300
acgagcagct caaggcgtc ttcgttgttg gtgttgagg aatcggcaag accacgcttg 3360
5 ccaaagagct atggcgtgag cacaaacccg ggcaccact ctgctgccgg gctttcgtgc 3420
ggaccgcaa gaaacctgac atgaggagga tctgaggag catactcgca caagttcgtc 3480
cggatcaacc acccgtcgt aatgaggtgc acgagctcat tcacgacctc accgagcctc 3540
taaaggataa aaggtaactg agctgttgag cacctttctt ctttaataata tatatatgat 3600
atgtacgctc ttgcatattc aagaaaaaaaa tgtacttgag aaatgtatat agaactttca 3660

tcattctgat aagactactt gaatagcgag tggtttttct acaccacgc tagatgcagc 3720
 ctttcttaa ttcattataa ggtgttttaa tcttgaacaa tgaagtatct tctaaatccc 3780
 tgcaaacaaa ttattttcta agtgtttata ttggtacacc attttactc aaataaggtt 3840
 ttggtgggtc ttactgtcac accaactgca aacagaataa cttgcctctg acaatagaaa 3900
 tgcactcagc caaaagactt acaaagttca ttctgcaaca tagcagtcta agtgtggagg 3960
 agaaaattac taggggtggag aagtgacaat ctatagtctg caccttgata aaaaaagtat 4020
 atttcccaca aaataagagt agaaagtaca atatgcaaaa acggcatttt cctcttgtga 4080
 aaacagagtg gtcttcttgt gaaaacagag tctgtctact ttgtgggtgt gtcttcaatg 4140
 ccctagtgac acaacagtgac attgattttt ctatgtgttt ttcttcttt gctgacttgt 4200
 gtgtggatgg tctcgtgatc ttctgttctt gaccgtccca tcctctttag ctgtcgagga 4260
 ttggtgactc actagggcct aggggtgtgcc atggcgtgcc tcctgagagg gagatgtgcg 4320
 tacttgtctt agcatcagtc caattagcac ttctatgtca aaccgagact tttctcgtgc 4380
 tacgtgtggt cggcacggca gggtcggagc agcggaggcg tgcgcagcca tctctctct 4440
 aacgcgcggc cggagaataa ccacacacgg aggctggctg tctcggccgg cgcgccgttg 4500
 cggagaagga gtggacctcc gtctctcgcg gcccgggccc aagcctcgac gacggagcgg 4560
 atgtgctgcg gtcgcggctc gggagcgcca tcgccgctcg atctgggtag caagagaagg 4620
 tgagggcgcg gcggcgtggg gagaagaagg cggagggaga cggcgtcggc ggtgggagag 4680
 aaggtgaggg gagcggcggc gtttgcagac gaggtcggcg gtgggagaga aggtgagggg 4740
 agcggcggcg gcgggtgtga gtcgggagag gaggagagcg ggcgagggtt gggtttgtgt 4800
 tcgttttttc ttttttttc ctttttgtga gctgggctcg gtgaattatc tccctcctc 4860
 cctctctcct ttttttctct ttttcatttt gaaatctagt agcgggagca attaaggcct 4920
 caacattatt tcgagcgcac taaaataaat attttggcgg gagctttcag gttgattggt 4980
 tgggcagcgc accgtctcaa aattcaagga cggccttgat atatgatccg aaattcatgg 5040
 ctattagaaa actaaaaaca aattagcagt taactgacct ttgattggc tattegtgct 5100
 acgtggcata agccagcggg cggccagcgt ttcgttgata atgggtttga tggtttcaga 5160
 gctgatacc atgatgacac tcctaattag ttgcactcag caatctgtga agcaacaata 5220
 agccagttaa taggatgttg gacaatctct tttccttctt tattecatgg cacgtatcca 5280
 5 ttaattttgc cttttatttg catgaaagtg ttatgggtat gcaaggggtg cactgacctg 5340
 atgtgtaagg ttaggtactc gaacttatga gtgtagcact gaaataactg tgtgcttgtt 5400
 ttaggagtat ttgtggtatt ccattfacat ttaattatac tatatacttt gtttatcagg 5460
 tacttcatta taattgatga cttatgggat acatcagtat gggatgttgc agcccgtgct 5520
 tccccaaagg gtaaccaagg cagcaggata gtaacaacaa cggaaattga ggatgttgc 5580
 cttgcatggt gttatcagtc aaagtacgtg ctttaagatgg aacatcttag cgagagtcac 5640

tcaagagagt tgttcaccag tgcagtgttt cgctctggag aacaacactc tcaccacgta 5700
 ggtgaagtgc cagatgagat tataagaaga tgtgctggtt taccacaggc aattatcagc 5760
 atatccagtg ttctagcaag ccatggagaa gcaaatacag taaagaactg ggagcaaata 5820
 caaacacagtt tgccaacaaa tacaacttct gacgagatac tgaaagaagt actgattttt 5880

 tgctataata gtcttcccag ttgtgttcag acatgtctgt tgcattcttag tatatacccg 5940
 gagaactatg ttatcttgaa ggaagatata acgaagcaat gggttgctga aggtctcatc 6000
 agtgcaccaa cagagaaaaga aaaaatggaa attgccagga gctattttga tatgcttgtc 6060
 agtatgggca tgatccaaca tatagacgta gactatggca atgatgtttt gtactatgcg 6120
 gtgcatcaca tggtagatga tatcattaca tccaagtcca tagaagagaa ttttgttaaa 6180
 gtaatagatt attctcaaag ggcggtacgg ttttctaaca aggttagtgc tctgtccctc 6240
 cagtttggcg gtgcaacata tgcaactaca ccagcacgta tcgaactgtc gcaagtgcga 6300
 tctcttgcct atactggact gaagagctgc ttgccttcca tctcagagtt taagcttctc 6360
 egggtactga ttctccatat ttgggctgat caaccaagca catgtgtcac tcgcaaaaaa 6420
 aagaaccaag cacaggtgtc cacctcgagt gtatctctcg attgcttcta ttaatatatt 6480
 tgcaggtgac atgcaacggc accgtgcate ttccaaaaca gatgcatgtt ctgaaacact 6540
 tggaaacact tgaaataaat gcaacagtag cagccattcc atcggatatt gttcatcttc 6600
 ggagcttgtt gcatctccgt ctaggagggtg ggacagaact gcctgatgtg acaggtgtcc 6660
 tcacaaatgt taccctgaat ctctctagtg ctgccacttt attggatgat tcgagcagtt 6720
 5 ctccccgattc actgaacaca atggagctat tgccacccat ttgcagaate cccaactgga 6780
 ttggacagct tactgacctc tgcattctga aagtgtcgt cagagaactg ctaagggatg 6840
 atatcagtaa cctggaaaga ttgccagcac tcactgttct ctcttgtac gtccagcaaa 6900
 gaaatacaga actaatcatt ttcgaagccg gagcatttct tgctctcgag tgttttgagt 6960
 tcaggtgtgg tgaactgcag ctgatgttct aggaaggagc aatgcccaat ctccacagaa 7020
 tcaagctagg tttcaatgct cacaaaggag aacagtatga tcgtcttctt agcggcattg 7080
 agaacctgtc tgacgtccag gaaatttctg gaataattgg ggcagccccct ggtgccgatg 7140
 agcatgactt tcaggtctga gaatctgcat tcatgaaagc tgttagcaag ctctctagta 7200
 aagtcagtgt aaaaagagca gatatggttg aggaagaggg tggcctggca gaaaaacagg 7260
 atgtgatccg agagaaagat gcatcaagac atgtaataag tgaacagcct gcaattctga 7320
 aacaagagtc tgaggaagat ataaagcaaa atgctgggtg cagtttgcct agcggcatta 7380
 agaacctgtc aaacgtccag gaaatttctg gaataactgg ggtagccaca ggtgctgagg 7440
 aacatgaaat tcaggtctga gaatctgcat tgatgaaatc cgtcagtgag caacctagta 7500
 aggtcactat aaaaggagca gatatggttg agcaagggtg tggccggca gacaaacaac 7560
 atgtgagccg agagaaagat gtatcaagcc atttaagaag tgaacaacct gcaattgtga 7620
 aacaagagtc cgggtggcaac tctcagttca ttcaatggta cggttctttg tctgttatg 7680

tccattatntt cacactttct ctttctttgg tgaacttcca ttacactctt ctgcctcaca 7740
cagtaatagc taaacatagg tcatcaccaa ctttgaactt tattttgcac tgacgttgca 7800
ctcttttaaa tgggtgtgat ttgtgcaaag ctccattgct caagtaacag aggtcaagga 7860
gaagaacgaa taaattggtc atatatgttt aaagcttgct ctgatgtaa aaatatatcc 7920
ataaaatntc gcaaattgtg aacatcctta ttttcttagc aggagaagca atagcaagga 7980
aacttcaaac gtggtgcaag gtttgtcagg gaaccgagaa cttcgtggcg gtgctgttgg 8040
agaagttaac aaggataggt tttgttttgt aagggaaacat ggtacgattt aagacataca 8100
tagtacttac atactttctga aaccatcgtc caagteccat gatttcaaat gtgcatgatt 8160
atctaacacc atatttgatc atgttttttg caagttttac ttcttggata tatgcacaga 8220
tgtgacaatc caaatgtact agtagtacat aactttgaaa atatcagcca aattcagtga 8280
tttcagggta ttagatcaca tacactgaaa tcagtgtatg ctgcatacct aaattcagga 8340
caggttatcc aaaactaacc caaaattctt ttttaactttt tgtgattttt ttcatacgtc 8400
tgtgtgacat tttgattttt atgactaggt aaagaaacta atgttgacaa aaagccaggc 8460
ttgcttttaa tttccgtatt tgatttttaa atcatggagc tagctatcat agattccaca 8520
tttaccaggg agctagctgg agagccaaaa agtggattaa gaatgatcat tgtggatggt 8580
gaacatatte tctcctctta ggtgaaatat tttctctctt ttctcaggaa gaagaacgtc 8640
agaatagcct ggcgagaggc aaaagcagca tggatattaa actcgtggag atcgaagcca 8700
tcacaaaaca ttttgcagag gaacagaaaag tcggcagcgg tgggtacgga gatgtitaca 8760
gggtatgttc ttttactact gatcattgta ttttctgtct gtattttctca catttacaat 8820
caagatctgt actatgacaa gtcgtcgtt ttatcaggcc actcacaag gagaggaagt 8880
tgccgtgaag aagctccatc aactgcaggg actcgtatgat aagcaattcg acagcgagtt 8940
5 ccgtaacctt cgtaatatac gccaccaaaa tgttgtgctg ctaattggct actgccacga 9000
gtctcgcaag aaatacatgg agcacaaggg ggagctcatc ttcgccaag agatggagcg 9060
cgtgctctgc ttcgaatata tgcacggcgg aagcctcgat aaacatatta caggtcatta 9120
actctcttct gtgacctgca tccaagatat atgaatgatt cagcatcata tatctgacaa 9180
atagctgct gtgtttactt gtaattgcag atgaatcttg tgagcttgat tggccgacgt 9240
gttacaaaat catcaaaggg acttgtgagg gcttaaatca cttcacacc tcgcagggga 9300
agcctatntt acatctagac ataaaaccag ccaacatatt gctggataag agcatgacgc 9360
ctaaaatcgc cgatcttggg ttgtccaaac ttgtttcttc gacattaaca cataaaacag 9420
agattgtcaa agggacacag taagttgatg catagtttag gcttgcttcg ttcttgtatg 9480
acttgaaact gagcctttgt ttctcttgca ataaccatat ctattatget tttgatgata 9540
tcttgcagag ggtacatgcc gccagagtat gtagacaatg gccagatate gaacaagttt 9600
gacgtgttta gttttggcgt agtaattata aaaatgatgg ccggtaacgt gggctacttc 9660

cgttgtgctg aaatgtctca caaagagttt attgagctgg taagaaaaat accccctgtt 9720
 gattccatga atatataatt atacatacat ctccagcctct ctctttttgg ggggtgtctct 9780
 tccaagtgtt agtataactct aggaagcttt atgcgccaac tttgcatgta gytaactaaa 9840
 aactgggtga aaagggttgct gacagagcct ggatattcct cgcacgaaac cgacatgcta 9900
 ggagtcacta gatgtgttga aattgcatta agatgtgtgg acaaggaccg aaacaaaagg 9960
 cccctgtatta aggatgttgt ccatgagctg gaggaactag aagctgagat caagaaaatg 10020
 tccctatctt ccgaccagtc aaaaggccta agtctgcagg caagcatcct tgtcactctt 10080
 tgtactaggt tttgcaactc tctgtttttt cacagtagca ttcagccctg acaaaacttct 10140
 gtcaaatttg tatcaacgta gcgatgtttg tacgaccgga tgcagtaact gacgccttat 10200
 tttcttttca gagaagctgt gacaccaaca ttctctcggg ggatccgacc ctctgagctgc 10260

 ggttcgtctt tgagccaagg aaggagacgt cgtgctgtct gcagatgacc aacaagacgg 10320
 gtggcttcat cgcattcaac atattgatga acaagaacaa gtatagtgtg cggccaagcc 10380
 aagggaccat gccaccgtgc tccaggcgtt atgtttgtcgt gacactgtca gcgcaagagg 10440
 cggcgccgcc atacatgcgg tgtgacgaca tgtctctagt gcagagcacc agcatcacc 10500
 aagatcttgg tgagatcaat tatcaagaat tgttcgacgt ggccagggcg gataaggtgg 10560
 ttgatgtggt gcatctgcca atcgcatatg tcacgttaga agagtag 10607

5

<210> 5
 <211> 6912
 <212> DNA
 <213> Triticum aestivum

10

<400> 5

atgcggatgg gcgggacacg cgcgcttgtc cgtccctggc ccgcatgtca gcgacacaaa 60
 gtaaaacccc tctgcggccc ctttggcgcc atcctcccc cccaaacctt cccacatccc 120
 gcccgtccca ctcccttccc cgtccatggc cgacgcccag ccgaactcct gcgggctggc 180
 cgtcgacccc cccccccccg aatggccaag aagaagaagg acaaggcgcc aaggaagccg 240
 cggtcggagt gcacgccgga ggagatcgcc aagttggacg cggaatcggg gaagaggagg 300
 ggccggaggg cggtcgcca aaccaacatc gccgcggcca agagagtgtc cgagcgcgct 360
 gcgattgagg ccgcacggca caaggccgag gtcgaggaga aggaggccat cgtcagcaaa 420
 gcgcgcgccc ttctcatggc tggcatttgt cgtccgcccg gtttctctgg aagggccgtc 480
 ggtccggcga gcacaaggtc gtcggtcgcc cggcctccgc actgccagtc gccgacatcg 540
 cggaccaegc ccttgtcgcc cggctttcct ccaccaaggg acgacggcca gacctgtttc 600
 ggggggtcgc cggatgtgag catgatcgcg ccgtccacac cacgcccctc ggccgtcctc 660

gacctcaacg tcaccttgg gtccagcagc ggcggccggc cgtcggtcga gatgcaaaga 720
 aagcaagcac ggctgccgtt taccggcacc atgccgtccc cccgcgtctt gttc gatgga 780
 atgccaacac caacgatacc agtcgacgac ccctatcagg atggctgcgg ccagttcact 840
 gccgatgaag aggccaacga ccgtgctgac tacgatcatg gtgactcgtg gcatgaagac 900
 gatgacattt atgtcgaagg tgatggtgat gaagaagaaa gaaatgacgt tgacattagt 960
 gttgagccat tgttcatcga cgagctgaca caaagagcgg aagcacaanaa gaagaggaag 1020
 agcattcgca cgagttcata cacacaagat gaggacaagt tgatttgcca agcttgatg 1080
 gagattagcc aagatccaag gaccggcgcg caacaaaagg gtattgtttt ttggacgaga 1140
 gtccacanaa cattccatga aaggaagttg tttgagccct accaatttga aagcaaccgt 1200
 ggcacggct cgattcaaaa gagatggtt ttcattcaac aagagtcaa caagtatcaa 1260
 gccgcatttg agagcgttca agcacggccc gtgagtgtc tcggcgttg ggacatggca 1320
 tttcaatctt tggaggcatt caaggcccg cacaatgaca cggcgtcac tcttacgat 1380
 tgttgacta tgatcaacat ttgccctaag ttcaaggacc aataccgtga actccaaagg 1440
 aagagaggcc tgaagacggc caagtacgcc ggaggtggag atggcgaggc gttcaagagg 1500
 ccgaggggca agaccaactc caaggttgac gacatacgtg atgcctcacc catggcattg 1560
 catgacactt tgcattgacat gatgtcga aaggatgtga ggaacgagaa gaagcggcaa 1620

 agcaatggca agcaaatgaa gcaataccta gagcttcaaa cgaagaagct tgagatggag 1680
 gaggcggcta agagaaggaa gatcggcatg gaggaggagg tccggcagag gcagctcgac 1740
 atcgaggcca tcaatgccgc caccnaagcg aaggaggtg ccctcgcgat catgagcgtg 1800
 gacttgctga agatgagtga gaagacgagg gcctggctg catgggtacc gcgcggcgc 1860
 tgggcccgtg gccatgtgcc ggcgaganaa acatttattt tgaaggctcg ctgtgttgc 1920
 5 gggcggctggc tgtgttgcg acgaggacgt ccattcattt tggaggctgg ctgtgttagc 1980
 gggcggctggc gtgatggacg tgtatgtcgc tggctttgtt gccggcacgc ggacatgggg 2040
 ctggacgcac ggccaccgca tctcagacca gggccggaca cgacccacc tctgaccaa 2100
 acggacagaa tccggacanaa tcgaacatcc gggctcgcgc gtggagttgg ccttaggcc 2160
 gcagttcaag cgcgcggcgc ggcgcagacc tctaccgtc ggcaggagga gaagcccag 2220
 gaaccaatga agcctgagcc cgacccgggc gtcgccgtct ggcagcccga cggcgacgga 2280
 gagatcgaca tggatctgct gcctccgatt agcgcgtctc tgggcgcat ggcctccct 2340
 tccgggaagc tggatgcgct ccaggatacc gaactcaagg atgagatccg gaaacttgg 2400
 tcccggctgc tgaagctctc cgagccacat gaaccccgtc atgcggcgag gatctggatg 2460
 aatgaggcgc gcgaactatc ctatgacatg gtaaactgtg tcgacgcgga tgcagactgg 2520
 atcgacaaga tgtcaagaat attcaagcca cgcgtgaagg aggccaatgg gcggtaccac 2580
 agatacaagc ttgagagcgt ccccagccgt gcagctgtct tagcgatccc aatggtggtc 2640
 ggcgacgccg gccggaagcc agatctactc gtcggccttc acgccaatgg tggcgcttc 2700

gaaacgctcc gcaaaaaatct gattgaccgg gacgagcagc tcaaggcgct attcgttggt 2760
 ggtgttggag gaatcggcaa gaccacgctt gccaaagagc tatggcgtga gcacaaaccc 2820
 gggcaccact tctgctgccg ggctttegtg cggaccgcca agaaacctga catgaggagg 2880
 atcctgagga gcatactcgc acaagttcgt cgggatcaac cacccgtcgc taatgagggtg 2940
 cacgagctca ttcacgacct caccgagcat ctaaaggata aaagggtcgg agcagcggag 3000
 gcgtgcgcag ccattctctt cctaacgcgc ggccggagaa taaccacaca cggaggctgg 3060
 tcgtctcggc cggcgcgccg ttgcggagaa ggagtggacc tccgtctctc gcggcccggg 3120
 ccgaagcctc gacgacggag cggatgtgct gcggtcgcgg tccgggagcg ccctcggcgc 3180
 tcgatctggg tagcaagaga aggtgagggc gcggcggcgt ggggagaaga aggcggaggg 3240
 agacggcgtc gccgggtggga gagaaggtac ttcattataa ttgatgactt atgggataca 3300
 tcagtatggg atgttgcagc ccgtgctttc ccaaagggta accaaggcag caggatagta 3360
 acaacaacgg aaattgagga tgttgctctt gcattgtgtt atcagtcaaa gtacgtgctt 3420
 aagatggaac atcttagcga gagtcaactca agagagttgt tcaccagtgc agtgtttcgc 3480
 tctggagaac aacactctca ccacgtaggt gaagtgcag atgagattat aagaagatgt 3540
 gctggtttac cacaggcaat tatcagcata tccagtgttc tagcaagcca tggagaagca 3600
 aatacagtaa agaactggga gcaaatataa aacagtttgc caacaaatac aacttctgac 3660
 gagatactga aagaagtact gatTTTTTgc tataatagtc tccccagttg tgttcagaca 3720
 tgtctgttgc atcttagtat ataccggag aactatgta tcttgaagga agatataacg 3780

 aagcaatggg ttgctgaagg tctcatcagt gcaccaacag agaaagaaaa aatggaaatt 3840
 gccaggagct attttgatat gcttgcagt atgggcatga tccaacatat agacgtagac 3900
 tatggcaatg atgttttga ctatgcggtg catcacatgg tacatgatat cattacatcc 3960
 aagtccatag aagagaatTT tgTTaaagta atagattatt ctcaaagggc ggtacggttt 4020
 tctaacaagg ttagtcgtct gtccctccag tttggcggtg caacatatgc aactacacca 4080
 gcacgtatcg aactgtcga agtgcgatct cttgcttata ctggactgaa gagctgcttg 4140
 ccttccatct cagagtttaa gcttctccgg gtactgattc tccatatttg ggctgatcaa 4200
 ccaagcacat gtgtcaactcg caaaaaaaaaag aaccaagcac aggtgacatg caacggcacc 4260
 gtgcatcttc caaaacagat gcgatgtctg aaacacttgg aaacacttga aataaatgca 4320
 acagtagcag ccattccatc ggatattggt catcttcgga gcttgttgca tctccgtcta 4380
 ggaggtggga cagaactgcc tgatgtgaca ggtgtcctca caaatgttac cctgaatctt 4440
 cctagtgtcg ccactttatt ggatgattcg agcagttctc ccgattcaet gaacacaatg 4500

5

gagctattgc	cacccatttg	cagaatcccc	aactggattg	gacagcttac	tgacctctgc	4560
attctgaaag	ttgtcgtcag	agaactgcta	agggatgata	tcagtaacct	ggaaagattg	4620
ccagcactca	ctgttctctc	cttgtacgtc	cagcaaagaa	atacagaact	aatcattttc	4680
gaagccggag	cattttctgc	tctcagtggt	tttgagttca	ggtgtggtga	actgcagctg	4740
atgtttcagg	aaggagcaat	gcccattctt	cacagaatca	agctagggtt	caatgctcac	4800
aaaggagaac	agtatgatcg	tcttcttagc	ggcattgaga	acctgtctga	cgtccaggaa	4860
atttctggaa	taattggggc	agccctgggt	gccgatgagc	atgactttca	ggctgcagaa	4920
tctgcattca	tgaaagctgt	tagcaagctc	tctagtaaag	tcagtgtaaa	aagagcagat	4980
atggttgagg	aagaggggtg	cctggcagaa	aacaggatg	tgatccgaga	gaaagatgca	5040
tcaagacatg	taataagtga	acagcctgca	attctgaaac	aagagtctga	ggaagatata	5100
aagcaaaatg	ctggtggcag	tttgcctagc	ggcattaaga	acctgtcaaa	cgtccaggaa	5160
atttctggaa	taactggggg	agccacaggt	gctgaggaac	atgaaatica	ggctgcagaa	5220
tctgcattga	tgaaatccgt	cagtgagcaa	cctagtaagg	tcactataaa	aggagcagat	5280
atggttgagc	aagggatggt	tccggcagac	aaacaacatg	tgagccgaga	gaaagatgta	5340
tcaagccatt	taagaagtga	acaacctgca	attgtgaaac	aagagtccgg	tggcaactct	5400
cagttcattc	aatggagaag	caatagcaag	gaaacttcaa	acgtgggtgca	aggtttgtca	5460
gggaaccgag	aacttctgtg	cggtgctggt	ggagaagtta	acaaggaaga	agaacgtcag	5520
aatagcctgg	cgagaggcaa	aagcagcatg	gatattaaac	tcgtggagat	cgaagccatc	5580
acaacaatt	ttgcagagga	acagaaagtc	ggcagcgggt	ggtacggaga	tgtttacagg	5640
gccactcaca	aaggagagga	agttgccgtg	aagaagctcc	atcaactgca	gggactcgat	5700
gataagcaat	tcgacagcga	gttccgtaac	cttcgtaata	tacgccacca	aaatgtttgt	5760
cggctaattg	gctactgcca	cgagtctcgc	aagaaataca	tggagcacia	gggggagctc	5820
atcttcgcca	aagagatgga	gcgcgtgctc	tgcttcgaat	atatgcacgg	cggaaagcctc	5880
gataaacata	ttacagatga	atcttgtgag	cttgattggc	cgacgtgtta	caaaatcatc	5940
aaagggactt	gtgagggcct	aaatcacctt	cacacctcgc	aggggaagcc	tattttacat	6000
ctagacataa	aaccagccaa	catattgctg	gataagagca	tgacgcctaa	aatcgcctgat	6060
cttggttttg	ccaaacttgt	ttcttcgaca	ttaacacata	aaacagagat	tgtcaaaggg	6120
acacaagggg	acatgccgcc	agagtatgta	gacaatggcc	agatatcgaa	caagtttgac	6180
gtgttttagtt	ttggcgtagt	aattataaaa	atgatggccg	gtaacgtggg	ctacttccgt	6240
tgtgtgaaa	tgtctcacia	agagtttatt	gagctggtaa	ctaaaaactg	ggtgaaaagg	6300
ttgctgacag	agcctggata	ttcctcgcac	gaaaccgaca	tgctaggagt	cactagaigt	6360
gttgaaattg	cattaagatg	tgtggacaag	gaccgaaaca	aaaggccctg	tattaaggat	6420

5

gttgccatg agctggagga actagaagct gagatcaaga aaatgtccct atcttccgac 6480
 cagtcaaaag gcctaagtct gcaggcaagc atccttagaa gctgtgacac caacattctc 6540
 tcggtggatc cgaccctcga gctgcggttc gtctttgagc caaggaagga gacgtcgtgc 6600
 tgtctgcaga tgaccaacaa gacgggtggc ttcatcgcac tcaacatatt gatgaacaag 6660
 aacaagtata gtgtgcggcc aagccaaggg accatgccac cgtgctccag gcgttatggt 6720
 gtcgtgacac tgtcagcgca agaggcggcg ccgccataca tgcggtgtga cgacatgctc 6780
 ctagtgcaga gcaccagcat cacccaagat cttggtgaga tcaattatca agaattgttc 6840
 gacgtggcca gggcggataa ggtggttgat gtgggtgcac tgccaatcgc atatgtcacg 6900
 ttagaagagt ag 6912

5 <210> 6
 <211> 2303
 <212> PRT
 <213> Triticum aestivum

<400> 6

Met Arg Met Gly Gly Thr Arg Ala Leu Val Arg Pro Trp Pro Ala Cys
 1 5 10 15

Gln Arg His Lys Val Lys Pro Leu Cys Gly Pro Phe Gly Ala Ile Leu
 20 25 30

Pro Pro Gln Thr Leu Pro His Pro Ala Arg Pro Thr Pro Phe Pro Val
 35 40 45

His Gly Arg Arg Pro Ala Glu Leu Leu Arg Ala Gly Arg Arg Pro Pro
 50 55 60

Pro Pro Arg Met Ala Lys Lys Lys Lys Asp Lys Ala Pro Arg Lys Pro
 65 70 75 80

Arg Ser Glu Cys Thr Pro Glu Glu Ile Ala Lys Leu Asp Ala Glu Ser
 85 90 95

Val Lys Arg Arg Gly Arg Arg Ala Val Ala Lys Thr Asn Ile Ala Ala
 100 105 110

Ala Lys Arg Val Ala Glu Arg Ala Ala Ile Glu Ala Ala Arg His Lys
 115 120 125

10

Ala Glu Val Glu Glu Lys Glu Ala Ile Val Ser Lys Ala Arg Ala Leu
130 135 140

Leu Met Ala Gly Ile Cys Arg Pro Pro Gly Phe Ser Gly Arg Ala Val
145 150 155 160

Gly Pro Ala Ser Thr Arg Ser Ser Val Ala Arg Pro Pro His Cys Gln
165 170 175

Ser Pro Thr Ser Arg Thr Thr Pro Leu Ser Pro Gly Phe Pro Pro Pro
180 185 190

Arg His Asp Gly Gln Thr Arg Phe Gly Gly Ser Pro Asp Val Ser Met
195 200 205

Ile Ala Pro Ser Thr Pro Arg Pro Ser Ala Val Ile Asp Leu Asn Val
210 215 220

Thr Leu Gly Ser Ser Ser Gly Gly Arg Pro Ser Val Glu Met Gln Arg
225 230 235 240

Lys Gln Ala Arg Leu Pro Phe Thr Gly Thr Met Pro Ser Pro Arg Val
245 250 255

Leu Phe Asp Gly Met Pro Thr Pro Thr Ile Pro Val Asp Asp Pro Tyr
260 265 270

Gln Asp Gly Cys Gly Gln Phe Thr Ala Asp Glu Glu Ala Asn Asp Arg
275 280 285

Ala Asp Tyr Asp His Gly Asp Ser Trp His Glu Asp Asp Asp Ile Tyr
290 295 300

Val Glu Gly Asp Gly Asp Glu Glu Glu Arg Asn Asp Val Asp Ile Ser
305 310 315 320

Val Glu Pro Leu Phe Ile Asp Glu Leu Thr Gln Arg Ala Glu Ala Gln
325 330 335

Lys Lys Arg Lys Ser Ile Arg Thr Ser Ser Tyr Thr Gln Asp Glu Asp
340 345 350

Lys Leu Ile Cys Gln Ala Trp Met Glu Ile Ser Gln Asp Pro Arg Thr
355 360 365

Gly Ala Gln Gln Lys Gly Ile Val Phe Trp Thr Arg Val His Lys Thr
370 375 380

Phe His Glu Arg Lys Leu Phe Glu Pro Tyr Gln Phe Glu Ser Asn Arg
 385 390 395 400

Gly Ile Gly Ser Ile Gln Lys Arg Trp Leu Phe Ile Gln Gln Glu Cys
 405 410 415

Asn Lys Tyr Gln Ala Ala Phe Glu Ser Val Gln Ala Arg Pro Val Ser

420

425

430

Gly Leu Gly Val Gly Asp Met Ala Phe Gln Ser Leu Glu Ala Phe Lys
 435 440 445

Ala Arg His Asn Asp Thr Pro Phe Thr Leu Thr His Cys Trp Thr Met
 450 455 460

Ile Asn Ile Cys Pro Lys Phe Lys Asp Gln Tyr Arg Glu Leu Gln Arg
 465 470 475 480

Lys Arg Gly Leu Lys Thr Ala Lys Tyr Ala Gly Gly Gly Asp Gly Glu
 485 490 495

Ala Phe Lys Arg Pro Arg Gly Lys Thr Asn Ser Lys Val Asp Asp Ile
 500 505 510

Arg Asp Ala Ser Ser Met Ala Leu His Asp Thr Leu His Asp Met Met
 515 520 525

Ser Gln Lys Asp Val Arg Asn Glu Lys Lys Arg Gln Ser Asn Gly Lys
 530 535 540

Gln Met Lys Gln Tyr Leu Glu Leu Gln Thr Lys Lys Leu Glu Met Glu
 545 550 555 560

Glu Ala Ala Lys Arg Arg Lys Ile Gly Met Glu Glu Glu Val Arg Gln
 565 570 575

Arg Gln Leu Asp Ile Glu Ala Ile Asn Ala Ala Thr Lys Ala Lys Glu
 580 585 590

Val Ala Leu Ala Ile Met Ser Val Asp Leu Ser Lys Met Ser Glu Lys
 595 600 605

Thr Arg Ala Trp Leu Ala Trp Val Pro Arg Ala Arg Trp Ala Ala Gly
 610 615 620

His Val Pro Ala Arg Lys Thr Phe Ile Leu Lys Val Gly Cys Val Ala
 625 630 635 640

Gly Arg Trp Leu Cys Arg Arg Gly Arg Pro Phe Ile Leu Glu Ala
 645 650 655
 Gly Cys Val Ser Gly Arg Trp Arg Asp Gly Arg Val Cys Arg Trp Leu
 660 665 670
 Cys Cys Arg His Ala Asp Met Gly Leu Asp Ala Arg Pro Pro His Leu
 675 680 685
 Arg Pro Gly Pro Asp Thr Thr Pro Ser Pro Asp Gln Thr Asp Arg Ile
 690 695 700
 Arg Thr Asn Arg Thr Ser Gly Ser Arg Gly Gly Val Gly Leu Arg Pro
 705 710 715 720
 Ala Val Gln Ala Arg Gly Ala Ala Gln Ile Ser Thr Val Gly Gln Glu
 725 730 735
 Glu Lys Pro Glu Glu Pro Met Lys Pro Glu Pro Asp Pro Gly Val Ala
 740 745 750
 Val Trp Gln Pro Asp Gly Asp Gly Glu Ile Asp Met Asp Leu Leu Pro
 755 760 765
 Pro Ile Ser Ala Ser Leu Gly Ala Met Ala Ser Leu Ser Gly Lys Leu
 770 775 780
 Asp Ala Leu Gln Asp Thr Glu Leu Lys Asp Glu Ile Arg Lys Leu Gly
 785 790 795 800
 Ser Arg Leu Leu Lys Leu Ser Glu Pro His Glu Pro Arg His Ala Ala
 805 810 815
 Arg Ile Trp Met Asn Glu Ala Arg Glu Leu Ser Tyr Asp Met Val Asn
 820 825 830
 Cys Val Asp Ala Asp Ala Asp Trp Ile Asp Lys Met Ser Arg Ile Phe
 835 840 845
 Lys Pro Arg Val Lys Glu Ala Asn Gly Arg Tyr His Arg Tyr Lys Leu
 850 855 860
 Glu Ser Val Pro Ser Arg Ala Ala Val Leu Ala Ile Pro Met Val Val
 865 870 875 880

Gly Asp Ala Gly Arg Lys Pro Asp Leu Leu Val Gly Leu His Ala Asn
 885 890 895
 Gly Gly Ala Phe Glu Thr Leu Arg Lys Asn Leu Ile Asp Arg Asp Glu
 900 905 910
 Gln Leu Lys Ala Leu Phe Val Val Gly Val Gly Gly Ile Gly Lys Thr
 915 920 925
 Thr Leu Ala Lys Glu Leu Trp Arg Glu His Lys Pro Gly His His Phe
 930 935 940
 Cys Cys Arg Ala Phe Val Arg Thr Ala Lys Lys Pro Asp Met Arg Arg
 945 950 955 960
 Ile Leu Arg Ser Ile Leu Ala Gln Val Arg Pro Asp Gln Pro Pro Val
 965 970 975
 Ala Asn Glu Val His Glu Leu Ile His Asp Leu Thr Glu His Leu Lys
 980 985 990
 Asp Lys Arg Val Gly Ala Ala Glu Ala Cys Ala Ala Ile Ser Leu Leu
 995 1000 1005
 Thr Arg Gly Arg Arg Ile Thr Thr His Gly Gly Trp Ser Ser Arg
 1010 1015 1020
 Pro Ala Arg Arg Cys Gly Glu Gly Val Asp Leu Arg Leu Ser Arg
 1025 1030 1035
 Pro Gly Pro Lys Pro Arg Arg Arg Ser Gly Cys Ala Ala Val Ala
 1040 1045 1050
 Val Arg Glu Arg His Arg Arg Ser Ile Trp Val Ala Arg Glu Gly
 1055 1060 1065
 Glu Gly Ala Ala Ala Trp Gly Glu Glu Gly Gly Gly Arg Arg Arg
 1070 1075 1080

Arg Arg Trp Glu Arg Arg Tyr Phe Ile Ile Ile Asp Asp Leu Trp
 1085 1090 1095
 Asp Thr Ser Val Trp Asp Val Ala Ala Arg Ala Phe Pro Lys Gly
 1100 1105 1110
 Asn Gln Gly Ser Arg Ile Val Thr Thr Thr Glu Ile Glu Asp Val
 1115 1120 1125
 Ala Leu Ala Cys Cys Tyr Gln Ser Lys Tyr Val Leu Lys Met Glu
 1130 1135 1140
 His Leu Ser Glu Ser His Ser Arg Glu Leu Phe Thr Ser Ala Val
 1145 1150 1155
 Phe Arg Ser Gly Glu Gln His Ser His His Val Gly Glu Val Pro
 1160 1165 1170
 Asp Glu Ile Ile Arg Arg Cys Ala Gly Leu Pro Gln Ala Ile Ile
 1175 1180 1185
 Ser Ile Ser Ser Val Leu Ala Ser His Gly Glu Ala Asn Thr Val
 1190 1195 1200
 Lys Asn Trp Glu Gln Ile Gln Asn Ser Leu Pro Thr Asn Thr Thr
 1205 1210 1215
 Ser Asp Glu Ile Leu Lys Glu Val Leu Ile Phe Cys Tyr Asn Ser
 1220 1225 1230
 Leu Pro Ser Cys Val Gln Thr Cys Leu Leu His Leu Ser Ile Tyr
 1235 1240 1245
 Pro Glu Asn Tyr Val Ile Leu Lys Glu Asp Ile Thr Lys Gln Trp
 1250 1255 1260
 Val Ala Glu Gly Leu Ile Ser Ala Pro Thr Glu Lys Glu Lys Met
 1265 1270 1275

Glu Ile Ala Arg Ser Tyr Phe Asp Met Leu Val Ser Met Gly Met
 1280 1285 1290
 Ile Gln His Ile Asp Val Asp Tyr Gly Asn Asp Val Leu Tyr Tyr
 1295 1300 1305
 Ala Val His His Met Val His Asp Ile Ile Thr Ser Lys Ser Ile
 1310 1315 1320
 Glu Glu Asn Phe Val Lys Val Ile Asp Tyr Ser Gln Arg Ala Val
 1325 1330 1335
 Arg Phe Ser Asn Lys Val Ser Arg Leu Ser Leu Gln Phe Gly Gly
 1340 1345 1350
 Ala Thr Tyr Ala Thr Thr Pro Ala Arg Ile Glu Leu Ser Gln Val
 1355 1360 1365
 Arg Ser Leu Ala Tyr Thr Gly Leu Lys Ser Cys Leu Pro Ser Ile
 1370 1375 1380
 Ser Glu Phe Lys Leu Leu Arg Val Leu Ile Leu His Ile Trp Ala
 1385 1390 1395
 Asp Gln Pro Ser Thr Cys Val Thr Arg Lys Lys Lys Asn Gln Ala
 1400 1405 1410
 Gln Val Thr Cys Asn Gly Thr Val His Leu Pro Lys Gln Met Arg
 1415 1420 1425
 Cys Leu Lys His Leu Glu Thr Leu Glu Ile Asn Ala Thr Val Ala
 1430 1435 1440
 Ala Ile Pro Ser Asp Ile Val His Leu Arg Ser Leu Leu His Leu
 1445 1450 1455
 Arg Leu Gly Gly Gly Thr Glu Leu Pro Asp Val Thr Gly Val Leu
 1460 1465 1470
 Thr Asn Val Thr Leu Asn Leu Pro Ser Ala Ala Thr Leu Leu Asp
 1475 1480 1485
 Asp Ser Ser Ser Ser Pro Asp Ser Leu Asn Thr Met Glu Leu Leu
 1490 1495 1500

Pro Pro Ile Cys Arg Ile Pro Asn Trp Ile Gly Gln Leu Thr Asp
 1505 1510 1515
 Leu Cys Ile Leu Lys Val Val Val Arg Glu Leu Leu Arg Asp Asp
 1520 1525 1530
 Ile Ser Asn Leu Glu Arg Leu Pro Ala Leu Thr Val Leu Ser Leu
 1535 1540 1545
 Tyr Val Gln Gln Arg Asn Thr Glu Leu Ile Ile Phe Glu Ala Gly
 1550 1555 1560
 Ala Phe Ser Ala Leu Glu Cys Phe Glu Phe Arg Cys Gly Glu Leu
 1565 1570 1575
 Gln Leu Met Phe Gln Glu Gly Ala Met Pro Asn Leu His Arg Ile
 1580 1585 1590
 Lys Leu Gly Phe Asn Ala His Lys Gly Glu Gln Tyr Asp Arg Leu
 1595 1600 1605
 Leu Ser Gly Ile Glu Asn Leu Ser Asp Val Gln Glu Ile Ser Gly
 1610 1615 1620
 Ile Ile Gly Ala Ala Pro Gly Ala Asp Glu His Asp Phe Gln Ala
 1625 1630 1635
 Ala Glu Ser Ala Phe Met Lys Ala Val Ser Lys Leu Ser Ser Lys
 1640 1645 1650
 Val Ser Val Lys Arg Ala Asp Met Val Glu Glu Glu Gly Gly Leu
 1655 1660 1665
 Ala Glu Lys Gln Asp Val Ile Arg Glu Lys Asp Ala Ser Arg His
 1670 1675 1680
 Val Ile Ser Glu Gln Pro Ala Ile Leu Lys Gln Glu Ser Glu Glu
 1685 1690 1695
 Asp Ile Lys Gln Asn Ala Gly Gly Ser Leu Pro Ser Gly Ile Lys
 1700 1705 1710
 Asn Leu Ser Asn Val Gln Glu Ile Ser Gly Ile Thr Gly Val Ala
 1715 1720 1725
 Thr Gly Ala Glu Glu His Glu Ile Gln Ala Ala Glu Ser Ala Leu
 1730 1735 1740
 Met Lys Ser Val Ser Glu Gln Pro Ser Lys Val Thr Ile Lys Gly
 1745 1750 1755

Ala Asp Met Val Glu Gln Gly Tyr Gly Pro Ala Asp Lys Gln His
 1760 1765 1770

Val Ser Arg Glu Lys Asp Val Ser Ser His Leu Arg Ser Glu Gln
 1775 1780 1785

Pro Ala Ile Val Lys Gln Glu Ser Gly Gly Asn Ser Gln Phe Ile
 1790 1795 1800

Gln Trp Arg Ser Asn Ser Lys Glu Thr Ser Asn Val Val Gln Gly
 1805 1810 1815

Leu Ser Gly Asn Arg Glu Leu Arg Gly Gly Ala Val Gly Glu Val
 1820 1825 1830

Asn Lys Glu Glu Glu Arg Gln Asn Ser Leu Ala Arg Gly Lys Ser
 1835 1840 1845

Ser Met Asp Ile Lys Leu Val Glu Ile Glu Ala Ile Thr Asn Asn
 1850 1855 1860

Phe Ala Glu Glu Gln Lys Val Gly Ser Gly Gly Tyr Gly Asp Val
 1865 1870 1875

Tyr Arg Ala Thr His Lys Gly Glu Glu Val Ala Val Lys Lys Leu
 1880 1885 1890

His Gln Leu Gln Gly Leu Asp Asp Lys Gln Phe Asp Ser Glu Phe
 1895 1900 1905

Arg Asn Leu Arg Asn Ile Arg His Gln Asn Val Val Arg Leu Ile
 1910 1915 1920

Gly Tyr Cys His Glu Ser Arg Lys Lys Tyr Met Glu His Lys Gly
 1925 1930 1935

Glu Leu Ile Phe Ala Lys Glu Met Glu Arg Val Leu Cys Phe Glu
 1940 1945 1950

Tyr Met His Gly Gly Ser Leu Asp Lys His Ile Thr Asp Glu Ser
 1955 1960 1965

Cys Glu Leu Asp Trp Pro Thr Cys Tyr Lys Ile Ile Lys Gly Thr
 1970 1975 1980

Cys Glu Gly Leu Asn His Leu His Thr Ser Gln Gly Lys Pro Ile
 1985 1990 1995
 Leu His Leu Asp Ile Lys Pro Ala Asn Ile Leu Leu Asp Lys Ser
 2000 2005 2010
 Met Thr Pro Lys Ile Ala Asp Leu Gly Leu Ser Lys Leu Val Ser
 2015 2020 2025
 Ser Thr Leu Thr His Lys Thr Glu Ile Val Lys Gly Thr Gln Gly
 2030 2035 2040
 Tyr Met Pro Pro Glu Tyr Val Asp Asn Gly Gln Ile Ser Asn Lys
 2045 2050 2055
 Phe Asp Val Phe Ser Phe Gly Val Val Ile Ile Lys Met Met Ala
 2060 2065 2070
 Gly Asn Val Gly Tyr Phe Arg Cys Ala Glu Met Ser His Lys Glu
 2075 2080 2085
 Phe Ile Glu Leu Val Thr Lys Asn Trp Val Lys Arg Leu Leu Thr
 2090 2095 2100
 Glu Pro Gly Tyr Ser Ser His Glu Thr Asp Met Leu Gly Val Thr
 2105 2110 2115
 Arg Cys Val Glu Ile Ala Leu Arg Cys Val Asp Lys Asp Arg Asn
 2120 2125 2130
 Lys Arg Pro Cys Ile Lys Asp Val Val His Glu Leu Glu Glu Leu
 2135 2140 2145
 Glu Ala Glu Ile Lys Lys Met Ser Leu Ser Ser Asp Gln Ser Lys
 2150 2155 2160
 Gly Leu Ser Leu Gln Ala Ser Ile Leu Arg Ser Cys Asp Thr Asn
 2165 2170 2175
 Ile Leu Ser Val Asp Pro Thr Leu Glu Leu Arg Phe Val Phe Glu
 2180 2185 2190
 Pro Arg Lys Glu Thr Ser Cys Cys Leu Gln Met Thr Asn Lys Thr
 2195 2200 2205
 Gly Gly Phe Ile Ala Phe Asn Ile Leu Met Asn Lys Asn Lys Tyr
 2210 2215 2220
 Ser Val Arg Pro Ser Gln Gly Thr Met Pro Pro Cys Ser Arg Arg
 2225 2230 2235

Tyr Val Val Val Thr Leu Ser Ala Gln Glu Ala Ala Pro Pro Tyr
 2240 2245 2250

Met Arg Cys Asp Asp Met Leu Leu Val Gln Ser Thr Ser Ile Thr
 2255 2260 2265

Gln Asp Leu Gly Glu Ile Asn Tyr Gln Glu Leu Phe Asp Val Ala
 2270 2275 2280

Arg Ala Asp Lys Val Val Asp Val Val His Leu Pro Ile Ala Tyr
 2285 2290 2295

Val Thr Leu Glu Glu
 2300

5 <210> 7
 <211> 1173
 <212> DNA
 <213> Штучна послідовність

10 <220>
 <223> Probe LRR RGA 1

<400> 7

catggaatca tgaatcagtt aatggtgtat aagtcacaggt cttcgaatTT catttctaca	60
tctattaatg ataataaccg aagtaattac cgtcacctgg ttatccagaa taacagaaaac	120
ggtaaaagct tcagtcacaga aacaagtgtc aagggcaagc agctgcgtcc cgggtctcta	180
acagtccttg ggagtcacaga agaagccggt ccagatttga agagttgtga gctgctgaga	240
gtgttgatc tgaagaatg caatgatttg agggaccaac atctcgagca catatacaag	300
ctgttgcatc taaaatatct ggcctcggg gattctagta gcaaatact ggatagaatg	360
ggaaagctac attgtttaga gacactcgac ttgaggaaga ggaaaatcga gatactgcca	420
gtggaagtca tcagtttgcc ccacctagca catctgttgg gaaagttcaa gctaaacaag	480
ttgggtaaga ggaagcttaa agagttccgg tcaaacaat gcaacttggg gactgtagca	540
ggagttattg ttgacagcga ctctggattc ctggaattga tggttcattt gaagcaactt	600
15 agaaaggctca agatatggtg cgagctcact agcacagatt gcaagaacat actgggttca	660
ctttcaaagg ccattcaaaa gtttgctaag gatggcatag atactccagt aggtgaccgt	720
ggtcgcctat cactccattt caacaattat tctgaaggtc tgttgactg tgaagatgac	780
cccacatttc ttggttatct taactcgtg aaactgcaag gcagcctgag tcagttccct	840
aagtttgcta agtccctcga tggctctgcaa gaactgtgcc ttacataac taatctgacg	900

```

ggggctgatc ttctactagg tctgtgtagg ctacgacgct tggtttatct caaactgatc      960
gaagtcctatc ttgcggattt agacttagaa gatggggatc tcccaaaact gcaacgtcta      1020
tgcctcgtgg tgcaacagcc cagattcccc agtatccgaa caggcgctct gccgaaacta      1080
acttcaattc agttgctctg tggtggtctg gaagatcttg gtggcatcga aatggaattg      1140
ttcaaggacc tccgggaaat cgctcttgat tct                                     1173

```

5 <210> 8
 <211> 968
 <212> DNA
 <213> Штучна послідовність

10 <220>
 <223> Probe LRR RGA 2

<400> 8

```

gtgcatcaca tggtagatga tatcattaca tccaagtcca tagaagagaa ttttgtaaaa      60
gtaatagatt attctcaaag ggcggtagcg ttttctaaca aggttagtct tctgtccctc      120
cagtttggcg gtgcaacata tgcaactaca ccagcacgta tcgaactgtc gcaagtgcca      180
tctcttgctt atactggact gaagagctgc ttgccttcca tctcagagtt taagcttctc      240
cgggtactga ttctccatat ttgggctgat caaccaagca catgtgtcac tcgcaaaaaa      300
aagaaccaag cacaggtgtc cacctcgagt gtatctctcg attgcttcta ttaatatatt      360
tgcaggtgac atgcaacggc accgtgcac tccaaaaaca gatgcatgtt ctgaaacact      420
tggaaacact tgaataaaat gcaacagtag cagccattcc atcgatatt gttcatcttc      480
ggagcttggt gcatctccgt ctaggaggtg ggacagaact gcctgatgtg acaggtgtcc      540
tcacaaatgt taccctgaat ctccctagtg ctgccacttt attggatgat tcgagcagtt      600
ctcccgattc actgaacaca atggagctat tgccacccat ttgcagaatc cccaactgga      660
ttggacagct tactgacctc tgcattctga aagttgtcgt cagagaactg ctaagggatg      720
atatcagtaa cctggaaaga ttgccagcac tcaactgttct ctctttgtac gtccagcaaa      780
gaaatacaga actaatcatt ttcgaagccg gagcattttc tgetctcgag tgttttgagt      840
tcaggtgtgg tgaactgcag ctgatgtttc aggaaggagc aatgcccatt cttracagaa      900

```

15

```

tcaagctagg tttcaatgct cacaaaggag aacagtatga tcgtcttctt agcggcattg      960
agaacctg                                         968

```

20 <210> 9
 <211> 92
 <212> DNA
 <213> Штучна послідовність

25 <220>
 <223> Marker Wa_c6957_32R

<400> 9

cgggacagcc aagagaaaatt ccatttggcg atcgttcaaa tgtgcaactgc attctcgtac 60
 tgccgtcgcc gtcgctctgtc tcttgactgt cg 92

5 <210> 10
 <211> 92
 <212> DNA
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> Marker Wa_c6957_32s

10 <400> 10
 cgggacagcc aagagaaaatt ccatttggcg accgttcaaa tgtgcaactgc attctcgtac 60
 tgccgtcgcc gtcgctctgtc tcttgactgt cg 92

15 <210> 11
 <211> 215
 <212> DNA
 <213> Штучна послідовність

20 <220>
 <223> Marker Excalibur_c1787R
 <400> 11
 catattgatg aacaagaaca agtatagtgt gcggccaagc caagggacca tgccaccgtg 60
 ctccaggcgt tatgttgtcg tgacgctgtc agcgcaagag gcggcgccgc catacatgcg 120
 gtgtgacgac atgctcctag tgcagagcac cagcatcacc caagatcttg gtgagatcaa 180
 25 ttatcaagaa ttgttcgacg tggccagggc ggata 215

30 <210> 12
 <211> 215
 <212> DNA
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> Marker Excalibur_c1787_1301s

35 <400> 12
 catattgatg aacaagaaca agtatagtgt gcggccaagc caagggacca tgccaccgtg 60
 ctccaggcgt tatgttgtcg tgacactgtc agcgcaagag gcggcgccgc catacatgcg 120
 gtgtgacgac atgctcctag tgcagagcac cagcatcacc caagatcttg gtgagatcaa 180
 ttatcaagaa ttgttcgacg tggccagggc ggata 215

40 <210> 13
 <211> 94
 <212> DNA
 <213> штучна послідовність
 <220>
 45 <223> Marker 1R

<400> 13
gtatgaaaag tatgaaaata gcacttgctt gtatgtagac ctacggtttt ctaactatag 60
acttagtaaa cataccacat gaaataacat acca 94

5 <210> 14
<211> 96
<212> DNA
<213> Штучна послідовність

10 <220>
<223> Marker 1S

<400> 14
tatcaaaaagt atgaaaatag cacttgcttg tatgtagacc tacggtttac taactataga 60
cttagtaata aacataccac atgaaataac atacca 96

15

<210> 15
<211> 176
<212> DNA
<213> Штучна послідовність

20

<220>
<223> Marker 2R

25 <400> 15
tgctcaacag ctcaagtacc tttatcctt tagatgctcg gtgaggctcg gaatgagctc 60
gtgcacctca ttagcgacgg gtggtgatc cggacgaact tgtgcgagta tgctcctcag 120
gatcctctc atgtcagggt tcttggcggc ccgcacgaaa gcccggcagc agaagt 176

30

<210> 16
<211> 160
<212> DNA
<213> Штучна послідовність

35

<220>
<223> Marker 2S

<400> 16
taccttttat ccttcagatg ctcggtgagg tcatgaaatga ggtcgtgcac ctcattagcg 60
tcgggtgggt ggtgcgacg aacttgtgcg agtatgctcc tcaggatcct cctcatgtca 120
ggtttcttgg ccgtccgcac aaaagctcgg cagtccaagt 160

40

<210> 17
<211> 176
<212> DNA
<213> Штучна послідовність

45

<220>
<223> Marker 3R

<400> 17

```

tgctcaacag ctcaagtacc ttttatcctt tagatgctcg gtagggtcgt gaatgagctc      60
gtgcacctca ttagcgacgg gtggttgatc cggacgaact tgtgcgagta tgctctcag      120
gatcctcttc atgtcagggt tcttggcggg ccgcacgaaa gcccggcagc agaagt      176

```

5 <210> 18
 <211> 160
 <212> DNA
 <213> Штучна послідовність

10 <220>
 <223> Marker 3S

<400> 18

```

taccttttat ccttcagatg ctcggtgagg tcatgaatga ggtcgtgcac ctcatagcag      60
tcgggtgggt ggtgcggacg aacttgtgcg agtatgctcc tcaggatcct cctcatgtca      120
ggtttcttgg ccgtccgcac aaaagctcgg cagtcgaagt      160

```

15
 <210> 19
 <211> 176
 <212> DNA
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Marker 4R

25 <400> 19

```

tgctcaacag ctcaagtacc ttttatcctt tagatgctcg gtagggtcgt gaatgagctc      60
gtgcacctca ttagcgacgg gtggttgatc cggacgaact tgtgcgagta tgctctcag      120
gatcctcttc atgtcagggt tcttggcggg ccgcacgaaa gcccggcagc agaagt      176

```

30 <210> 20
 <211> 160
 <212> DNA
 <213> Штучна послідовність

35 <220>
 <223> Marker 4S
 <400> 20

```

taccttttat ccttcagatg ctcggtgagg tcatgaatga ggtcgtgcac ctcatagcag      60
tcgggtgggt ggtgcggacg aacttgtgcg agtatgctcc tcaggatcct cctcatgtca      120
ggtttcttgg ccgtccgcac aaaagctcgg cagtcgaagt      160

```

40 <210> 21
 <211> 144
 <212> DNA
 <213> Штучна послідовність

45 <220>
 <223> Marker 5R

<400> 21

ccaagtgtta gtatactcta ggaagcttta tgcgccaact ttgcatgtag gtaactaaaa 60

actgggtgaa aagggtgctg acagagcctg gatattcctc gcacgaaacc gacatgctag 120

gagtcactag atgtgttgaa attg 144

5

<210> 22

<211> 144

<212> DNA

<213> Штучна послідовність

10

<220>

<223> Marker 5S

<400> 22

15

ccaagtgtta gtatactcta ggaagcttta tgcgccaact ttgcatgtag gtaactaaaa 60

actgggcgaa aagggtgctg acagagcctg gatattcctc gcacgaaacc gacatgctag 120

gagtcactag atgtgttgaa attg 144

20

<210> 23

<211> 16

<212> DNA

<213> Штучна послідовність

25

<220>

<223> NBS1 8000 Primer F

<400> 23

30

cgacggcgca cgtgat 16

35

<210> 24

<211> 20

<212> DNA

<213> Штучна послідовність

40

<220>

<223> NBS1 8000 Primer R

<400> 24

45

aacggacgac gaatgcaaat 20

50

<210> 25

<211> 16

<212> DNA

<213> штучна послідовність

<220>

<223> NBS1 8000 Probe MGB

<400> 25

tggactcgat ccattg 16

<210> 26
 <211> 55
 <212> DNA
 5 <213> Штучна послідовність

 <220>
 <223> NBS1 8000 Amplicon or marker sequence

 10 <400> 26
 cgacggcgca cgtgatgctg gactcgatcc attgcatttg cattcgtcgt ccgtt 55

 <210> 27
 15 <211> 19
 <212> DNA
 <213> Штучна послідовність

 <220>
 20 <223> NBS4 4000 Primer F

 <400> 27
 acgctccgca aaaatctga 19
 25
 <210> 28
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Штучна послідовність
 30
 <220>
 <223> NBS4 4000 Primer R

 <400> 28
 35 aacaacgaat agcgccttga g 21

 <210> 29
 <211> 15
 40 <212> DNA
 <213> штучна послідовність

 <220>
 <223> NBS4 4000 Probe MGB
 45
 <400> 29
 tgaccgggac gagca 15
 50
 <210> 30
 <211> 57
 <212> DNA
 <213> Штучна послідовність

 55 <220>
 <223> NBS4 4000 Amplicon or marker sequence

 <400> 30

acgctccgca aaaatctgat tgaccgggac gaggcagctca aggcgctatt cgttgtt 57

5 <210> 31
 <211> 3000
 <212> DNA
 <213> Triticum aestivum

<400> 31

gtcctacgga ctaaactctc cggtttatat agacatcggg ggaggctagt gaggaggtcc 60
 tggattaggg ggtatccgga cagccggact gtatacatct tccggcttat tgaagcgtga 120
 agatacaaga ctcaagactt cggcccgtgt cgggatggga ctctcctttg tgtggaagac 180
 aagcttggcg atccggatat tatatttctt tccttgtaac cgactccatg taaaccttag 240
 ccctctccgg tgtctatata aaccggagag gatggttctt agaaggccga tcacagttac 300
 10 aatcatacca tcataggeta gctcctaggg tttagcctct acgatctcgt ggtagatcaa 360
 ctcttgactt acacatatct tcaatattaa tcaagcatga agtagggttt tacctcaatc 420
 gagagggctc gaacctgagt aaacattgtg tcccttgctt actgttacca tcagectaag 480
 acgcacaaat cgggaccccc taccggagat ccgccggtt tgacaccgac attggtgctt 540
 tcattgagag tttctctgtg tcgtcgtttt gaggcttgat ggctcttca atcgccaaca 600
 acaccgtcca gggcgagact tttctccccg gacagatctt tgtgttcggc ggettegcac 660
 tgggggcca a ttcgcttggg catctggagc agatcgacag ctacgcccc tggccaccaga 720
 tcaggttcgg aaacttgaac tacacggcgg atatttgagg agacttgatc ttcgacggat 780
 tcggccctgt gccaggagcg ccggacaatc acgacgagca cggcctagac ctgttgctcg 840
 acaattctca gaacatcatc cctgaaatag ccccggatct aaatccggaa caggttgtgt 900
 tgcccaagga cggaggggata gaccccgctc cgcaggccac atactcatcg gcggtggagc 960
 cgaacacagg tctcacctct gtggaagcca gtaacccccg cccccggac tcatatccgg 1020
 ttgttggttc cggctctgac acccccgagc cagtcgaacc aggctaggct ccggtaatgg 1080
 agcttaccgc tgcggacatc tttcaacact cgccctttgg cgacatgttg aaitcattaa 1140
 agtctctctc tttgttagga ggetctgggc cgaactatgt ccggcctgag tgggaagcag 1200
 gcgacgaagg aattcgttgc ccaccagca cccacttcat tgccacggtc gacgatttaa 1260
 ccgacgtgct taactttgac tccaaagata tcgacggtat ggacgacgat gcaggagacg 1320
 tacaggagcc accgctcata gggcgggtgga cggccacctc ctcatatgat atatacacgg 1380
 tggacactcc gaaggaaacc aatggcgacg aggcagcggg ggataacccc tcgggaggaa 1440
 aagcaaaaca tgggcgtctt cggcgtcgtc ccaagccccg ccacatcaat accgtccccg 1500

gagatgatcc ggacagtgcc gaagaggaat acagccctga tcaggccacc ttcaagcagg 1560
 ccggacaggc cacgttggga tacttggaaa gggacaacta tacagccccc tccaagatg 1620
 aggtaagcct cagcaatgac gaattcgggtg tgcctgaaga tccagtggaa cagttcgttt 1680
 caagcgacgg ctcattggcca cggcaagggtg cctgcacagg aagcaagagc agcttaaagc 1740
 caaccaggat ttgctaattg acaggtggac caagatcctg gccaccgaaa agtacggact 1800
 cgaccacccc agcaaagggc atacgcggca caactggcta cctcaaccta agcaggagaa 1860
 ccaaaagcac acaaccggac gtccgcacac cactacggtc caagacagca agaagaatac 1920
 atgaagaggc atcctcaagc ctcggcgcaa tggtcataaa cgtcaagtca gggacgctgg 1980
 tgccaagtcc agcaactccc agtctgatca acggacaaag agcagctcaa gcctattcgg 2040
 cccaagccac aaactcgate aaccgtgtga aattaacggt actcccagaa ggacggcaaa 2100
 acataccaat agagaatgcc ggatcttcaa acaaagcgac cggtcggtg ccggaaacaa 2160
 tgaagggagg cgtctagtca agagaccccc ccccagagca caacagtacg gccgatcgcc 2220
 cctaccatac aaaccacagc aattaaatth tcgtaccccc agaccagta gtccaggggc 2280
 tcataaacac ataaagcctc cgcgggtatg aatctacaaa taacaccttc taaaaatgt 2340
 caggtgcaaa ggccaagttc attggccac cgtctaacg gttgctttca gataacaaa 2400
 aaatgtcacg tcatcgggtc attccccca tacggtaac caccgtctgc taacgggatg 2460
 aaccacgttg actagattcc acgtggtaaa ccattaggcc aacaccagtg atatactcac 2520
 gcctacgtac aaggccgaac cctccccca gagcggaaat catacagctg ccggagtgc 2580
 aagtcatgca tgcctatcaa tattttgata tgacatcaa ctattcggac accaactgag 2640
 gagtccgcgc tgcttctcgg tatatcggct agggtcacca gggtcggatc aggaaccttt 2700
 agcccaactg tcggtgtcaa aaccggcggg tctcgggtag agggtcaccg actgtgcgtc 2760
 taggcggatg gtaacaggag acaagggaca cgatgttttt acccaggttc gggccctctc 2820
 gatggaggta aaaccctact cctgcttgat taatattgat gatatggata gtacaagagt 2880
 agatctacca cgagatcaga gaggctaaac cctagaagct agcctatggt atgattgttg 2940
 tttgtctac ggactaaaac cctccggttt atataggcac cgaatagggt tagggttaca 3000

5

<210> 32

<211> 3000

<212> DNA

10

<213> Triticum aestivum

<400> 32

tccttttcatt taattttata tccttttagca gtagcagatt tagattaaaa cgcgctgcta 60
 caaataaagt accggtagcg cggttcgta taggtcgtc ctactatgtg tagcctatcg 120

15

gctaagccgt gggaaatttta gtagtaacgt gtttagagca agacgcgcta ctgctagaac 180
tttatctgca gcgcggtttg ctcaggcgcg ctactgctac ttagcaccag cgtgcttttt 240
tgaccctcgc tactgctaaa gttctgtgta taaggttttc cctagtagtg ttactacgga 300
agaccatagc tctcactttc cataaaagtg ttctatctaa aacgtttatg atgaatagct 360
gcacaaatcc tgctcggcac attttccctt ggcttactgg ggaagctgtc ggtttatata 420
cggatgttct atctaaaacg tttgcgatca agagctgcac aactcgtcac attttcgcta 480
ggcttcccgg ggaagctgtt ggtttgcata cgggtgttct aactaaaact tttgcaatga 540
gtgttttata tttaaaaatt gtattaaact gcggcatggg cgccattaat gttagaggatg 600
cgagcaaggc ggccggccat ggaagtcaaa gggctcactt cccagtgagc ttgcgcggca 660
tacagctcac acgctttccg gtgagcctgc acattggagt acagctcgca cacctcccgt 720
ttagtcaagc acctgtttgc atgacacctc ctagccatta aaagagtgag gcgtgacatc 780
acgtgaatgg ttaagataac acacacgttt taaattattt aaaatgtrtg agatgttaca 840
gtggcagcaa tttgtttcaa aatgcctttg ttggctgtta tttgagtgcg ccttctctca 900
aaatggacac aaaaaatacc acaacatgtc ggggtgccatt tcatgatagc atgccaagtt 960
tcatgaatth tcgacgagtt ttggatttac tagaatttaa aaacagagta tttcaacatt 1020
ttgtcggcaa tcaatagtgc cctgggtgtt gaaattcatt ctaatttctt gcattgagact 1080
taagcatgca cccaaggaca catatttgat tttccaacca atttatatgc actggagcat 1140
gtgcatgtag ttcaaatthg aattatgcac ataaaatgcc tagaaaacc agttaatgta 1200
taaaaatgac caaacgagcc ctatthtttt ttcaaaattt aacacaacac tctgttatt 1260
ctatgttgac actagaaatt tttgaaagc aataagaggc aacggatatc atthttgtccc 1320
taaagtggca cgttccctac cgaagacatc aggtttgttg tgagaagctc cggttttgta 1380
gaagcttata cccaaacctg ccccaaatgg gacaaaaatt ttaccacggc atgttgatgc 1440
cgctccatga tagtatgca agtttcatga atttcagaca agttatggat ttactaaaat 1500
ttaaaaacca tgtatctcaa tgtttgcggc cgagtgaaga tggcagggtg tttgacatcc 1560
attcccattt cttgcatggg acctaaagcat gcaaccaatg acacatattt gaattttcaa 1620
ccaatttata tgcactaaag catgtgcctg tagttcaaat ttgtgagaac gttaacgtca 1680
ttgtgagaac ccgacattcc aaaaaagca tgccaaatct ataagtcatg tgatgcccgt 1740
gcttctatag tatgatggtg gcctctttga tgtgccctcg atacattctc cgcaaagcct 1800
tgtggcagtt ctccattgc caatgcatgc aatcaattga tgcgagcatc catggaaatt 1860
ctcaggcctc tcaagtagcc aacaactcct ctctgtctgt tgcatttggg tctctcagat 1920
actctgctcc aaacacctgc accatggcac gggcaactt gacagtagtc ttcaggcatg 1980
cgctctcccc catactgaca atctaccaa tgagagtacc tagtgaagc atcctcagag 2040

cagctgcgca cttctgttta gcagagaaag aaagttggct gcaacaatcc ctcgtgagct 2100
 tgaagtagtc atcatgtgcc ttcattccct ccattatgcg caaaacaatg gttttcgcac 2160
 gcgaaaaccg cgaagaaacc atggatcacc taggaaagtt ggatttcgag caaagtagtc 2220
 cttctgtagt aggcattgctc eggactccct gcccgattga ccactcttct ccctttgatt 2280
 gagtccttga agttgagaat atgctccact tgccgggtcca tttcttcttg catgctcacc 2340

 ggcattgatca tgtccacttc ttctccgaat acgaggaatc gaagaactca tcttgaacca 2400
 tttgatcaag cttcgtcggc ccatactcgg tgtgcgacga agcatcagga tccattgttt 2460
 tctctataaa aatcacaaaa aaaactaggt tgaggaatgt gtcgaacaca tagagtgtaa 2520
 ggggtgcctg ggagttgcca gacgtaccgc ggtggcgctc ggactggcga tgacatcccc 2580
 gtcagcgagg atagaagggg ggagtgtttg gccagttctg gaggcgcaga ggctctaaac 2640
 agcgggtggat ctgcgagacg gacatcgtga aggaggaaga agagataaga gaccaaatga 2700
 atccggtagg tcaaggggat ggatttgggt caatttgagt taggataaag ctgtcgggtc 2760
 tgacatggca gatgcgcctg gacgcgcccc tatctgcccc atatttgggc aacatatgag 2820
 ggggtgtcggc cagtcggggc ggttgagacc gttgaggtg cccgtctgag tcggattttg 2880
 gtgaccgatc aataaccatg ccgttcgctc ggtcgtttaa ggtgggtttg gaacgtccag 2940
 ctgcagatgc tcttatatga atttaggtgc gggaaatgga cgagtactat tattgcggac 3000

5

<210> 33
 <211> 2750
 <212> DNA
 <213> Triticum aestivum

10

<400> 33

tgtctatata aaccggagag gatggttctt agaaggccga tcacagttac aatcatacca 60
 tcataggcta gctcctaggg tttagcctct acgatctcgt ggtagatcaa ctcttgtact 120
 acacatactt tcaatattaa tcaagcatga agtagggttt tacctcaatc gagagggctc 180
 gaacctgagt aaacattgtg tcccttgctt actgttacca tcagcctaag acgcacaaat 240
 cgggaccccc tacccgagat ccgcccgttt tgacaccgac attggtgctt tcattgagag 300
 tttctctgtg tcgtcgtttt gaggettgat ggcgtcttca atcgccaaca acaccgtcca 360
 gggcgagact tttctccccg gacagatctt tgtgttcggc ggcttcgcac tgcgggceaa 420
 ttcgcttggc catctggagc agatcgacag ctacgcccc tggccaccaga tcaggttcgg 480
 aaacttgaac tacacggcgg atatttgcgg agacttgatc ttcgacggat tcggccctgt 540
 gccaggagcg ccggacaatc acgacgagca cggcctagac ctgtttgctg acaattctca 600
 gaacatcacc cctgaaatag ccccggatct aaatccggaa caggttgtgt tgcccaagga 660
 cggagggata gacccccgtc cgcaggccac atactcatcg gcggtggagc cgaacacagg 720

tctcacctct gtggaagcca gtaacccccg ccccccgac tcatatccgg ttgttggttc 780
 cggctctgac accccccgagc cagtcgaacc aggctaggct ccggtaatgg agcttaccgc 840
 tgcggacatc tttcaacact cgccctttgg cgacatggtg aattcattaa agtctctctc 900
 tttgttagga ggctctgggc cgaactatgt ccggcctgag tgggaagcag gcgacgaagg 960
 aattcgttgc ccaccagca cccacttcat tgccacggtc gacgatttaa ccgacgtgct 1020
 taactttgac tccaaagata tcgacggat ggacgacgat gcaggagacg tacaggagcc 1080
 accgctcata gggcgggtgga cggccacctc ctcatagat atatacaggg tggacactcc 1140
 gaaggaaacc aatggcgacg aggcagcggg ggataacccc tcgggaggaa aagcaaaaca 1200
 tgggcgtctt cggcgtcgct ccaagccccg ccacatcaat accgtccccg gagatgatcc 1260
 ggacagtgcc gaagaggaat acagccctga tcaggccacc ttcaagcagg ccggacaggc 1320

 cacgttggga tacttgaaa gggacaacta tacagcccc tccaaagatg aggtaagcct 1380
 cagcaatgac gaattcggtg tgccggaaga tccagtggaa cagttcgctt caagcgacgg 1440
 ctcatggcca cggcaagggt cctgcacagg aagcaagagc agcttaaagc caaccaggat 1500
 ttgctaattg acagggtggc caagatcctg gccaccgaaa agtacggact cgaccacccc 1560
 agcaaagggc atacggcgca caactggcta cctcaacctc agcaggagaa ccaaaagcac 1620
 acaacccgac gtccgcacac cactacggtc caagacagca agaagaatac atgaagaggc 1680
 atcctcaagc ctccggcga tggtcataaa cgtcaagtca gggacgctgg tgccaagtcc 1740
 agcaactccc agtctgatca acggacaaaag agcagctcaa gcctattcgg cccaagccac 1800
 aaactcgatc aaccgtgtga aattaacggg actcccagaa ggacggcaaa acataccaat 1860
 agagaatgcc ggatcttcaa acaaagcgac cggctcgtgtg ccggaaacaa tgaagggagg 1920
 cgtctagtca agagaccccc cccagagca caacagtacg gccgatcgcc cctaccatac 1980
 aaaccacagc aattaaatct tcgtaccccc agaccagta gtccaggggc tccataacac 2040
 5 ataaagcctc cgcgggtatg aatctacaaa taacaccttc tacaaaatgt caggtgcaaa 2100
 ggccaagttc attggcccac cgctctaacg gttgctttca gataacccaa aatgtcacg 2160
 tcacgggtgc attccccctc tacggtaacc caccgtctgc taacgggatg aaccacgttg 2220
 actagattcc acgtggtaaa ccattaggcc aacaccagtg atatactcac gcctacgtac 2280
 aaggccgaac cctcccccta gagcggaaat catacagctg ccggagtagc aagtcatgca 2340
 tgccratcaa tattttgata tgacatccaa ctattcggac accaactgag gagtccgcgc 2400
 tgcttctcgg tatatcggct agggtcacca gggctccgatc aggaaccttt agcccaactg 2460
 tcgggtgtaa aaccggcgga tctcgggtag agggctccga actgtgcgct taggcggatg 2520
 gtaacaggag acaagggaca cgatgttttt acccaggttc gggccctctc gatggaggta 2580
 aaaccctact cctgcttgat taatattgat gatatggata gtacaagagt agatctacca 2640
 cgagatcaga gaggctaaac cctagaagct agcctatggt atgattgttg tttgtcctac 2700
 ggactaaaac cctccggttt atataggcac cgaatagggt tagggttaca 2750

<210> 34

<211> 1637
 <212> DNA
 <213> Triticum aestivum

5 <400> 34

```

    atacgatata tacacggtgg acactccgaa ggaaaccaat ggcgacgagg cagcggagga      60
    taacccctcg ggaggaaaag caaaacatgg gcgctctcgg cgtcgctcca agccccgcca      120
    catcaatacc gtccccggag atgatccgga cagtgccgaa gaggaataca gccctgatca      180
    ggccaccttc aagcaggccg gacaggccac gttgggatac ttggaaaggg acaactatac      240
    agccccctcc aaagatgagg taagcctcag caatgacgaa ttcggtgtgc ctgaagatcc      300
    agtggaacag ttcgcttcaa gcgacggctc atggccacgg caaggtgcct gcacaggaag      360
    caagagcagc ttaaagccaa ccaggatttg ctaatggaca ggtggaccaa gatcctggcc      420
    accgaaaagt acggactcga ccaccccagc aaagggcata cgcggcacia ctggttacct      480
    caacctaagc aggagaacca aaagcacaca acccgacgtc cgcacaccac tacggtccaa      540

    gacagcaaga agaatacatg aagaggcatc ctcaagcctc ggcgcaatgg tcataaacgt      600
    caagtcaggg acgctggtgc caagtcacgc aactcccagt ctgatcaacg gacaaagagc      660
    agctcaagcc tattcggccc aagccacaaa ctcgatcaac cgtgtgaaat taacggtact      720
    cccagaagga cggcaaaaaca taccaataga gaatgccgga tcttcaaaca aagcgaccgg      780
    tcgtgtgccc gaaacaatga agggaggcgt ctagtcaaga gacccccccc cagagcacia      840
    cagtacggcc gatcgcacct accatacaaaa ccacagcaat taaattttcg tacccccaga      900
    cccagtagtc caggggctcc ataacacata aagcctccgc gggatgaat ctacaaataa      960
    caccctctac aaaatgtcag gtgcaaagge caagttcatt ggcccaccgc tctaacggtt     1020
    gctttcagat aaccaaaaaaaa tgtcacgtca tcggtgcatt cccctcatac ggtaaccac     1080
    cgtctgctaa cgggatgaac cacgttgact agattccacg tggtaaacca ttaggccaac     1140
    accagtgata tactcacgcc tacgtacaag gccgaacccc tcccctagag cggaaatcat     1200
    acagctgccg gagtagcaag tcatgcatgc ctatcaatat tttgatatga catccaacta     1260
    ttcggacacc aactgaggag tccgcgctgc ttctcggtat atcggttagg gtcaccaggg     1320
    tccgatcagg aacctttagc ccaactgtcg gtgtcaaaac cggcggatct cgggtagagg     1380
    gtcccgaact gtgcgtctag gcggatygta acaggagaca agggacacga tgtttttacc     1440
    caggttcggg ccctctcgat ggaggtaaaa ccctactcct gcttgattaa tattgatgat     1500
    atggatagta caagagtaga tctaccacga gatcagagag gctaaacctt agaagctagc     1560
    ctatgttatg attggtgttt gtcctacgga ctaaaacctt cgggtttata taggcaccga     1620
    atagggtag gggtaca                                     1637
    
```

15 <210> 35
 <211> 410
 <212> DNA
 <213> Triticum aestivum

<400> 35

tgccatcaaa	tatdddgata	tgacatccaa	ctattcggac	accaactgag	gagtccgcgc	60
tgcttctcgg	tatatcggct	agggtcacca	gggtccgatc	aggaaccttt	agcccaactg	120
tcgggtgcaa	aaccggcgga	tctcgggtag	agggtcccga	actgtgcgtc	tagggcgatg	180
gtaacaggag	acaagggaca	cgatgttttt	accaggyttc	gggccctctc	gatggaggta	240
aaaccctact	cctgcttgat	taatattgat	gatatggata	gtacaagagt	agatctacca	300
cgagatcaga	gaggctaaac	cctagaagct	agcctatggt	atgattggtg	tttgtectac	360
ggactaaaaa	cctccgggtt	atataggcac	cgaatagggt	tagggttaca		410

- 5 <210> 36
- <211> 2094
- <212> DNA
- <213> Triticum aestivum

10 <400> 36

acacaaaaaa	taccacaaca	tgtcgggtgc	catttcatga	tagcatgcca	agtttcatga	60
atdddgcagc	agttttggat	ttactagaat	ttaaaaacag	agtatdddcaa	cattttgtcg	120
gcaatcaata	gtgcccgtgt	gtttgaaatt	catttctaatt	tcttgcatga	gacttaagca	180
tgaccccag	gacacatatt	tgatdddcca	accaatddd	atgcactgga	gcattgtgat	240
gtagttcaaaa	tttgaattat	gcacataaaa	tgccatgaaa	accagtttaa	tgtataaaaa	300
tgaccaaacc	agccctatddd	ttttttcaaaa	attdaacaca	acactcctgt	tattctatgt	360
tgacactaga	aatdddttga	aagcaataag	aggcaaccgga	tatcattddd	ttccataaagt	420
ggcaagttcc	ctaccgaaga	catcagggtt	gttgtgagaa	gctccgggtt	gtgagaagct	480
tatacccata	cctgccccaa	atgggacaaa	aatdddacca	cygcatggtg	atgcccctcc	540
atgatagtat	gcgaagtttc	atgaatttca	gacaagttat	ggatdddacta	aaatdddaaaa	600
accatgtatc	tcaatgtdtt	cggccgagtg	acgatggcag	gggtgtdttgac	atccattccc	660
attdcttgca	tgggacctaa	gcattgcaacc	aatgacacat	attdgaattd	tcaaccaatt	720
tatatgcact	aaagcatgtg	cctgtagttc	aaattdgtga	gaacgttaac	gtcattgtga	780
gaacccgaca	ttccaaaaaa	agcatgccaa	atctataagt	catgtgatgc	cgctgcttet	840
atagtatgat	ggtggccctct	ttgatgtgcc	ctcgatacat	tctccgcaaaa	gccttdgtggc	900
agtdcttcca	ttgccaatgc	atgcaatcaa	ttgatgagag	catccatgga	aattctcagg	960
cctctcaagt	agccaacaac	tcctctctgt	cgtgtgcatt	tggtdctctc	agatactctg	1020
ctccaaacac	ctgcaccatg	gcacgggcaa	acttgacagt	agtcttcagg	catgagctct	1080
ccccataact	gacaatctca	ccaatgagag	tacctagtgt	aagcactctc	agagcagctg	1140
cgcacttctg	tttagcagag	aaagaaaagt	ggctgcaaca	atccctcgtg	agcttgaagt	1200
agtcatcatg	tgccctcatt	ccctccatta	tgcgcaaaa	aatggttdtc	gcattgcaaaa	1260

accgcgaaga aaccatggat catctaggaa agttggattt cgagcaaagt agtccttctg 1320
 tagtagggcat gctccggact ccctgcccga ttgaccactc ttctcccttt gattgagttc 1380
 ttgaagttga gaatatgctc cacttgccgg tccattttctt cttgcatgct catcggcatg 1440
 atcatgtcca cttcttctcc gaatacagagg aatcgaagaa ctcatcttga accatttgat 1500
 caagcttctgt cygtccatac tcggtgtgcg acgaagcatc aggatccatt gttttctcta 1560
 taaaaatcac aaaaaaaaaact aggttgagga atgtgtcgaa cacatagagt gtaaggggtg 1620
 cctgggagtt gccagacgta ccgcggtggc gtccggactg gcgatgacat ccccgctcagc 1680
 gaggatagaa gggaggagtg ttgtgccagt tctggaggcg cagaggctct aaacagcggg 1740
 ggatctgcga gacggacatc gtgaaggagg aagaagagat aagagaccaa atgaatccgg 1800
 taggtcaagg ggatggattt ggtgcaattt gagttaggat aaagctgtcg ggtctgacat 1860
 ggcagatgcg cctggacgcg cccatatctg ccccatatth gggcaacata tgaggggtgt 1920
 cggtcagtcg gggcggttga gaccgtttga ggtgcccgtc tgagtcggat tttggtgacc 1980
 gatcaataac catgccgttc gctcggctgt ttaaggtggg tttggaacgt ccagctgcag 2040
 atgctcttat atgaatttag gtgcgggaat atgacgagta ctattattgc ggac 2094

- 5 <210> 37
- <211> 540
- <212> DNA
- <213> Triticum aestivum

10 <400> 37

tctctataaaa aatcacaaaa aaaactaggt tgaggaatgt gtcgaacaca tagagtgtaa 60

ggggtgccctg ggagttgccca gacgtaccgc ggtggcgtcc ggactggcga tgacatcccc 120
 gtcagcgagg atagaagggga ggagtgttgt gccagttctg gaggcgcaga ggctctaaac 180
 agcggtagat ctgcgagacg gacatcgtga aggaggaaga agagataaga gaccaaata 240
 atccggtagg tcaaggggat ggatttggtg caatttgagt taggataaag ctgtcgggtc 300
 tgacatggca gatgcgcctg gacgcgccc aatctgcccc atatttgggc aacatatgag 360
 ggggtgtcggg cagtcggggc ggttgagacc gtttgagggtg cccgtctgag tcggattttg 420
 gtgaccgatc aataaccatg ccgttcgctc ggtcgtttaa ggtgggtttg gaacgtccag 480
 ctgcagatgc tcttatatga atttaggtgc gggaaataga cgagtactat tattgcggac 540

15 **ФОРМУЛА ВИНАХОДУ**

1. Ізольована нуклеїнова кислота, яка кодує білок, що забезпечує резистентність до оранжевої злакової галиці (OWBM), яка **відрізняється** тим, що нуклеїнова кислота належить до однієї з груп, до якої входять:

20 а) група 1:

i) нуклеїнова кислота, що включає послідовність SEQ ID NO: 4 або 5, або

ii) нуклеїнова кислота, що кодує амінокислотну послідовність, що включає послідовність SEQ ID NO: 6, або

25 iii) нуклеїнова кислота, що кодує амінокислотну послідовність, яка включає принаймні один мотив CC, один мотив NBSARC і один мотив LRR, причому послідовність, що кодує мотив LRR,

має принаймні 82 % ідентичності із фрагментом нуклеїнової кислоти, як зображено у послідовності SEQ ID NO: 8, або

iv) фрагмент нуклеїнової кислоти, як зображено у послідовності SEQ ID NO: 8, і

b) група 2:

5 i) нуклеїнова кислота, що включає послідовність SEQ ID NO: 1 або 2, або

ii) нуклеїнова кислота, що кодує амінокислотну послідовність, що включає послідовність SEQ ID NO: 3, або

10 iii) нуклеїнова кислота, що кодує амінокислотну послідовність, яка включає принаймні один мотив CC, один мотив NBS-ARC і один мотив LRR, причому послідовність, що кодує мотив LRR, має принаймні 78 % ідентичності із фрагментом нуклеїнової кислоти, як зображено у послідовності SEQ ID NO: 7, або

iv) фрагмент нуклеїнової кислоти, як зображено у послідовності SEQ ID NO: 7.

2. Ізольована амінокислотна послідовність, закодована нуклеїновою кислотою за п. 1.

3. Конструкт нуклеїнової кислоти, що включає нуклеїнову кислоту за п. 1, який **відрізняється**

15 тим, що зазначена нуклеїнова кислота клонована нижче гетерологічного промотору, що є функціональним в клітині рослини.

конструкт нуклеїнової кислоти за п. 3.

5. Клітина-хазяїн, що включає принаймні конструкт нуклеїнової кислоти за п. 3.

20 6. Трансгенна рослина або частина трансгенної рослини, що включає принаймні одну клітину за п. 5.

7. Трансгенна рослина за п. 6, яка **відрізняється** тим, що рослина є пшеницею.

8. Спосіб забезпечення або покращення резистентності до оранжевої злакової галиці (OWBM) в рослині, який включає такі стадії:

25 а) трансформація принаймні клітини рослини або тканини рослини із вектором, що включає як трансген конструкт нуклеїнової кислоти за п. 3;

30 б) культивування клітини (клітин) або тканини рослин, які трансформуються для генерації трансгенної рослини, що включає принаймні клітину, в геномі якої наявний принаймні зазначений конструкт нуклеїнової кислоти, який **відрізняється** тим, що зазначена трансгенна рослина виявляє знов набуту або покращену резистентність у порівнянні із рослиною, що не включає такий конструкт нуклеїнової кислоти.

9. Спосіб ідентифікації трансгенної рослини, що може застосовуватися в процесі селекції для одержання рослини із знов набутою або покращеною резистентністю, що включає стадію ідентифікації у популяції рослин тих рослин, які включають конструкт нуклеїнової кислоти за п. 3.

35 10. Спосіб за будь-яким з пп. 8 або 9, який **відрізняється** тим, що зазначена рослина належить до злакових.

11. Спосіб за п. 10, де зазначена злакова рослина являє собою пшеницю.

40 12. Маркер у локусі Sm1, визначений маркерами Wa_c6957_32 і Excalibur_c1787_1301, де зазначений маркер Wa_c6957_32 являє собою SEQ ID NO: 9 або SEQ ID NO: 10, і зазначений маркер Excalibur_c1787_1301 являє собою SEQ ID NO: 11 або SEQ ID NO: 12, цільної збірки геномів IWGSC ('IWGSC WGA') геном Chinese Spring, і пов'язаний із резистентністю до Sm1.

13. Маркер за п. 12, вибраний серед SEQ ID NO: 9, 11, 13, 15, 17, 19 і 21.

45 14. Спосіб ідентифікації рослини, резистентної до оранжевої злакової галиці (OWBM), у порівнянні із рослинами, що не включають нуклеїнову кислоту за п. 1, який **відрізняється** тим, що включає стадії:

а) ізоляція геномної послідовності ДНК або нуклеїнової кислоти РНК, і

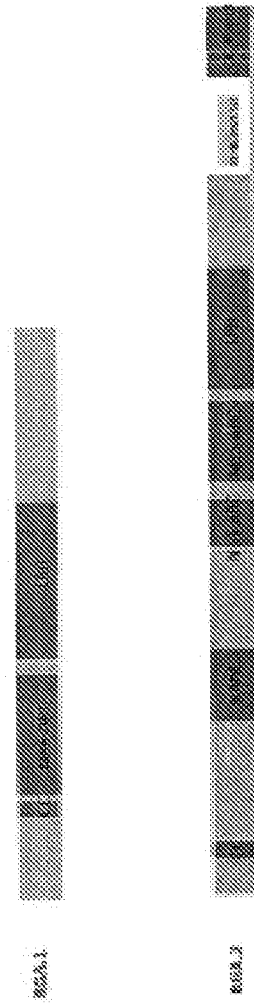
50 б) ідентифікація наявності нуклеїнової кислоти за п. 1 або наявності резистентних алелів і/або відсутності чутливих алелів маркера у локусі Sm1, визначеного маркерами Wa_c6957_32 і Excalibur_c1787_1301, де зазначений маркер Wa_c6957_32 являє собою SEQ ID NO: 9 або SEQ ID NO: 10, і зазначений маркер Excalibur_c1787_1301 являє собою SEQ ID NO: 11 або SEQ ID NO: 12, цільної збірки геномів IWGSC ('IWGSC WGA') геном Chinese Spring.

15. Спосіб за п. 14, який **відрізняється** тим, що резистентні алелі є послідовностями SEQ ID NO: 9, 11, 13, 15, 17, 19 і 21.

55 16. Застосування послідовності SEQ ID NO: 7 або послідовності SEQ ID NO: 8 як проби для ідентифікації та ізоляції ортологів генів *RGA1* або *RGA2*, що є кодуєчими відносно послідовності SEQ ID NO: 3 і послідовності SEQ ID NO: 6 у геномі рослини.

17. Застосування нуклеїнової кислоти за п. 1 або фрагмента зазначеної нуклеїнової кислоти як засобу скринінгу для ідентифікації ліганд-пептиду, що взаємодіє із білком, кодованим нуклеїновою кислотою за п. 1.

18. Спосіб модифікації нуклеїнової кислоти за п. 1, який покращує функцію білка, кодованого зазначеною нуклеїновою кислотою, і покращує резистентність до оранжевої злакової галиці (OWBM).



Фіг. 1

