(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ

(19) **Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)**
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ

(11) **1-0050802**

(51)[7] **C12N 9/00**; C12N 15/82

(13) **B**

(21) 1-2019-01339 (22) 17/08/2017
(86) PCT/US2017/047405 17/08/2017 (87) WO2018/035354 22/02/2018
(30) 62/376,298 17/08/2016 US; 62/442,377 04/01/2017 US; 62/502,313 05/05/2017 US
(45) 25/08/2025 449 (43) 26/08/2019 377A
(73) MONSANTO TECHNOLOGY LLC (US)
800 North Lindbergh Boulevard, St. Louis, Missouri 63167, United States of America
(72) ALLEN, Edwards M. (US); BODDU, Jayanand (IN); DIETRICH, Charles R. (US); GOLDSHMIDT, Alexander (IL); HOWELL, Miya (US); KOSOLA, Kevin R. (US); NEELAM, Anil (GB); SLEWINSKI, Thomas L. (US); VENKATESH, Tyamagondlu V. (US); WANG, Huai (US); RYMARQUIS, Linda (US); MANJUNATH, Sivalinganna (US).
(74) Công ty Luật TNHH T&G (TGVN)

(54) CẤU TRÚC ADN TÁI TỔ HỢP DÙNG ĐỂ THAY ĐỔI HÀM LƯỢNG GIBERELIN (GA) Ở CÂY NGŨ CỐC, CHẾ PHẨM CHỨA CẤU TRÚC ADN NÀY VÀ CÂY NGÔ CHUYỂN GEN CHỨA CẤU TRÚC ADN NÀY

(21) 1-2019-01339

(57) Sáng chế đề xuất chế phẩm và phương pháp để thay đổi hàm lượng gibberellin (GA) ở cây ngô hoặc ngũ cốc khác. Sáng chế cũng đề xuất các phương pháp và chế phẩm để thay đổi sự biểu hiện gen liên quan đến quá trình sinh tổng hợp gibberellin thông qua sự ức chế, đột biến và/hoặc chỉnh sửa các kiểu phụ đặc hiệu của gen GA20 hoặc GA3 oxidaza. Sáng chế cũng đề xuất tế bào cây biến đổi và cây biến đổi có yếu tố ức chế hoặc đột biến làm giảm sự biểu hiện hoặc hoạt tính của gen GA oxidaza gồm mức gibberellin giảm và các đặc tính được cải thiện, như chiều cao cây giảm và khả năng chống đổ tăng, mà không có sự khác dạng.

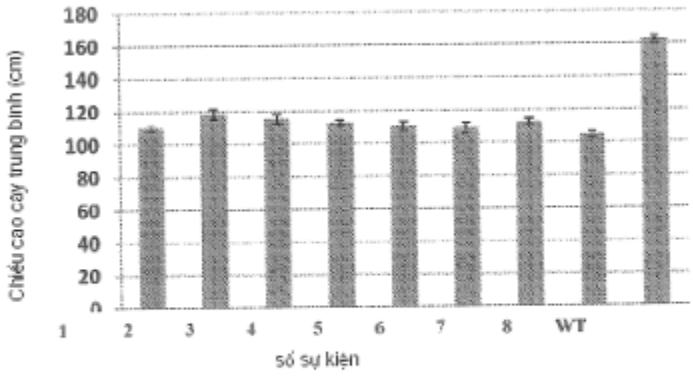

FIG. 1

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến chế phẩm và phương pháp để cải thiện các đặc điểm, như khả năng chống đổ và năng suất tăng, ở cây một lá mầm hoặc ngũ cốc bao gồm ngô.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Gibberellin (axit gibberellic hoặc GA) là hormon thực vật điều hòa một số quá trình phát triển và sinh trưởng chính của thực vật. Việc kiểm soát mức GA ở các giống cây lúa miến, cây lúa và cây lúa mì bán lùn dẫn đến năng suất tăng và giảm đổ ở các cây ngũ cốc này trong suốt thế kỷ 20, mà chịu trách nhiệm chính cho cuộc cách mạng xanh. Tuy nhiên, năng suất tốt đạt được ở các cây ngũ cốc khác, như cây ngô, đã không được thừa nhận thông qua sự kiểm soát quá trình GA. Thực vậy, một số đột biến ở các gen trong con đường GA đã kết hợp với sự khác dạng ở cây ngô mà không phù hợp với năng suất, mà không hướng các nhà nghiên cứu đến việc tìm ra các giống ngô bán lùn, năng suất cao thông qua sự kiểm soát con đường GA.

Vẫn có nhu cầu trong lĩnh vực này để phát triển cây một lá mầm hoặc ngũ cốc, như cây ngô, có năng suất và/hoặc khả năng chống đổ tăng.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Theo khía cạnh thứ nhất, sáng chế đề xuất cấu trúc ADN tái tổ hợp gồm trình tự ADN có thể phiên mã mã hóa phân tử ARN không mã hóa, trong đó phân tử ARN không mã hóa gồm trình tự mà bổ sung ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% cho ít nhất 15, ít nhất 16, ít nhất 17, ít nhất 18, ít nhất 19, ít nhất 20, ít nhất 21, ít nhất 22, ít nhất 23, ít nhất 24, ít nhất 25, ít nhất 26, hoặc ít nhất 27 nucleotit liên tiếp của phân tử mARN mã hóa protein GA oxidaza nội sinh ở cây một lá mầm hoặc ngũ cốc hoặc tế bào cây, protein GA oxidaza nội sinh tương đồng ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% với SEQ ID NO: 9,

12, 15, 30 hoặc 33, và trong đó trình tự ADN có thể phiên mã được liên kết theo kiểu hoạt động được với đoạn khởi đầu biểu hiện được ở thực vật.

Theo khía cạnh thứ hai, sáng chế đề xuất cấu trúc ADN tái tổ hợp gồm trình tự ADN có thể phiên mã mã hóa phân tử ARN không mã hóa, trong đó phân tử ARN không mã hóa gồm trình tự mà bổ sung ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% cho ít nhất 15, ít nhất 16, ít nhất 17, ít nhất 18, ít nhất 19, ít nhất 20, ít nhất 21, ít nhất 22, ít nhất 23, ít nhất 24, ít nhất 25, ít nhất 26, hoặc ít nhất 27 nucleotit liên tiếp của phân tử mARN mã hóa protein GA20 oxidaza nội sinh ở cây một lá mầm hoặc ngũ cốc hoặc tế bào cây, protein GA20 oxidaza nội sinh tương đồng ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% với SEQ ID NO: 9, và trong đó trình tự ADN có thể phiên mã được liên kết theo kiểu hoạt động được với đoạn khởi đầu biểu hiện được ở thực vật.

Theo khía cạnh thứ ba, sáng chế đề xuất cấu trúc ADN tái tổ hợp gồm trình tự ADN có thể phiên mã mã hóa phân tử ARN không mã hóa, trong đó phân tử ARN không mã hóa gồm trình tự mà bổ sung ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% cho ít nhất 15, ít nhất 16, ít nhất 17, ít nhất 18, ít nhất 19, ít nhất 20, ít nhất 21, ít nhất 22, ít nhất 23, ít nhất 24, ít nhất 25, ít nhất 26, hoặc ít nhất 27 nucleotit liên tiếp của phân tử mARN mã hóa protein GA20 oxidaza nội sinh ở cây một lá mầm hoặc ngũ cốc hoặc tế bào cây, protein GA20 oxidaza nội sinh tương đồng ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% với SEQ ID NO: 15, và trong đó trình tự ADN có thể phiên mã được liên kết theo kiểu hoạt động được với đoạn khởi đầu biểu hiện được ở thực vật.

Theo khía cạnh thứ tư, sáng chế đề xuất cấu trúc ADN tái tổ hợp gồm trình tự ADN có thể phiên mã mã hóa phân tử ARN không mã hóa, trong đó phân tử ARN không mã hóa gồm trình tự mà bổ sung ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% cho ít nhất 15, ít nhất 16, ít nhất 17, ít nhất 18, ít nhất 19, ít nhất 20, ít nhất 21, ít nhất 22, ít nhất 23, ít nhất 24, ít nhất 25, ít nhất 26, hoặc ít nhất 27 nucleotit liên tiếp của phân tử mARN mã hóa protein GA3 oxidaza nội sinh ở cây một lá mầm hoặc ngũ cốc hoặc tế bào cây, protein GA3 oxidaza nội sinh tương đồng

ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% với SEQ ID NO: 30 hoặc 33, và trong đó trình tự ADN có thể phiên mã được liên kết theo kiểu hoạt động được với đoạn khởi đầu biểu hiện được ở thực vật.

Theo khía cạnh thứ năm, sáng chế đề xuất cấu trúc ADN tái tổ hợp gồm trình tự ADN có thể phiên mã mã hóa phân tử ARN không mã hóa, trong đó phân tử ARN không mã hóa gồm trình tự mà bổ sung ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% cho ít nhất 15, ít nhất 16, ít nhất 17, ít nhất 18, ít nhất 19, ít nhất 20, ít nhất 21, ít nhất 22, ít nhất 23, ít nhất 24, ít nhất 25, ít nhất 26, hoặc ít nhất 27 nucleotit liên tiếp của phân tử mARN mã hóa protein GA20 oxidaza nội sinh ở cây một lá mầm hoặc ngũ cốc hoặc tế bào cây, protein GA20 oxidaza nội sinh tương đồng ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% với SEQ ID NO: 12, và trong đó trình tự ADN có thể phiên mã được liên kết theo kiểu hoạt động được với đoạn khởi đầu biểu hiện được ở thực vật.

Theo khía cạnh thứ sáu, sáng chế đề xuất cấu trúc ADN tái tổ hợp gồm trình tự ADN có thể phiên mã mã hóa phân tử ARN không mã hóa, trong đó phân tử ARN không mã hóa gồm trình tự mà bổ sung ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% cho ít nhất 15, ít nhất 16, ít nhất 17, ít nhất 18, ít nhất 19, ít nhất 20, ít nhất 21, ít nhất 22, ít nhất 23, ít nhất 24, ít nhất 25, ít nhất 26, hoặc ít nhất 27 nucleotit liên tiếp của phân tử mARN mã hóa protein nội sinh ở cây một lá mầm hoặc ngũ cốc hoặc tế bào cây, protein nội sinh tương đồng ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% với SEQ ID NO: 86, 90, 94, 97, 101, 104, 108, 112, 116, 118, 121, 125, 129, 133, hoặc 136, và trong đó trình tự ADN có thể phiên mã được liên kết theo kiểu hoạt động được với đoạn khởi đầu biểu hiện được ở thực vật. Theo một khía cạnh khác, sáng chế còn đề xuất vectơ biến nạp gồm cấu trúc ADN tái tổ hợp được mô tả ở đây. Theo một khía cạnh khác, sáng chế còn đề xuất cây một lá mầm hoặc ngũ cốc chuyển gen, bộ phận hoặc tế bào của cây gồm cấu trúc ADN tái tổ hợp được mô tả ở đây. Theo một khía cạnh, cây ngô chuyển gen, bộ phận hoặc tế bào của cây được đề xuất. Theo khía cạnh khác, phương pháp được đề xuất để tạo ra cây ngũ cốc chuyển

gen, bao gồm: (a) biến nạp ít nhất một tế bào của mảnh cấy bằng cấu trúc ADN tái tổ hợp được mô tả ở đây, và (b) tái sinh hoặc phát triển cây ngũ cốc chuyển gen từ mảnh cấy đã biến nạp. Theo khía cạnh khác, cây ngũ cốc được biến nạp bằng hạt bắn phá hoặc biến nạp qua trung gian *Agrobacterium*.

Theo khía cạnh thứ bảy, sáng chế đề xuất phương pháp làm giảm mức của ít nhất một phân tử GA hoạt động ở thân hoặc cuống của cây ngô hoặc ngũ cốc bao gồm: ức chế một hoặc nhiều gen GA3 oxidaza hoặc GA20 oxidaza bằng cấu trúc ADN tái tổ hợp ở một hoặc nhiều mô của cây ngô hoặc ngũ cốc chuyển gen.

Theo khía cạnh thứ tám, sáng chế đề xuất cây ngô hoặc ngũ cốc chuyển gen gồm cấu trúc ADN tái tổ hợp, trong đó cấu trúc ADN tái tổ hợp này gồm trình tự ADN có thể phiên mã mã hóa phân tử ARN không mã hóa mà nhắm đích ít nhất một gen GA20 hoặc GA3 oxidaza nội sinh để ức chế, trình tự ADN có thể phiên mã được liên kết theo kiểu hoạt động được với đoạn khởi đầu biểu hiện được ở thực vật, và trong đó cây một lá mầm hoặc ngũ cốc chuyển gen có chiều cao cây thấp hơn so với cây đối chứng kiểu dại.

Theo khía cạnh thứ chín, sáng chế đề xuất cây ngũ cốc gồm đột biến ở hoặc gần gen GA oxidaza nội sinh được đưa vào bởi kỹ thuật gây đột biến, trong đó mức độ biểu hiện của gen GA oxidaza nội sinh được làm giảm hoặc loại bỏ ở cây ngũ cốc, và trong đó cây ngũ cốc có chiều cao cây thấp hơn so với cây đối chứng kiểu dại.

Theo khía cạnh thứ mười, sáng chế đề xuất cây ngô hoặc ngũ cốc gồm sự chỉnh sửa hệ gen được đưa vào bằng kỹ thuật chỉnh sửa hệ gen đích ở hoặc gần vị trí gen của gen GA oxidaza nội sinh, trong đó mức độ biểu hiện của gen GA oxidaza nội sinh được làm giảm hoặc loại bỏ so với cây đối chứng, và trong đó cây ngũ cốc đã được chỉnh sửa có chiều cao cây thấp hơn so với cây đối chứng.

Theo khía cạnh thứ mười một, sáng chế đề xuất chế phẩm gồm ARN dẫn đường, trong đó ARN dẫn đường gồm trình tự dẫn đường mà tương đồng hoặc bổ sung ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 99%, hoặc 100% với ít nhất 10, ít nhất 11, ít nhất 12, ít nhất 13, ít nhất 14, ít nhất 15, ít nhất 16, ít nhất 17, ít nhất 18, ít nhất 19, ít nhất 20, ít nhất 21, ít nhất 22, ít nhất 23, ít nhất 24, hoặc ít nhất 25 nucleotit liên tiếp của trình tự ADN đích ở hoặc gần vị trí gen của gen GA oxidaza nội sinh của cây ngũ cốc. Theo một khía cạnh, chế phẩm còn gồm endonucleaza được dẫn đường bằng ARN.

Theo khía cạnh thứ mười hai, sáng chế đề xuất cấu trúc ADN tái tổ hợp gồm trình tự ADN có thể phiên mã mã hóa phân tử ARN dẫn đường không mã hóa, trong đó phân tử ARN dẫn đường gồm trình tự dẫn đường mà bổ sung ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 99% hoặc 100% cho ít nhất 10, ít nhất 11, ít nhất 12, ít nhất 13, ít nhất 14, ít nhất 15, ít nhất 16, ít nhất 17, ít nhất 18, ít nhất 19, ít nhất 20, ít nhất 21, ít nhất 22, ít nhất 23, ít nhất 24, hoặc ít nhất 25 nucleotit liên tiếp của trình tự ADN đích ở hoặc gần vị trí gen của gen GA oxidaza nội sinh của cây ngô hoặc ngũ cốc.

Theo khía cạnh thứ mười ba, sáng chế đề xuất khuôn mẫu ADN cho tái tổ hợp gồm ít nhất một trình tự tương đồng, trong đó ít nhất một trình tự tương đồng bổ sung ít nhất 70%, ít nhất 75%, ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 99% hoặc 100% cho ít nhất 20, ít nhất 25, ít nhất 30, ít nhất 35, ít nhất 40, ít nhất 45, ít nhất 50, ít nhất 60, ít nhất 70, ít nhất 80, ít nhất 90, ít nhất 100, ít nhất 150, ít nhất 200, ít nhất 250, ít nhất 500, ít nhất 1000, ít nhất 2500, hoặc ít nhất 5000 nucleotit liên tiếp của trình tự ADN đích, trong đó trình tự ADN đích là trình tự hệ gen ở hoặc gần vị trí gen của gen GA oxidaza nội sinh của cây ngô hoặc ngũ cốc.

Theo khía cạnh thứ mười bốn, sáng chế đề xuất khuôn mẫu ADN cho tái tổ hợp gồm hai nhánh tương đồng bao gồm nhánh tương đồng thứ nhất và nhánh tương đồng thứ hai, trong đó nhánh tương đồng thứ nhất gồm trình tự bổ sung ít nhất 70%, ít nhất 75%, ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 99% hoặc 100% cho ít nhất 20, ít nhất 25, ít nhất 30, ít nhất 35, ít nhất 40, ít nhất 45, ít nhất 50, ít nhất 60, ít nhất 70, ít nhất 80, ít nhất 90, ít nhất 100, ít nhất 150, ít nhất 200, ít nhất 250, ít nhất 500, ít nhất 1000, ít nhất 2500, hoặc ít nhất 5000 nucleotit liên tiếp của trình tự ADN biên thứ nhất, trong đó nhánh tương đồng thứ hai gồm trình tự bổ sung ít nhất 70%, ít nhất 75%, ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 99% hoặc 100% cho ít nhất 20, ít nhất 25, ít nhất 30, ít nhất 35, ít nhất 40, ít nhất 45, ít nhất 50, ít nhất 60, ít nhất 70, ít nhất 80, ít nhất 90, ít nhất 100, ít nhất 150, ít nhất 200, ít nhất 250, ít nhất 500, ít nhất 1000, ít nhất 2500, hoặc ít nhất 5000 nucleotit liên tiếp của trình tự ADN biên thứ hai, và trong đó trình tự ADN biên thứ nhất và trình tự ADN biên thứ hai là các trình tự hệ gen ở hoặc gần vị trí gen của gen GA oxidaza nội sinh của cây ngô hoặc ngũ cốc. Theo một khía cạnh, sáng chế còn đề xuất phân tử ADN hoặc vectơ gồm khuôn mẫu ADN cho tái tổ hợp được mô tả ở đây. Theo khía cạnh khác, sáng chế còn đề

xuất tế bào chủ hoặc vi khuẩn gồm khuôn mẫu ADN cho tái tổ hợp được mô tả ở đây. Theo khía cạnh khác, sáng chế còn đề xuất cây ngô hoặc ngũ cốc, bộ phận cây hoặc tế bào cây gồm cấu trúc ADN tái tổ hợp được mô tả ở đây.

Theo khía cạnh thứ mười lăm, sáng chế đề xuất nucleaza đặc hiệu vị trí được thao tác di truyền mà gắn kết với vị trí đích ở hoặc gần vị trí gen của gen GA oxidaza nội sinh của cây ngô hoặc ngũ cốc và gây ra sự phá vỡ hoặc đứt gãy sợi kép ở vị trí đích.

Theo khía cạnh thứ mười sáu, sáng chế đề xuất cấu trúc ADN tái tổ hợp gồm gen chuyển mã hóa nucleaza đặc hiệu vị trí, trong đó nucleaza đặc hiệu vị trí gắn kết với vị trí đích ở hoặc gần vị trí gen của gen GA oxidaza nội sinh của cây một lá mầm hoặc ngũ cốc và gây ra sự phá vỡ hoặc đứt gãy sợi kép ở vị trí đích.

Theo khía cạnh thứ mười bảy, sáng chế đề xuất phương pháp sản xuất cây ngô hoặc ngũ cốc chuyển gen, bao gồm: (a) biến nạp ít nhất một tế bào của mảnh cấy bằng khuôn mẫu ADN cho tái tổ hợp được mô tả ở đây, và (b) tái sinh hoặc phát triển cây ngô hoặc ngũ cốc chuyển gen từ mảnh cấy đã biến nạp, trong đó cây ngô hoặc ngũ cốc chuyển gen gồm trình tự gắn xen của khuôn mẫu ADN cho tái tổ hợp.

Theo khía cạnh thứ mười tám, sáng chế đề xuất phương pháp sản xuất cây ngô hoặc ngũ cốc có sự chỉnh sửa hệ gen ở hoặc gần gen GA oxidaza nội sinh, bao gồm: (a) đưa vào ít nhất một tế bào của mảnh cấy của cây ngô hoặc ngũ cốc nucleaza đặc hiệu vị trí hoặc một phân tử ADN tái tổ hợp gồm gen chuyển mã hóa nucleaza đặc hiệu vị trí, trong đó nucleaza đặc hiệu vị trí gắn kết với vị trí đích ở hoặc gần vị trí gen của gen GA oxidaza nội sinh và gây ra sự phá vỡ hoặc đứt gãy sợi kép ở vị trí đích, và (b) tái sinh hoặc phát triển cây ngô hoặc ngũ cốc đã được chỉnh sửa từ ít nhất một tế bào mảnh cấy gồm sự chỉnh sửa hệ gen ở hoặc gần gen GA oxidaza nội sinh của cây ngô hoặc ngũ cốc đã được chỉnh sửa.

Theo khía cạnh thứ mười chín, sáng chế đề xuất cây ngô biến đổi có chiều cao cây nhỏ hơn 2000 mm, nhỏ hơn 1950 mm, nhỏ hơn 1900 mm, nhỏ hơn 1850 mm, nhỏ hơn 1800 mm, nhỏ hơn 1750 mm, nhỏ hơn 1700 mm, nhỏ hơn 1650 mm, nhỏ hơn 1600 mm, nhỏ hơn 1550 mm, nhỏ hơn 1500 mm, nhỏ hơn 1450 mm, nhỏ hơn 1400 mm, nhỏ hơn 1350 mm, nhỏ hơn 1300 mm, nhỏ hơn 1250 mm, nhỏ hơn 1200 mm, nhỏ hơn 1150 mm, nhỏ hơn 1100 mm, nhỏ hơn 1050 mm, hoặc nhỏ hơn 1000 mm, và một hoặc nhiều (i)

đường kính thân hoặc cuống trung bình lớn hơn 18 mm, lớn hơn 18,5 mm, lớn hơn 19 mm, lớn hơn 19,5 mm, lớn hơn 20 mm, lớn hơn 20,5 mm, lớn hơn 21 mm, lớn hơn 21,5 mm, hoặc lớn hơn 22 mm, (ii) khả năng chống đổ được cải thiện so với cây đối chứng kiểu dại, hoặc (iii) khả năng chịu hạn hán được cải thiện so với cây đối chứng kiểu dại.

Theo khía cạnh thứ hai mươi, sáng chế đề xuất cây ngũ cốc biến đổi có chiều cao cây giảm so với cây đối chứng kiểu dại, và (i) đường kính thân hoặc cuống tăng so với cây đối chứng kiểu dại, (ii) khả năng chống đổ được cải thiện so với cây đối chứng kiểu dại, hoặc (iii) khả năng chịu hạn hán được cải thiện so với cây đối chứng kiểu dại.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

FIG. 1 thể hiện chiều cao cây giảm của cây ngô thuần biểu hiện cấu trúc ức chế GA20 oxidaza qua tám sự kiện biến nạp khi so với các cây đối chứng thuần;

FIG. 2A thể hiện chiều cao cây giảm tính theo trung bình các cây ngô lai biểu hiện cấu trúc ức chế GA20 oxidaza khi so với các cây lai đối chứng;

FIG. 2B thể hiện hình ảnh của cây lai đối chứng kiểu dại (bên trái) bên cạnh cây ngô lai biểu hiện cấu trúc ức chế GA20 oxidaza (bên phải) có chiều cao cây giảm;

FIG. 3A thể hiện đường kính thân tăng tính theo trung bình các cây ngô lai biểu hiện cấu trúc ức chế GA20 oxidaza khi so với các cây lai đối chứng;

FIG. 3B thể hiện hình ảnh mặt cắt của thân cây lai đối chứng kiểu dại (bên trái) bên cạnh mặt cắt của thân cây ngô lai biểu hiện cấu trúc ức chế GA20 oxidaza (bên phải) có đường kính thân tăng;

FIG. 4 thể hiện trọng lượng bắp tươi tính theo trung bình các cây ngô lai biểu hiện cấu trúc ức chế GA20 oxidaza khi so với các cây lai đối chứng;

FIG. 5 thể hiện trọng lượng bắp tươi tăng tính theo trung bình các cây ngô lai biểu hiện cấu trúc ức chế GA20 oxidaza trong hai thí nghiệm trên cánh đồng khi so với các cây lai đối chứng kiểu dại đáp ứng với sự kiện gió gây ra hiện tượng đổ nhiều ở các cây lai đối chứng;

FIG. 6 thể hiện chỉ số thu hoạch tăng của các cây ngô lai biểu hiện cấu trúc ức chế GA20 oxidaza khi so với các cây lai đối chứng;

FIG. 7 thể hiện sự đánh giá năng suất hạt trung bình tăng của các cây ngô lai biểu hiện cấu trúc ức chế GA20 oxidaza khi so với các cây lai đối chứng;

FIG. 8 thể hiện điểm năng suất tăng tính theo trung bình các cây ngô lai biểu hiện cấu trúc ức chế GA20 oxidaza khi so với các cây lai đối chứng;

FIG. 9 thể hiện sự thay đổi về chiều cao cây theo thời gian trong các giai đoạn phát triển V11 đến R1 giữa các cây ngô chuyển gen và đối chứng;

FIG. 10 thể hiện biểu đồ so sánh các lần đo tỷ lệ chất đồng vị oxy ổn định ($\delta^{18}O$) ở dạng dấu hiệu về độ dẫn khí khổng và hàm lượng nước ở mô lá ở giai đoạn R5 giữa các cây ngô chuyển gen và đối chứng;

FIG. 11 thể hiện biểu đồ so sánh tốc độ đầu rễ trong các giai đoạn phát triển V10 đến R2 giữa các cây chuyển gen và đối chứng ở cả điều kiện SAP và HD bằng cách sử dụng cảm biến tại các độ sâu đất khác nhau mà phát hiện sự thay đổi về hàm lượng nước cho thấy sự có mặt của rễ ở độ sâu đó;

FIG. 12A thể hiện sự chênh lệch về độ dẫn khí khổng vào buổi sáng và buổi chiều giữa các cây ngô chuyển gen và đối chứng dưới điều kiện bình thường và hạn hán trong nhà kính;

FIG. 12B thể hiện sự chênh lệch về quá trình quang hợp vào buổi sáng và buổi chiều giữa các cây ngô chuyển gen và đối chứng dưới điều kiện bình thường và hạn hán trong nhà kính;

FIG. 13A thể hiện sự chênh lệch về mức độ biểu hiện miARN ở mô thân lớn, hoặc mô thân mạch và không mạch riêng biệt, của cây ngô chuyển gen so với đối chứng; và

FIG. 13B thể hiện sự chênh lệch về mức độ biểu hiện bản phiên mã mARN GA20 oxidaza_3 và GA20 oxidaza_5 ở mô thân lớn, hoặc mô thân mạch và không mạch riêng biệt, của cây ngô chuyển gen so với đối chứng.

Mô tả chi tiết sáng chế

Các định nghĩa

Để tạo điều kiện thuận lợi cho việc hiểu phần mô tả, một số thuật ngữ và chữ viết tắt như được sử dụng ở đây được định nghĩa dưới đây như sau:

Thuật ngữ "và/hoặc" khi được sử dụng trong danh sách gồm hai hoặc nhiều mục, nghĩa là một mục bất kỳ trong các mục được liệt kê có thể được sử dụng một mình hoặc kết hợp với một hoặc nhiều mục bất kỳ trong số các mục được liệt kê. Ví dụ, thuật ngữ "A và/hoặc B" được hiểu là một hoặc cả hai trong số A và B – tức là, một mình A, một mình B, hoặc A và B kết hợp. Thuật ngữ "A, B và/hoặc C" được hiểu là một mình A, một mình B, một mình C, A và B kết hợp, A và C kết hợp, B và C kết hợp, hoặc A, B, và C kết hợp.

Thuật ngữ "khoảng" như được sử dụng ở đây, được dự định để xác định giá trị số mà nó biến đổi, chỉ rõ giá trị này là biến đổi trong giới hạn sai số. Khi không có giới hạn sai số cụ thể, như sai lệch chuẩn đối với giá trị trung bình, được nêu ra, thuật ngữ "khoảng" cần được hiểu là khoảng mà bao gồm giá trị được nêu và khoảng mà được bao gồm bởi sự làm tròn lên hoặc xuống với con số đó, tính đến các con số có nghĩa.

Thuật ngữ "cây ngũ cốc" như được sử dụng ở đây chỉ cây một lá mầm (monocot) mà thuộc họ cây thân cỏ *Poaceae* hoặc *Gramineae* và thường được thu hoạch hạt, bao gồm, ví dụ, lúa mì, ngô, lúa, kê, lúa mạch, lúa miến, yến mạch và lúa mạch đen.

Các thuật ngữ "tỷ lệ phần trăm tương đồng" hoặc "phần trăm tương đồng" như được sử dụng ở đây đề cập đến hai hoặc nhiều trình tự nucleotit hoặc protein được tính toán bằng cách (i) so sánh hai trình tự được sắp thẳng hàng tối ưu (nucleotit hoặc protein) bằng cửa sổ so sánh, (ii) xác định số vị trí mà tại đó nền axit nucleic tương đồng (cho trình tự nucleotit) hoặc gốc axit amin (cho protein) xuất hiện ở cả hai trình tự để tạo ra số lượng các vị trí ghép phù hợp, (iii) chia số lượng các vị trí ghép phù hợp cho tổng số vị trí trong cửa sổ so sánh, và sau đó (iv) nhân thương này với 100% để thu được tỷ lệ phần trăm tương đồng. Với mục đích tính toán "tỷ lệ phần trăm tương đồng" giữa trình tự ADN và ARN, uracil (U) của trình tự ARN được coi là tương đồng với thymin (T) của trình tự ADN. Nếu cửa sổ so sánh được xác định là vùng sắp thẳng hàng giữa hai hoặc nhiều trình tự (tức là, loại trừ các nucleotit ở đầu 5' và 3' của trình tự polynucleotit được sắp thẳng hàng, hoặc axit amin ở đầu tận cùng N và đầu tận cùng C của trình tự protein được sắp thẳng hàng, mà không tương đồng giữa các trình tự được so sánh), thì "tỷ lệ phần trăm tương đồng" còn có thể được gọi là "tỷ lệ phần trăm tương đồng khi sắp thẳng hàng". Nếu "tỷ lệ phần trăm tương đồng" được tính toán so với trình tự viện dẫn mà không cần xác định cửa sổ so sánh cụ thể, thì tỷ lệ phần trăm tương đồng được xác định bằng cách chia số vị trí được ghép phù hợp trên vùng sắp thẳng hàng cho tổng chiều dài của trình tự viện dẫn. Do đó,

với mục đích của phần mô tả này, khi hai trình tự (nghi vấn và đối tượng) được sắp thẳng hàng một cách tối ưu (cho phép các khe hở trong quá trình sắp thẳng hàng chúng), thì "tỷ lệ phần trăm tương đồng" đối với trình tự truy vấn là bằng số vị trí tương đồng giữa hai trình tự được chia cho tổng số vị trí trong trình tự truy vấn theo chiều dài của nó (hoặc cửa sổ so sánh, sau đó nhân với 100%.

Thừa nhận rằng các vị trí gốc của protein mà không tương đồng thường khác bởi sự thay thế axit amin bảo toàn, trong đó các gốc axit amin được thế cho các gốc axit amin khác có kích thước và tính chất hóa học tương tự (ví dụ, điện tích, tính kị nước, tính phân cực, v.v.), và do đó không thể thay đổi các đặc tính chức năng của phân tử. Khi các trình tự khác nhau ở sự thay thế bảo toàn, tỷ lệ phần trăm tương tự của trình tự có thể được điều chỉnh nhằm hiệu chỉnh đối với bản chất bảo toàn của (các) thay thế không tương đồng. Các trình tự mà khác bởi sự thay thế bảo toàn như vậy được cho là có "tính tương tự trình tự" hoặc "tính tương tự." Do đó, "tỷ lệ phần trăm tương tự" hoặc "phần trăm tương tự" như được sử dụng ở đây khi nói đến hai hoặc nhiều trình tự protein được tính toán bằng cách (i) so sánh hai trình tự protein được sắp thẳng hàng tối ưu bằng cửa sổ so sánh, (ii) xác định số vị trí mà tại đó gốc axit amin giống nhau hoặc tương tự xuất hiện ở cả hai trình tự để tạo ra số lượng các vị trí ghép phù hợp, (iii) chia số lượng các vị trí ghép phù hợp cho tổng số vị trí trong cửa sổ so sánh (hoặc tổng chiều dài của protein viện dẫn hoặc nói đến nếu cửa sổ so sánh không được xác định), và sau đó (iv) nhân thương này với 100% để thu được tỷ lệ phần trăm tương tự. Sự thay thế axit amin bảo toàn đối với protein là đã biết trong lĩnh vực này.

Để sắp thẳng hàng tối ưu các trình tự để tính toán tỷ lệ phần trăm tương đồng hoặc tương tự của chúng, các thuật toán và chương trình sắp thẳng hàng trình tự theo cặp hoặc đa trình tự khác nhau là đã biết trong lĩnh vực này, như ClustalW, hoặc Basic Local Alignment Search Tool® (BLAST®), v.v., mà có thể được sử dụng để so sánh mức tương đồng hoặc tương tự trình tự giữa hai hoặc nhiều trình tự nucleotit hoặc protein. Mặc dù các phương pháp so sánh và sắp thẳng hàng khác là đã biết trong lĩnh vực này, song sự sắp thẳng hàng giữa hai trình tự (bao gồm các khoảng tỷ lệ phần trăm tương đồng nêu trên) có thể là như được xác định bởi thuật toán ClustalW hoặc BLAST®, ví dụ xem, Chenna R. và đồng tác giả, "Multiple sequence alignment with the Clustal series of programs," *Nucleic Acids Research* 31: 3497-3500 (2003); Thompson JD và đồng tác giả, "Clustal W:

Improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice," *Nucleic Acids Research* 22: 4673-4680 (1994); và Larkin MA và đồng tác giả, "Clustal W and Clustal X version 2.0," *Bioinformatics* 23: 2947-48 (2007); và Altschul, S.F., Gish, W., Miller, W., Myers, E.W. & Lipman, D.J. (1990) "Basic local alignment search tool." *J. Mol. Biol.* 215:403-410 (1990), được đưa vào đây bằng cách viện dẫn.

Các thuật ngữ "tỷ lệ phần trăm bổ sung" hoặc "phần trăm bổ sung", như được sử dụng ở đây khi đề cập đến hai trình tự nucleotit, là tương tự với khái niệm tỷ lệ phần trăm tương đồng nhưng dùng để chỉ tỷ lệ phần trăm nucleotit của trình tự truy vấn mà bắt cặp bazơ hoặc lai tối ưu với các nucleotit của trình tự đối tượng khi trình tự truy vấn và trình tự đối tượng được sắp thẳng hàng và bắt cặp bazơ tối ưu mà không cần cấu trúc gấp nếp thứ hai, như vòng, thân hoặc kẹp tóc. Tỷ lệ phần trăm bổ sung này có thể là ở giữa hai sợi ADN, hai sợi ARN, hoặc sợi ADN và sợi ARN. "Tỷ lệ phần trăm bổ sung" được tính toán bằng (i) bắt cặp bazơ hoặc lai tối ưu hai trình tự nucleotit theo dạng sắp xếp kéo dài thẳng và đầy đủ (tức là, không có cấu trúc gấp nếp hoặc bậc hai) trong cửa sổ so sánh, (ii) xác định số vị trí mà cặp bazơ ở giữa hai trình tự này trong cửa sổ so sánh để thu được số vị trí bổ trợ, (iii) chia số vị trí bổ trợ cho tổng số vị trí trong cửa sổ so sánh, và (iv) nhân thương này với 100% để thu được tỷ lệ phần trăm bổ sung của hai trình tự này. Sự bắt cặp bazơ tối ưu của hai trình có thể được xác định dựa vào cách bắp cặp đã biết của các bazơ nucleotit, như G-C, A-T, và A-U, nhờ liên kết hydro. Nếu "tỷ lệ phần trăm bổ sung" được tính toán liên quan đến trình tự viện dẫn mà không xác định cửa sổ so sánh cụ thể, thì tỷ lệ phần trăm tương đồng được xác định bằng cách chia số vị trí bổ trợ giữa hai trình tự thẳng cho tổng chiều dài của trình tự viện dẫn. Do đó, đối với các mục đích của sáng chế, khi hai trình tự (truy vấn và đối tượng) được bắt cặp bazơ tối ưu (với sự cho phép đối với nucleotit không bắt cặp bazơ hoặc không tương xứng mà không có cấu trúc gấp nếp hoặc bậc hai), thì "tỷ lệ phần trăm bổ sung" đối với trình tự truy vấn là bằng với số vị trí được bắt cặp bazơ giữa hai trình tự được chia cho tổng số vị trí trong trình tự truy vấn trên chiều dài của nó (hoặc cho số vị trí trong trình tự truy vấn trên cửa sổ so sánh), sau đó nhân với 100%.

Thuật ngữ "được liên kết theo kiểu hoạt động được" dùng để chỉ liên kết chức năng giữa đoạn khởi đầu hoặc yếu tố điều hòa khác và trình tự ADN có thể phiên mã liên kết hoặc trình tự mã hóa gen (hoặc gen chuyển), sao cho đoạn khởi đầu, v.v., hoạt động

hoặc thực hiện chức năng khởi phát, trợ giúp, tác động, gây ra, và/hoặc thúc đẩy sự phiên mã và biểu hiện trình tự trình tự ADN có thể phiên mã liên kết hoặc trình tự mã hóa, ít nhất ở (các) tế bào, (các) mô, (các) giai đoạn phát triển, và/hoặc (các) điều kiện.

Thuật ngữ "đoạn khởi đầu biểu hiện được ở thực vật" dùng để chỉ đoạn khởi đầu mà có thể khởi phát, trợ giúp, tác động, gây ra, và/hoặc thúc đẩy sự phiên mã và biểu hiện trình tự ADN có thể phiên mã liên kết, trình tự mã hóa hoặc gen ở mô hoặc tế bào cây.

Thuật ngữ "khác loại" khi đề cập đến trình tự khởi đầu hoặc điều hòa khác liên quan đến trình tự polynucleotit liên kết (ví dụ, trình tự ADN có thể phiên mã hoặc trình tự mã hóa hoặc gen) là trình tự khởi đầu hoặc điều hòa mà không được liên kết theo kiểu hoạt động được với trình tự polynucleotit liên kết này trong tự nhiên – ví dụ, trình tự khởi đầu hoặc điều hòa có nguồn gốc khác nhau so với trình tự polynucleotit liên kết và/hoặc trình tự khởi đầu hoặc điều hòa không tồn tại trong tự nhiên ở các loài thực vật cần được biến nạp bằng trình tự khởi đầu hoặc điều hòa.

Thuật ngữ "tái tổ hợp" khi đề cập đến phân tử, protein, cấu trúc, vectơ, v.v. polynucleotit (ADN hoặc ARN), dùng để chỉ phân tử hoặc trình tự polynucleotit hoặc protein mà do con người tạo ra và thường không được thấy trong tự nhiên, và/hoặc có mặt trong ngữ cảnh trong đó nó thường không được thấy trong tự nhiên, bao gồm phân tử, protein, cấu trúc, v.v. polynucleotit (ADN hoặc ARN), gồm sự kết hợp của hai hoặc nhiều trình tự polynucleotit hoặc protein mà không tồn tại trong tự nhiên cùng nhau theo cùng một cách mà không có sự can thiệp của con người, như phân tử, protein, cấu trúc, v.v. polynucleotit, gồm ít nhất hai trình tự polynucleotit hoặc protein mà được liên kết theo kiểu hoạt động được nhưng khác loại với nhau. Ví dụ, thuật ngữ "tái tổ hợp" có thể dùng để chỉ sự kết hợp bất kỳ của hai hoặc nhiều trình tự ADN hoặc protein trong cùng một phân tử (ví dụ, plasmid, cấu trúc, vectơ, nhiễm sắc thể, protein, v.v.) trong đó sự kết hợp này được tạo ra bởi con người và thường không được thấy trong tự nhiên. Như được sử dụng trong định nghĩa này, cụm từ "thường không được thấy trong tự nhiên" nghĩa là không được thấy trong tự nhiên mà không có sự đưa vào của con người. Phân tử, cấu trúc polynucleotit hoặc protein tái tổ hợp, v.v., có thể gồm (các) trình tự polynucleotit hoặc protein mà (i) được tách từ (các) trình tự polynucleotit hoặc protein khác mà tồn tại gần nhau trong tự nhiên, và/hoặc (ii) liền kề với (hoặc sát với) (các) trình tự polynucleotit hoặc protein khác mà không ở gần nhau trong tự nhiên. Phân tử, protein, cấu trúc polynucleotit, v.v. như vậy,

còn có thể dùng để chỉ phân tử hoặc trình tự polynucleotit hoặc protein mà đã được thao tác di truyền và/hoặc được tạo ra bên ngoài tế bào. Ví dụ, phân tử ADN tái tổ hợp có thể gồm plasmid, vectơ, v.v. được thao tác di truyền hoặc do con người tạo ra bất kỳ, và có thể gồm phân tử ADN thẳng hoặc vòng. Các plasmid, vectơ, v.v. như vậy, có thể chứa các yếu tố duy trì khác nhau bao gồm gốc sao chép chưa có nhân điển hình và gen đánh dấu chọn lọc, cũng như một hoặc nhiều gen chuyển hoặc catxet biểu hiện có thể, ngoài gen đánh dấu chọn lọc thực vật, v.v..

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "được phân lập" dùng để chỉ ít nhất là sự tách một phần phân tử từ các phân tử khác thường kết hợp với nó ở trạng thái tự nhiên của nó. Theo một phương án, thuật ngữ "được phân lập" dùng để chỉ phân tử ADN được tách từ axit nucleic thường ở biên phân tử ADN ở trạng thái tự nhiên của nó. Ví dụ, phân tử ADN mã hóa protein thường có mặt ở vi khuẩn có thể là phân tử ADN đã được phân lập nếu nó không có trong ADN của vi khuẩn mà từ đó phân tử ADN mã hóa protein không được thấy trong tự nhiên. Do đó, phân tử ADN được dung hợp hoặc được liên kết theo kiểu hoạt động được với một hoặc nhiều (các) phân tử ADN khác mà nó không được kết hợp trong tự nhiên, ví dụ là kết quả của các kỹ thuật biến nạp thực vật hoặc ADN tái tổ hợp, được coi là được phân lập ở đây. Các phân tử này được coi là được phân lập ngay cả khi được hợp nhất vào nhiễm sắc thể của tế bào chủ hoặc có mặt trong dung dịch axit nucleic với các phân tử ADN khác.

Như được sử dụng ở đây, "vùng mã hóa" hoặc "vùng mã hóa" dùng để chỉ phần polynucleotit mã hóa đơn vị hoặc phân tử chức năng (ví dụ, mà không giới hạn, mARN, protein, hoặc phân tử hoặc trình tự ARN không mã hóa).

Như được sử dụng ở đây, "biến đổi" trong ngữ cảnh cây, hạt giống cây, bộ phận cây, tế bào cây, và/hoặc hệ gen cây, dùng để chỉ cây, hạt giống cây, bộ phận cây, tế bào cây, và/hoặc hệ gen cây gồm sự thay đổi bằng thao tác di truyền đối với mức biểu hiện và/hoặc trình tự mã hóa của một hoặc nhiều (các) gen GA oxidaza liên quan đến cây đối chứng hoặc kiểu dại, hạt giống cây, bộ phận cây, tế bào cây, và/hoặc hệ gen cây, như bằng (A) sự kiện chuyển gen gồm cấu trúc ức chế hoặc trình tự ADN có thể phiên mã mã hóa ARN không mã hóa nhắm đích một hoặc nhiều gen GA3 và/hoặc GA20 oxidaza để ức chế, hoặc (B) sự kiện chỉnh sửa hệ gen hoặc đột biến ảnh hưởng (ví dụ, làm giảm hoặc loại bỏ) đến mức biểu hiện hoặc hoạt tính của một hoặc nhiều gen GA3 và/hoặc GA20 oxidaza nội

sinh. Thật vậy, thuật ngữ "biến đổi" còn có thể dùng để chỉ cây, hạt giống cây, bộ phận cây, tế bào cây, và/hoặc hệ gen cây có một hoặc nhiều đột biến ảnh hưởng đến sự biểu hiện của một hoặc nhiều gen GA oxidaza nội sinh, như một hoặc nhiều gen GA3 và/hoặc GA20 oxidaza nội sinh, được đưa vào thông qua đột biến hóa học, cắt hoặc gắn gen nhảy, hoặc kỹ thuật gây đột biến đã biết bất kỳ khác, hoặc được đưa vào nhờ sự chỉnh sửa hệ gen. Do đó, để làm rõ, cây biến đổi, hạt giống cây, bộ phận cây, tế bào cây, và/hoặc hệ gen cây bao gồm cây đột biến, được chỉnh sử và/hoặc chuyển gen, hạt giống cây, bộ phận cây, tế bào cây, và/hoặc hệ gen cây có mức biểu hiện, kiểu biểu hiện, và/hoặc trình tự mã hóa của một hoặc nhiều (các) gen GA oxidaza được biến đổi so với cây đối chứng hoặc kiểu dại, hạt giống cây, bộ phận cây, tế bào cây, và/hoặc hệ gen cây. Cây hoặc hạt giống biến đổi có thể chứa các thay đổi phân tử khác nhau mà ảnh hưởng đến sự biểu hiện của (các) gen GA oxidaza, như (các) gen GA3 và/hoặc GA20 oxidaza, bao gồm biến đổi về di truyền và/hoặc biểu sinh. Cây biến đổi, bộ phân cây, hạt giống, v.v., có thể được gây đột biến, chỉnh sửa hệ gen hoặc tích hợp hướng vị trí (ví dụ, mà không giới hạn, bằng các phương pháp sử dụng nucleaza đặc hiệu vị trí), biến nạp di truyền (ví dụ, mà không giới hạn, bằng các phương pháp biến nạp *Agrobacterium* hoặc bắn hạt chiếu ảnh), hoặc sự kết hợp của chúng. Cây "biến đổi", hạt giống cây, bộ phận cây, và tế bào cây bao gồm cây, hạt giống cây, bộ phận cây, và tế bào cây là con cháu hoặc có nguồn gốc từ cây "biến đổi", hạt giống cây, bộ phận cây, và tế bào cây mà vẫn giữ sự thay đổi phân tử (ví dụ, sự thay đổi về mức biểu hiện và/hoặc hoạt tính) đối với một hoặc nhiều gen GA oxidaza. Hạt giống biến đổi được đề xuất ở đây có thể tạo ra cây biến đổi được đề xuất ở đây. Cây biến đổi, hạt giống cây, bộ phận cây, tế bào cây, hoặc hệ gen cây được đề xuất ở đây có thể gồm vectơ hoặc sự chỉnh sửa hệ gen hoặc cấu trúc ADN tái tổ hợp như được đề xuất ở đây. "Sản phẩm cây biến đổi" có thể là sản phẩm bất kỳ được tạo ra từ cây biến đổi, bộ phận cây, tế bào cây, hoặc nhiễm sắc thể của cây được đề xuất ở đây, hoặc phần hoặc bộ phận bất kỳ của chúng.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "cây đối chứng" (hoặc tương tự là hạt giống cây, bộ phận cây, tế bào cây và/hoặc hệ gen cây "đối chứng") dùng để chỉ cây (hoặc hạt giống cây, bộ phận cây, tế bào cây và/hoặc hệ gen cây) được dùng để so sánh với cây biến đổi (hoặc hạt giống cây, bộ phận cây, tế bào cây và/hoặc hệ gen cây biến đổi) và có cơ sở di truyền tương tự hoặc giống (ví dụ, cùng dòng bố mẹ, lai chéo, dòng thuần, dòng thử nghiệm, v.v.) với cây biến đổi (hoặc hạt giống cây, bộ phận cây, tế bào cây và/hoặc hệ gen cây), ngoại trừ (các) sự kiện chuyển gen và/hoặc chỉnh sửa hệ gen ảnh hưởng đến một hoặc

nhiều gen GA oxidaza. Ví dụ, cây đối chứng có thể là dòng thuần mà giống như dòng thuần được dùng để tạo ra cây biến đổi, hoặc cây đối chứng có thể là sản phẩm của cùng sự lai chéo các dòng bố mẹ thuần với cây biến đổi, ngoại trừ việc vắng mặt ở cây đối chứng của (các) sự kiện chuyển gen hoặc chỉnh sửa hệ gen bất kỳ ảnh hưởng đến một hoặc nhiều gen GA oxidaza. Với mục đích so sánh với cây biến đổi, hạt giống cây, bộ phận cây, tế bào cây và/hoặc hệ gen cây, "cây kiểu dại" (hoặc tương tự là hạt giống cây, bộ phận cây, tế bào cây và/hoặc hệ gen cây "kiểu dại") dùng để chỉ cây đối chứng, hạt giống cây, bộ phận cây, tế bào cây và/hoặc hệ gen cây không chuyển gen và không chỉnh sửa hệ gen. Như được sử dụng ở đây, cây, hạt giống cây, bộ phận cây, tế bào cây và/hoặc hệ gen cây "đối chứng" còn có thể là cây, hạt giống cây, bộ phận cây, tế bào cây và/hoặc hệ gen cây có cơ sở gen tương tự (nhưng không giống nhau hoặc tương đồng) với cây, hạt giống cây, bộ phận cây, tế bào cây và/hoặc hệ gen cây biến đổi, nếu dường như là đủ tương tự để so sánh các đặc tính hoặc đặc điểm cần phân tích.

Như được sử dụng ở đây, "vị trí đích" để chỉnh sửa hệ gen dùng để chỉ vị trí của trình tự polynucleotit trong hệ gen cây mà được liên kết và phân cắt bởi nucleaza đặc hiệu vị trí đưa đoạn đứt sợi kép (hoặc đứt sợi đơn) vào khung axit nucleic của trình tự polynucleotit và/hoặc sợi ADN bổ trợ của nó. Vị trí đích có thể gồm ít nhất 10, ít nhất 11, ít nhất 12, ít nhất 13, ít nhất 14, ít nhất 15, ít nhất 16, ít nhất 17, ít nhất 18, ít nhất 19, ít nhất 20, ít nhất 21, ít nhất 22, ít nhất 23, ít nhất 24, ít nhất 25, ít nhất 26, ít nhất 27, ít nhất 29, hoặc ít nhất 30 nucleotit liền kề. "Vị trí đích" đối với nucleaza được dẫn đường bằng ARN có thể gồm trình tự của mỗi sợi bổ trợ của nhiễm sắc thể hoặc phân tử axit nucleic sợi kép (ADN) ở vị trí đích. Nucleaza đặc hiệu vị trí có thể gắn kết với vị trí đích, như bằng ARN dẫn đường không mã hóa (ví dụ, mà không giới hạn, ARN CRISPR (crARN) hoặc ARN dẫn đường đơn (sgARN) như được mô tả thêm dưới đây). ARN dẫn đường không mã hóa được đề xuất ở đây có thể bổ trợ cho vị trí đích (ví dụ, bổ trợ cho mỗi sợi của của nhiễm sắc thể hoặc phân tử axit nucleic sợi kép ở vị trí đích). Thấy rằng mức tương đồng hoặc bổ trợ hoàn hảo có thể không cần đối với ARN dẫn đường không mã hóa để gắn kết hoặc lai với vị trí đích. Ví dụ, ít nhất 1, ít nhất 2, ít nhất 3, ít nhất 4, ít nhất 5, ít nhất 6, ít nhất 7, hoặc ít nhất 8 sự bắt cặp sai (hoặc nhiều hơn) giữa vị trí đích và ARN không mã hóa có thể được cho phép. "Vị trí đích" còn dùng để chỉ vị trí của trình tự polynucleotit trong hệ gen mà được gắn kết và phân cắt bởi nucleaza đặc hiệu vị trí khác mà không thể được dẫn đường bởi phân tử ARN không mã hóa, như meganucleaza, nucleaza ngón tay

kẽm (nucleaza ngón tay kẽm-ZFN), hoặc nucleaza giống nhân tố kích hoạt phiên mã (TALEN), để đưa đoạn đứt sợi kép (hoặc đứt sợi đơn) vào trình tự polynucleotit và/hoặc sợi ADN bổ trợ của nó. Như được sử dụng ở đây, "vùng đích" hoặc "vùng nhắm đích" dùng để chỉ vùng hoặc trình tự polynucleotit được tạo biên bởi hai hoặc nhiều vị trí đích được chặn hai bên sườn bởi hai hoặc nhiều vị trí đích. Theo một vài phương án, mà không giới hạn, vùng đích có thể được xử lý bằng đột biến, bỏ đoạn, gắn xen hoặc đảo đoạn. Như được sử dụng ở đây, "được chặn hai bên sườn" khi được dùng để mô tả vùng đích của phân tử hoặc trình tự polynucleotit, dùng để chỉ hai hoặc nhiều vị trí đích của phân tử hoặc trình tự polynucleotit xung quanh vùng đích, với một vị trí đích ở mỗi bên của vùng đích. Ngoài sự chỉnh sửa hệ gen, thuật ngữ "vị trí đích" còn có thể được dùng trong ngữ cảnh ức chế gen để chỉ một phần của phân tử mARN (ví dụ, "vị trí nhận dạng") mà bổ trợ cho ít nhất một phần của phân tử ARN không mã hóa (ví dụ, miARN, siARN, v.v.) được mã hóa bởi cấu trúc ức chế.

Như được sử dụng ở đây, "phân tử cho", "khuôn mẫu cho", hoặc "phân tử khuôn mẫu cho" (gọi chung là "khuôn mẫu cho"), mà có thể là khuôn mẫu ADN cho tái tổ hợp, được định nghĩa là phân tử axit nucleic có khuôn mẫu axit nucleic hoặc trình tự gắn xen để gắn xen nhắm đích, hướng vị trí hoặc tái tổ hợp vào hệ gen của tế bào cây bằng sửa chữa đoạn đứt hoặc gãy ADN sợi kép trong hệ gen của tế bào cây. Ví dụ, "khuôn mẫu cho" có thể được sử dụng để hợp nhất hướng vị trí của cấu trúc ức chế hoặc gen chuyển, hoặc làm khuôn mẫu để đưa đột biến, như đoạn gắn xen, bỏ đoạn, v.v., vào vị trí đích trong hệ gen của cây. Kỹ thuật chỉnh sửa hệ gen đích được đề xuất ở đây có thể gồm sử dụng một hoặc nhiều, hai hoặc nhiều, ba hoặc nhiều, bốn hoặc nhiều, năm hoặc nhiều phân tử hoặc khuôn mẫu cho. "Khuôn mẫu cho" có thể là plasmid hoặc phân tử ADN hoặc ARN sợi đơn hoặc sợi kép. "Trình tự gắn xen" của khuôn mẫu cho là trình tự được tạo ra để gắn xen nhắm đích vào hệ gen của tế bào cây, mà có thể có chiều dài thích hợp bất kỳ. Ví dụ, trình tự gắn xen của khuôn mẫu cho có thể có chiều dài gồm từ 2 đến 50.000, từ 2 đến 10.000, từ 2 đến 5000, từ 2 đến 1000, từ 2 đến 500, từ 2 đến 250, từ 2 đến 100, từ 2 đến 50, từ 2 đến 30, từ 15 đến 50, từ 15 đến 100, từ 15 đến 500, từ 15 đến 1000, từ 15 đến 5000, từ 18 đến 30, từ 18 đến 26, từ 20 đến 26, từ 20 đến 50, từ 20 đến 100, từ 20 đến 250, từ 20 đến 500, từ 20 đến 1000, từ 20 đến 5000, từ 20 đến 10.000, từ 50 đến 250, từ 50 đến 500, từ 50 đến 1000, từ 50 đến 5000, từ 50 đến 10.000, từ 100 đến 250, từ 100 đến 500, từ 100 đến 1000, từ 100 đến 5000, từ 100 đến 10.000, từ 250 đến 500, từ 250 đến 1000, từ 250 đến 5000, hoặc từ

250 đến 10.000 nucleotit hoặc cặp bazơ. Khuôn mẫu cho có thể còn có ít nhất một trình tự tương đồng hoặc nhánh tương đồng, như hai nhánh tương đồng, để nhằm hợp nhất đột biến hoặc trình tự gắn xen vào vị trí đích trong hệ gen của cây thông qua sự tái tổ hợp tương đồng, trong đó trình tự tương đồng hoặc (các) nhánh tương đồng là tương đồng hoặc bổ trợ, hoặc có tỷ lệ phần trăm tương đồng hoặc tỷ lệ phần trăm bổ sung, với trình tự ở hoặc gần vị trí đích trong hệ gen của cây. Khi khuôn mẫu cho gồm (các) nhánh tương đồng và trình tự gắn xen, (các) nhánh tương đồng sẽ chặn hai bên sườn hoặc bao quanh trình tự gắn xen của khuôn mẫu cho.

Một trình tự gắn xen của khuôn mẫu cho có thể gồm một hoặc nhiều gen hoặc trình tự mà mỗi loại mã hóa một trình tự ARN hoặc mARN không mã hóa được phiên mã và/hoặc một trình tự protein được dịch mã. Một trình tự được phiên mã hoặc gen của khuôn mẫu cho có thể mã hóa protein hoặc phân tử ARN không mã hóa. Trình tự gắn xen của khuôn mẫu cho có thể gồm trình tự polynucleotit không bao gồm một gen chức năng hoặc toàn bộ trình tự gen (ví dụ, khuôn mẫu cho đơn giản có thể bao gồm các trình tự điều hòa, như một trình tự khởi đầu, hoặc chỉ là một phần của một gen hoặc trình tự mã hóa), hoặc có thể không chứa bất kỳ yếu tố biểu hiện gen có thể nhận dạng hoặc bất kỳ trình tự gen được sao chép tích cực. Hơn nữa, khuôn mẫu cho có thể là thẳng hoặc tròn và có thể là sợi đơn hoặc sợi kép. Khuôn mẫu cho có thể được phân phối đến tế bào dưới dạng axit nucleic trần (ví dụ, thông qua bắn phá hạt), dưới dạng phức hợp với một hoặc nhiều tác nhân phân phối (một ví dụ, liposome, protein, poloxame, sợi T được bao bằng protein, v.v. .), hoặc được chứa trong một chất dẫn phân phối vi khuẩn hoặc virut, chẳng hạn như, ví dụ, tương ứng là *Agrobacterium tumefaciens* hoặc geminivirut. Trình tự gắn xen của khuôn mẫu cho được đề xuất ở đây có thể gồm trình tự ADN có thể phiên mã mà có thể được phiên thành phân tử ARN, có thể là không mã hóa và có thể hoặc không thể được liên kết theo kiểu hoạt động được với trình tự khởi đầu và/hoặc trình tự điều hòa khác.

Theo một vài phương án, khuôn mẫu cho có thể không bao gồm một trình tự gắn xen, và thay vào đó bao gồm một hoặc nhiều trình tự tương đồng gồm một hoặc nhiều đột biến, như một sự gắn xen, xóa bỏ, thay thế, v.v., liên quan đến trình tự hệ gen tại vị trí đích trong hệ gen của thực vật, như ở hoặc gần gen GA3 oxidaza hoặc GA20 oxidaza trong hệ gen của thực vật. Theo cách khác, khuôn mẫu cho có thể gồm trình tự gắn xen mà không bao gồm trình tự ADN mã hóa hoặc có thể phiên mã được, trong đó trình tự gắn xen được

sử dụng để đưa một hoặc nhiều đột biến vào vị trí đích trong hệ gen của thực vật, như ở hoặc gần gen GA3 oxidaza hoặc GA20 oxidaza trong hệ gen của thực vật.

Khuôn mẫu cho được đề xuất ở đây có thể gồm ít nhất một, ít nhất hai, ít nhất ba, ít nhất bốn, ít nhất năm, ít nhất sáu, ít nhất bảy, ít nhất tám, ít nhất chín, hoặc ít nhất mười gen hoặc trình tự ADN có thể phiên mã. Ngoài ra, kiểu mẫu cho có thể không có gen. Không giới hạn, một gen hoặc trình tự ADN có thể phiên mã của khuôn mẫu cho có thể bao gồm, ví dụ, gen kháng thuốc trừ sâu, gen kháng thuốc diệt cỏ, gen hiệu quả sử dụng nitơ, gen hiệu quả sử dụng nước, gen chất lượng dinh dưỡng, gen gắn kết ADN, gen đánh dấu có thể lựa chọn gen, cấu trúc ARNi hoặc ức chế, gen enzym biến đổi hệ gen đặc hiệu vị trí, ARN dẫn đường duy nhất của hệ thống CRISPR/Cas9, catxet biểu hiện dựa trên geminivirut, hoặc hệ thống vectơ biểu hiện virut thực vật. Theo các phương án khác, trình tự gắn xen của khuôn mẫu cho có thể gồm trình tự ADN có thể phiên mã mà mã hóa phân tử ARN không mã hóa, có thể nhắm đích gen GA oxidaza, như gen GA3 oxidaza hoặc GA20 oxidaza, để ức chế. Khuôn mẫu cho có thể gồm đoạn khởi đầu, như đoạn khởi đầu đặc hiệu mô hoặc ưu tiên mô, đoạn khởi đầu cơ định, hoặc đoạn khởi đầu cảm ứng. Khuôn mẫu cho có thể gồm đoạn dẫn đầu, đoạn tăng cường, đoạn khởi đầu, vị trí bắt đầu phiên mã, 5'-UTR, một hoặc nhiều (các) exon, một hoặc nhiều (các) intron, vị trí kết thúc phiên mã, vùng hoặc trình tự, 3'-UTR, và/hoặc tín hiệu polyadenyl hóa. Đoạn dẫn đầu, đoạn tăng cường, và/hoặc đoạn khởi đầu có thể được liên kết theo kiểu hoạt động được với gen hoặc trình tự ADN có thể phiên mã mã hóa ARN không mã hóa, ARN dẫn đường, mARN và/hoặc protein.

Như được sử dụng ở đây, "đoạn khởi đầu mạch" dùng để chỉ đoạn khởi đầu biểu hiện được ở thực vật mà điều khiển, gây ra hoặc khởi phát sự biểu hiện của trình tự ADN có thể phiên mã hoặc gen chuyển được liên kết theo kiểu hoạt động được với đoạn khởi đầu này trong một hoặc nhiều (các) mô mạch của cây, ngay cả khi đoạn khởi đầu cũng được biểu hiện trong (các) mô hoặc (các) tế bào thực vật không có mạch khác. (Các) mô mạch như vậy có thể gồm một hoặc nhiều libe, nhu mô mạch, và/hoặc (các) tế bào vỏ bọc hoặc (các) mô của cây. "Đoạn khởi đầu mạch" được phân biệt với đoạn khởi đầu cơ định ở chỗ nó có khuôn kiểu biểu hiện được điều hòa và tương đối giới hạn hơn gồm một hoặc nhiều (các) mô mạch của cây. Đoạn khởi đầu mạch gồm cả đoạn khởi đầu đặc hiệu mạch và đoạn khởi đầu ưu tiên mạch.

Như được sử dụng ở đây, "đoạn khởi đầu của lá" dùng để chỉ đoạn khởi đầu biểu hiện được ở thực vật mà điều khiển, gây ra hoặc khởi phát sự biểu hiện của trình tự ADN có thể phiên mã hoặc gen chuyển có thể được liên kết theo kiểu hoạt động được với đoạn khởi đầu này trong một hoặc nhiều (các) mô của lá cây, ngay cả khi đoạn khởi đầu này cũng được biểu hiện trong (các) mô hoặc (các) tế bào thực vật không phải lá khác. Đoạn khởi đầu của lá bao gồm cả đoạn khởi đầu đặc hiệu lá và đoạn khởi đầu ưu tiên lá. "Đoạn khởi đầu của lá" được phân biệt với đoạn khởi đầu mạch ở chỗ nó được biểu hiện chủ yếu hoặc độc quyền ở (các) mô lá của cây so với các mô thực vật khác, trong khi đó đoạn khởi đầu mạch được biểu hiện ở (các) mô mạch thường gồm (các) mô mạch bên ngoài lá, như (các) mô mạch của thân, hoặc thân và lá, của cây.

Mô tả

Hầu hết các loại cây thân cỏ tạo hạt, như lúa mì, lúa và lúa miến, tạo ra cả cấu trúc đực và cái trong mỗi bông hoa của chùy (tức là chúng có cấu trúc sinh sản duy nhất). Tuy nhiên, ngô hoặc bắp là duy nhất trong số các loại cây thân cỏ tạo hạt ở chỗ nó tạo thành các cụm hoa đực (cờ) và cái (bắp) riêng biệt. Ngô tạo ra các cấu trúc sinh sản hoàn toàn lưỡng tính bằng cách rụng có chọn lọc các cơ quan đực (bao phấn) trong hoa của bắp và các cơ quan cái (noãn) trong các hoa của cờ trong giai đoạn đầu phát triển. Quá trình tổng hợp và truyền tín hiệu gibberellin được điều hòa chính xác là quan trọng để điều hòa quá trình rụng có chọn lọc này, với bắp sinh sản cái là nhạy nhất với sự gián đoạn trong con đường GA. Thật vậy, kiểu hình "bắp bao phấn" là kiểu hình sinh sản phổ biến nhất trong các đột biến ngô GA.

Khác với ngô, các đột biến trong con đường tổng hợp và truyền tín hiệu gibberellin mà dẫn tới "Cuộc cách mạng xanh" ở lúa mì, lúa và lúa miến có ít ảnh hưởng đến cấu trúc sinh sản của chúng vì những loài cây trồng này không trải qua quá trình rụng có chọn lọc của lớp vỏ mang hạt trong quá trình phát triển, và do đó không nhạy với sự gián đoạn các mức GA. Các đột biến tương tự đã không được sử dụng trên ngô vì sự gián đoạn của quá trình tổng hợp và truyền tín hiệu GA lặp lại dẫn đến sự biến dạng và đực tính của bắp (bắp bao phấn) và tính không sinh sản (phá vỡ sự phát triển của bao phấn và tiểu bào tử) ở cờ, ngoài tình trạng cực lùn ở một số trường hợp. Ví dụ, xem, Chen, Y. và đồng tác giả, "The Maize *DWARF1* Encodes a Gibberellin 3-Oxidaza and Is Dual Localized to the Nucleus and Cytosol," *Plant Physiology* 166: 2028-2039 (2014). Những kiểu hình đột biến GA (sự khác dạng) trong ngô đã dẫn đến việc giảm đáng kể sự tạo hạt và giảm năng

suất. Hơn nữa, sự tạo bao phấn trong bắp làm tăng khả năng nhiễm nấm hoặc côn trùng, làm giảm chất lượng hạt được tạo ra trên các bắp đột biến đó. Việc nhân giống chuyển tiếp để phát triển các dòng ngô bán lùn đã không thành công và sự khác dạng sinh sản (cũng như tình trạng cực lùn) của các đột biến GA đã được thử thách để vượt qua. Do đó, những đột biến tương tự trong con đường GA dẫn đến cuộc cách mạng xanh ở các loại cây thân cỏ khác vẫn chưa thành công trên cây ngô.

Mặc dù có những khó khăn trước đây trong việc đạt được năng suất hạt cao hơn ở ngô thông qua điều khiển trên con đường GA, song các tác giả sáng chế đã phát hiện ra cách điều khiển mức GA trong cây ngô theo cách làm giảm tổng chiều cao của cây và gióng thân cây và tăng khả năng chống đổ, mà không gây ra sự khác dạng sinh sản trước đây liên quan đến đột biến của con đường GA ở ngô. Các bằng chứng khác chỉ ra rằng các cây ngô bán lùn hoặc chiều cao thấp còn có thể có một hoặc nhiều đặc điểm khác, bao gồm đường kính thân tăng, hiện tượng đứt gãy giảm, rễ sâu hơn, diện tích lá tăng, khép tán sớm hơn, độ dẫn khí khổng cao hơn, chiều cao bắp thấp hơn, hàm lượng nước ở lá tăng, khả năng chịu hạn hán được cải thiện, hiệu quả sử dụng nitơ tăng, hiệu quả sử dụng nước tăng, diện tích và hàm lượng anthoxyanin ở lá giảm dưới điều kiện áp lực bình thường hoặc hạn chế nitơ hoặc nước, trọng lượng bắp tăng, số lượng hạt tăng, trọng lượng hạt tăng, sản lượng tăng, và/hoặc chỉ số thu hoạch tăng.

Không bị giới hạn bởi lý thuyết, đề xuất rằng việc ức chế không hoàn toàn (các) gen GA20 hoặc GA3 oxidaza và/hoặc nhắm đích kiểu phụ của một hoặc nhiều gen GA oxidaza có thể có hiệu quả trong việc đạt được kiểu hình chiều cao thấp, bán lùn với khả năng chống đổ tăng, mà không có sự khác dạng sinh sản ở bắp. Không bị giới hạn bởi lý thuyết, còn đề xuất rằng, việc hạn chế sự ức chế (các) gen GA20 và/hoặc GA3 oxidaza đối với một số mô tạo ra GA hoạt động nhất định, như các mô và mạch của lá cây, có thể là đủ để tạo ra cây có chiều cao thấp với khả năng chống đổ tăng, mà không có sự khác dạng đáng kể trong các mô sinh sản. Sự biểu hiện của yếu tố ức chế GA20 hoặc GA3 oxidaza theo cách đặc hiệu mô hoặc ưu tiên mô có thể là đủ và hiệu quả trong việc tạo ra cây có kiểu hình chiều cao thấp, đồng thời tránh sự khác dạng tiềm ẩn trong các mô sinh sản đã được quan sát trước đây với các đột biến GA ở ngô (ví dụ, bằng cách tránh hoặc hạn chế sự ức chế (các) gen GA20 oxidaza trong các mô sinh sản đó). Ví dụ, (các) gen GA20 và/hoặc GA3 oxidaza có thể được nhắm đích để ức chế bằng cách sử dụng đoạn khởi đầu mạch, sử dụng đoạn khởi đầu của virut tungro dạng thẳng ở lúa (rice tungro bacilliform

virus-RTBV), mà điều khiển sự biểu hiện trong các mô mạch của cây. Như được hỗ trợ trong các ví dụ dưới đây, kiểu biểu hiện của đoạn khởi đầu RTBV được làm phong phú trong các mô mạch của cây ngô so với các mô không phải mạch, mà đủ để tạo ra kiểu hình bán lùn ở cây ngô khi liên kết theo kiểu hoạt động được với yếu tố ức chế nhắm đích (các) gen GA20 và GA3 oxidaza. Việc giảm mức GA hoạt động trong (các) mô của cây ngô hoặc ngũ cốc tạo ra GA hoạt động có thể làm giảm chiều cao cây và tăng khả năng chống đổ, và có thể tránh được sự khác dạng ở các cây đó nếu các mức GA hoạt động không bị ảnh hưởng hoặc giảm đáng kể trong các mô sinh sản, như là cơ quan cái đang phát triển hoặc bắp của cây. Nếu mức GA hoạt động có thể giảm ở thân, cuống hoặc (các) gióng của cây ngô hoặc ngũ cốc mà không ảnh hưởng đáng kể đến mức GA trong các mô sinh sản (ví dụ, cơ quan sinh sản đực hoặc cái hoặc cụm hoa), thì cây ngô hoặc ngũ cốc có chiều cao cây giảm và khả năng chống đổ tăng có thể được tạo ra mà không có sự khác dạng trong các mô sinh sản của cây.

Do đó, cấu trúc ADN tái tổ hợp và cây chuyển gen được đề xuất ở đây gồm yếu tố ức chế GA20 hoặc GA3 oxidaza hoặc trình tự liên kết theo kiểu hoạt động được với đoạn khởi đầu biểu hiện được ở thực vật mà có thể là đoạn khởi đầu đặc hiệu mô hoặc ưu tiên mô. Đoạn khởi đầu đặc hiệu mô hoặc ưu tiên mô như vậy có thể điều khiển sự biểu hiện của trình tự hoặc yếu tố ức chế GA oxidaza liên kết của nó trong một hoặc nhiều (các) mô sản xuất GA hoạt động của cây để ức chế hoặc giảm mức GA hoạt động được tạo ra trong (các) mô đó. Đoạn khởi đầu đặc hiệu mô hoặc ưu tiên mô có thể điều khiển sự biểu hiện của gen chuyển hoặc cấu trúc ức chế GA oxidaza liên kết của nó trong một hoặc nhiều (các) giai đoạn phát triển sinh dưỡng. Đoạn khởi đầu đặc hiệu mô hoặc ưu tiên mô này còn có thể có ít hoặc không biểu hiện ở một hoặc nhiều (các) tế bào hoặc (các) mô của cơ quan cái đang phát triển hoặc bắp của cây để tránh khả năng có sự khác dạng ở các mô sinh sản này. Theo một vài phương án, đoạn khởi đầu đặc hiệu mô hoặc ưu tiên mô là đoạn khởi đầu mạch, như đoạn khởi đầu RTBV. Trình tự của đoạn khởi đầu RTBV được đề xuất ở đây là SEQ ID NO: 65, và bản được cắt cụt của đoạn khởi đầu RTBV còn được đề xuất ở đây là SEQ ID NO: 66.

Các axit gibberellic hoạt động hoặc có hoạt tính sinh học (tức là, "gibberellin hoạt động" hoặc "GA hoạt động") đã biết trong lĩnh vực này đối với các loài thực vật được nêu, như được phân biệt với GA không hoạt động. Ví dụ, GA hoạt động ở cây ngô và các

thực vật cao hơn bao gồm các dạng sau: GA1, GA3, GA4, và GA7. Do đó, "mô tạo GA hoạt động" là mô thực vật tạo ra một hoặc nhiều GA hoạt động.

Ngoài việc ức chế gen GA20 oxidaza trong các mô tạo GA hoạt động của cây bằng đoạn khởi đầu mô mạch, còn ngạc nhiên thấy rằng việc ức chế cùng gen GA20 oxidaza với các đoạn khởi đầu cơ định khác nhau cũng có thể gây ra các kiểu hình chiều cao thấp, bán lùn ở ngô, mà không có sự khác dạng ở bắp. Cho rằng các đột biến trong con đường GA đã được chứng minh trước đây là gây ra sự khác dạng ở các mô sinh sản, đáng ngạc nhiên là sự ức chế cơ định của GA20 oxidaza không gây ra các kiểu hình sinh sản tương tự ở bắp. Do đó, còn đề xuất rằng việc ức chế một hoặc nhiều gen GA20 oxidaza có thể được thực hiện bằng cách sử dụng đoạn khởi đầu cơ định để tạo ra một cây ngô hoặc ngũ cốc chiều cao thấp, chống đổ mà không có bất kỳ sự khác dạng sinh sản đáng kể hoặc có thể quan sát được ở cây. Các quan sát đáng ngạc nhiên khác đã được thực hiện khi cùng một cấu trúc ức chế GA20 oxidaza được biểu hiện trong các mô thân, lá hoặc mô sinh sản. Như được mô tả thêm dưới đây, việc ức chế mục tiêu của các gen GA20 oxidaza tương tự trong các mô thân hoặc bắp của cây ngô không gây ra kiểu hình bán lùn, chiều cao thấp. Ngoài ra, biểu hiện có định hướng của cấu trúc ức chế GA20 oxidaza trực tiếp trong các mô sinh sản của bắp ngô đang phát triển với đoạn khởi đầu mô sinh sản cái (bắp) không gây ra bất kỳ sự khác dạng đáng kể hoặc có thể quan sát được trong bắp. Tuy nhiên, sự biểu hiện của cấu trúc ức chế GA20 oxidaza tương tự trong các mô lá là đủ để tạo ra kiểu chiều cao thấp vừa phải mà không có sự khác dạng sinh sản đáng kể hoặc có thể quan sát được ở cây.

Không bị giới hạn bởi lý thuyết, đề xuất rằng các kiểu hình chiều cao thấp, bán lùn trong ngô và các loại cây ngũ cốc khác có thể dẫn đến mức độ biểu hiện đủ của cấu trúc ức chế nhắm đích (các) gen GA oxidaza nhất định trong mô sản xuất GA hoạt động của cây. Ít nhất là để ức chế nhắm đích các gen GA20 oxidaza nhất định ở ngô, việc hạn chế kiểu biểu hiện để tránh các mô bắp sinh sản có thể không cần thiết để tránh sự khác dạng sinh sản ở bắp đang phát triển. Tuy nhiên, sự biểu hiện của cấu trúc ức chế GA20 oxidaza ở mức độ thấp, và/hoặc trong một số lượng mô thực vật hạn chế, có thể không đủ để tạo ra kiểu hình chiều cao thấp, bán lùn đáng kể. Cho rằng kiểu hình bán lùn quan sát được với sự ức chế GA20 oxidaza được nhắm đích là kết quả của việc làm ngắn các gióng thân của cây, ngạc nhiên là sự ức chế gen GA20 oxidaza trong ít nhất một số mô thân không đủ để gây ra sự làm ngắn các gióng thân và chiều cao cây giảm. Không bị giới hạn

bởi lý thuyết, đề xuất rằng sự ức chế các gen GA oxidaza nhất định trong (các) mô và/hoặc (các) tế bào của cây nơi tạo ra GA hoạt động, và không nhất thiết phải ở (các) mô thân hoặc gióng, có thể là đủ để tạo ra cây bán lùn, mặc dù đặc điểm chiều cao thấp là do sự làm ngắn các gióng thân. Cho rằng GA có thể di chuyển qua hệ thống mạch của cây, đề xuất rằng việc điều khiển gen GA oxidaza trong (các) mô thực vật nơi GA hoạt động được tạo ra có thể tạo ra cây chiều cao thấp, bán lùn, mặc dù điều này có thể đạt được phần lớn bằng cách ức chế mức GA hoạt động được tạo ra trong các mô không phải thân (nghĩa là cách xa vị trí tác động trong thân nơi sự kéo dài gióng giảm dẫn đến kiểu hình bán lùn). Thật vậy, sự ức chế một số gen GA20 oxidaza trong các mô lá đã được thấy là gây ra kiểu hình bán lùn vừa phải ở cây ngô. Cho rằng biểu hiện của cấu trúc GA20 oxidaza với một số đoạn khởi đầu "thân" khác nhau đã không tạo ra kiểu hình bán lùn ở ngô, điều đáng chú ý là biểu hiện của cấu trúc ức chế GA20 oxidaza tương tự với đoạn khởi đầu mạch là hữu hiệu để tạo ra kiểu hình bán lùn một cách phù hợp với mức độ xâm nhập cao qua các sự kiện và mầm nguyên sinh. Kiểu hình bán lùn này cũng được quan sát thấy với biểu hiện của cấu trúc ức chế GA20 oxidaza tương tự bằng cách sử dụng các đoạn khởi đầu mạch khác.

Theo các phương án của sáng chế, ngũ cốc hoặc cây ngô biến đổi được đề xuất là có ít nhất một đặc điểm nông học có lợi và ít nhất là một cơ quan sinh sản cái hoặc bắp mà về cơ bản hoặc hoàn toàn không có sự khác dạng. Các đặc điểm nông học có lợi có thể bao gồm, ví dụ, chiều cao cây thấp hơn, chiều dài gióng ngắn hơn ở một hoặc nhiều (các) gióng, đường kính thân hoặc cuống lớn hơn (mập hơn), khả năng chống đổ tăng, khả năng chịu hạn hán được cải thiện, hiệu quả sử dụng nitơ tăng, hiệu quả sử dụng nước tăng, rễ sâu hơn, diện tích lá lớn hơn, khép tán sớm hơn, và/hoặc năng suất thu hoạch tăng. Sự khác dạng có thể bao gồm có thể bao gồm tính không sinh sản đực (cờ hoặc bao phấn), giảm số hạt hoặc hạt giống, và/hoặc sự hiện diện của cấu trúc sinh sản dực hoặc đực tính (hoặc giống đực) trong cơ quan cái hoặc bắp (ví dụ, bắp bao phấn) của cây. Cây ngô hoặc ngũ cốc biến đổi được đề xuất ở đây không có sự khác dạng đáng kể ở các mô sinh sản của cây. Cây ngô hoặc ngũ cốc biến đổi như vậy có thể có cơ quan sinh sản cái hoặc bắp có vẻ bình thường so với cây đối chứng hoặc kiểu dại. Thật vậy, cây ngũ cốc hoặc cây ngô biến đổi được đề xuất có ít nhất một cơ quan sinh sản hoặc bắp không có hoặc biểu hiện, hoặc gần như không có hoặc hoàn toàn không có, sự khác dạng bao gồm tính không sinh sản đực, số lượng hạt hoặc hạt giống giảm, và/hoặc (các) cấu trúc đực tính trong một hoặc nhiều cơ

quan cái hoặc bắp. Như được sử dụng ở đây, cơ quan cái hoặc bắp của thực vật, như ngô, là "gần như không có" cơ quan sinh sản đực nếu cấu trúc sinh sản đực không có hoặc gần như không có trong cơ quan cái hoặc bắp của thực vật dựa trên kiểm tra trực quan cơ quan cái hoặc bắp tại giai đoạn sinh sản sau này. Cơ quan cái hoặc bắp của cây, như ngô, là "hoàn toàn không có" cấu trúc sinh sản đực trưởng thành nếu cấu trúc sinh sản đực không có hoặc không thể quan sát hoặc không quan sát được trong cơ quan cái hoặc bắp của cây, như cây ngô, bằng cách kiểm tra trực quan cơ quan cái hoặc bắp ở giai đoạn sinh sản sau này. Cơ quan cái hoặc bắp của cây, như cây ngô, không có sự khác dạng đáng kể và gần như không có cấu trúc sinh sản đực ở bắp có thể có số lượng hạt hoặc hạt giống trên một cơ quan cái hoặc bắp của cây là ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, ít nhất 99,6%, ít nhất 99,7%, ít nhất 99,8%, hoặc ít nhất 99,9% số lượng hạt hoặc hạt giống trên mỗi cơ quan cái hoặc bắp của cây đối chứng hoặc kiểu dại. Tương tự, cơ quan cái hoặc bắp của cây, như cây ngô, không có sự khác dạng đáng kể và gần như không có cấu trúc sinh sản đực ở bắp có thể có trọng lượng hạt hoặc hạt giống trung bình trên một cơ quan cái hoặc bắp của cây là ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, ít nhất 99,6%, ít nhất 99,7%, ít nhất 99,8%, hoặc ít nhất 99,9% trọng lượng hạt hoặc hạt giống trung bình trên một cơ quan cái hoặc bắp của cây đối chứng hoặc kiểu dại. Cơ quan cái hoặc bắp của cây, như cây ngô, mà hoàn toàn không có cấu trúc sinh sản đực trưởng thành có thể có số lượng hạt hoặc hạt giống trên một cơ quan cái hoặc bắp của cây là giống như cây đối chứng hoặc kiểu dại. Mặt khác, sự phát triển sinh sản của cơ quan cái hoặc bắp của cây có thể là bình thường hoặc gần như bình thường. Tuy nhiên, số lượng hạt giống hoặc hạt trên mỗi cơ quan cái hoặc bắp có thể tùy thuộc các yếu tố khác mà ảnh hưởng đến việc sử dụng tài nguyên và phát triển cây. Thật vậy, số lượng hạt hoặc hạt giống trên mỗi cơ quan cái hoặc bắp của cây, và/hoặc trọng lượng hạt hoặc hạt giống trên mỗi cơ quan cái hoặc bắp của cây, có thể là bằng hoặc lớn hơn cây đối chứng hoặc kiểu dại.

Hormon thực vật gibberellin đóng một vai trò quan trọng trong một số quá trình phát triển của thực vật bao gồm sự nảy mầm, kéo dài tế bào, ra hoa, phát triển phôi và phát triển hạt. Một số enzym sinh tổng hợp (ví dụ, GA20 oxidaza và GA3 oxidaza) và enzym đồng hóa (ví dụ, GA2 oxidaza) trong con đường GA là rất quan trọng để ảnh hưởng đến mức GA hoạt động trong các mô thực vật. Do đó, ngoài việc ức chế một số gen GA20 oxidaza, đề xuất thêm rằng việc ức chế gen GA3 oxidaza theo cách cơ định hoặc đặc hiệu

mô hoặc ưu tiên mô cũng có thể tạo ra cây ngô có kiểu hình chiều cao thấp và khả năng chống đổ tăng, với sản lượng có thể tăng, mà không có sự khác dạng ở bắp. Do đó, theo một vài phương án, các cấu trúc và gen chuyển được đề xuất gồm trình tự hoặc yếu tố ức chế GA3 oxidaza được liên kết theo kiểu hoạt động được với đoạn khởi đầu cơ định hoặc đặc hiệu mô hoặc ưu tiên mô, như đoạn khởi đầu mạch hoặc lá. Theo một vài phương án, đoạn khởi đầu đặc hiệu mô hoặc ưu tiên mô là đoạn khởi đầu mạch, như đoạn khởi đầu RTBV. Tuy nhiên, các dạng khác của đoạn khởi đầu đặc hiệu mô hoặc ưu tiên mô khác có thể được dùng để ức chế GA3 oxidaza trong các mô tạo GA hoạt động của cây ngô hoặc ngũ cốc để tạo ra kiểu hình bán lùn không có sự khác dạng.

Phương pháp bất kỳ đã biết trong lĩnh vực này để ức chế gen đích có thể được sử dụng để ức chế (các) gen GA oxidaza theo các phương án của sáng chế bao gồm sự biểu hiện của trình tự ARN đối nghĩa, ARN sợi kép (dsARN) hoặc chuỗi ARN lặp lại đảo ngược, hoặc thông qua sự đồng ức chế hoặc can thiệp ARN (ARNi) thông qua sự biểu hiện ARN can thiệp nhỏ (siARN), ARN kẹp tóc ngắn (shARN), siARN tác động trans (ta-siARN), hoặc ARN nhỏ (miARN). Hơn nữa, các phân tử ARN đối nghĩa và/hoặc có nghĩa có thể được sử dụng để nhắm đích vào các trình tự hoặc vùng gen không mã hóa và/hoặc mã hóa trong hoặc gần gen GA oxidaza để gây ra sự bất hoạt gen. Theo đó, bất kỳ phương pháp nào trong số các phương pháp này đều có thể được sử dụng để ức chế nhắm đích (các) gen GA20 oxidaza hoặc GA3 oxidaza nội sinh theo cách đặc hiệu mô hoặc ưu tiên mô. Ví dụ, xem, công bố đơn Mỹ số 2009/0070898, 2011/0296555, và 2011/0035839, được đưa vào đây bằng cách viện dẫn.

Thuật ngữ "ức chế" như được sử dụng ở đây, dùng để chỉ sự làm giảm, giảm bớt hoặc loại bỏ mức độ biểu hiện của mARN và/hoặc protein được mã hóa bởi gen đích ở cây, tế bào cây hoặc mô cây ở một hoặc nhiều giai đoạn phát triển của cây, khi so sánh với mức độ biểu hiện của mARN và/hoặc protein đích ở cây đối chứng hoặc kiểu dại, tế bào hoặc mô ở cùng (các) giai đoạn phát triển của cây. Theo một vài phương án, cây biến đổi hoặc chuyển gen được đề xuất có mức biểu hiện gen GA20 oxidaza được giảm ở ít nhất một mô cây ít nhất 5%, ít nhất 10%, ít nhất 20%, ít nhất 25%, ít nhất 30%, ít nhất 40%, ít nhất 50%, ít nhất 60%, ít nhất 70%, ít nhất 75%, ít nhất 80%, ít nhất 90%, hoặc 100%, khi so với cây đối chứng. Theo một vài phương án, cây biến đổi hoặc chuyển gen được đề xuất có mức biểu hiện gen GA3 oxidaza được giảm ở ít nhất một mô cây ít nhất 5%, ít nhất 10%, ít nhất 20%, ít nhất 25%, ít nhất 30%, ít nhất 40%, ít nhất 50%, ít nhất 60%, ít nhất 70%, ít nhất

75%, ít nhất 80%, ít nhất 90%, hoặc 100%, khi so với cây đối chứng. Theo một vài phương án, cây biến đổi hoặc chuyển gen được đề xuất có mức biểu hiện gen GA20 oxidaza được giảm ở ít nhất một mô cây 5%-20%, 5%-25%, 5%-30%, 5%-40%, 5%-50%, 5%-60%, 5%-70%, 5%-75%, 5%-80%, 5%-90%, 5%-100%, 75%-100%, 50%-100%, 50%-90%, 50%-75%, 25%-75%, 30%-80%, hoặc 10%-75%, khi so với cây đối chứng. Theo một vài phương án, cây biến đổi hoặc chuyển gen được đề xuất có mức biểu hiện gen GA3 oxidaza được giảm ở ít nhất một mô cây 5%-20%, 5%-25%, 5%-30%, 5%-40%, 5%-50%, 5%-60%, 5%-70%, 5%-75%, 5%-80%, 5%-90%, 5%-100%, 75%-100%, 50%-100%, 50%-90%, 50%-75%, 25%-75%, 30%-80%, hoặc 10%-75%, khi so với cây đối chứng. Theo các phương án này, ít nhất một mô của cây biến đổi hoặc chuyển gen có sự giảm mức biểu hiện (các) gen GA20 oxidaza và/hoặc GA3 oxidaza bao gồm một hoặc nhiều (các) mô tạo GA hoạt động của cây, như (các) mô mạch và/hoặc lá của cây, trong một hoặc nhiều giai đoạn phát triển sinh dưỡng.

Theo một vài phương án, sự ức chế gen GA20 oxidaza nội sinh hoặc gen GA3 oxidaza là đặc hiệu mô (ví dụ, chỉ ở mô lá và/hoặc mạch). Sự ức chế gen GA20 oxidaza có thể là cơ định và/hoặc đặc hiệu hoặc ưu tiên mô mạch hoặc lá. Theo các phương án khác, sự ức chế gen GA20 oxidaza hoặc gen GA3 oxidaza là cơ định và không đặc hiệu mô. Theo một vài phương án, sự biểu hiện của gen GA20 oxidaza nội sinh và/hoặc gen GA3 oxidaza được giảm ở một hoặc nhiều loại mô (ví dụ, ở (các) mô lá và/hoặc mạch của cây biến đổi hoặc chuyển gen so với cùng (các) mô của cây đối chứng.

Theo các phương án của sáng chế, vectơ, cấu trúc hoặc phân tử ADN tái tổ hợp, được đề xuất gồm yếu tố ức chế nhắm đích (các) gen GA20 oxidaza hoặc GA3 oxidaza được liên kết theo kiểu hoạt động được với đoạn khởi đầu cơ định hoặc đặc hiệu mô hoặc ưu tiên mô biểu hiện được ở thực vật. Yếu tố ức chế có thể gồm trình tự ADN có thể phiên mã gồm ít nhất 19 nucleotit trong chiều dài, như từ 19 nucleotit đến 27 nucleotit trong chiều dài, hoặc 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, hoặc 27 nucleotit trong chiều dài, trong đó trình tự ADN có thể phiên mã tương ứng với ít nhất một phần của gen GA oxidaza đích cần được ức chế, và/hoặc với trình tự ADN bổ trợ của chúng. Yếu tố ức chế có thể gồm 19-30, 19-50, 19-100, 19-200, 19-300, 19-500, 19-1000, 19-1500, 19-2000, 19-3000, 19-4000, hoặc 19-5000 nucleotit trong chiều dài. Yếu tố ức chế có thể gồm ít nhất 19, ít nhất 20, ít nhất 21, ít nhất 22, hoặc ít nhất 23 nucleotit hoặc nhiều hơn trong chiều dài (ví dụ, ít nhất 25, ít nhất 30, ít nhất 50, ít nhất 100, ít nhất 200, ít nhất 300, ít nhất 500, ít nhất 1000,

ít nhất 1500, ít nhất 2000, ít nhất 3000, ít nhất 4000, hoặc ít nhất 5000 nucleotit trong chiều dài). Tùy thuộc vào chiều dài và trình tự của yếu tố ức chế, một hoặc nhiều sự bắt cặp sai trình tự hoặc các bazơ không bổ trợ, như 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 hoặc nhiều sự bắt cặp sai, có thể được chấp nhận mà không mất khả năng ức chế nếu phân tử ARN không mã hóa được mã hóa bởi yếu tố ức chế vẫn có thể lai đầy đủ và gắn kết với phân tử mARN đích của (các) gen GA20 oxidaza hoặc GA3 oxidaza. Thật vậy, ngay cả các yếu tố ức chế ARNi ngắn hơn gồm từ 19 nucleotit đến 27 nucleotit trong chiều dài có thể có một hoặc nhiều sự bắt cặp sai hoặc các bazơ không bổ trợ, vẫn có thể là hữu hiệu để ức chế gen GA oxidaza đích. Theo đó, trình tự của yếu tố ức chế đối nghĩa và có nghĩa có thể tương đồng ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5% hoặc 100% với trình tự tương ứng của ít nhất một đoạn hoặc một phần của gen GA oxidaza đích, hoặc trình tự bổ sung của nó.

Trình tự yếu tố ức chế hoặc ADN có thể phiên mã theo sáng chế để sự ức chế nhắm đích (các) gen GA oxidaza có thể bao gồm một hoặc nhiều trình tự sau: (a) trình tự ADN gồm ít nhất một trình tự ADN đối nghĩa là đối nghĩa hoặc bổ trợ cho ít nhất một đoạn hoặc một phần của gen GA oxidaza đích; (b) trình tự ADN gồm nhiều bản sao của ít nhất một trình tự ADN đối nghĩa là đối nghĩa hoặc bổ trợ cho ít nhất một đoạn hoặc một phần của gen GA oxidaza đích; (c) trình tự ADN gồm ít nhất một trình tự ADN có nghĩa mà gồm ít nhất một đoạn hoặc một phần của gen GA oxidaza đích; (d) trình tự ADN gồm nhiều bản sao của ít nhất một trình tự ADN có nghĩa mà mỗi loại gồm ít nhất một đoạn hoặc một phần của gen GA oxidaza đích; (e) trình tự ADN gồm sự lặp lại đảo ngược của một đoạn hoặc một phần của gen GA oxidaza đích và/hoặc phiên mã thành ARN để ức chế gen GA oxidaza đích bằng cách tạo ARN sợi kép, trong đó ARN được phiên mã gồm ít nhất một trình tự ADN đối nghĩa là đối nghĩa hoặc bổ trợ cho ít nhất một đoạn hoặc một phần của gen GA oxidaza đích và ít nhất một trình tự ADN có nghĩa mà gồm ít nhất một đoạn hoặc một phần của gen GA oxidaza đích; (f) trình tự ADN được phiên mã thành ARN để ức chế gen GA oxidaza đích bằng cách tạo ARN sợi kép đơn nhất và gồm nhiều trình tự ADN đối nghĩa theo chuỗi mỗi loại là đối nghĩa hoặc bổ trợ cho ít nhất một đoạn hoặc một phần của gen GA oxidaza đích và nhiều trình tự ADN có nghĩa theo chuỗi mà mỗi loại gồm ít nhất một đoạn hoặc một phần của gen GA oxidaza đích; (g) trình tự ADN được phiên mã thành ARN để ức chế gen GA oxidaza đích bằng cách tạo nhiều sợi kép của ARN và gồm nhiều trình tự ADN đối nghĩa mỗi loại là đối nghĩa hoặc bổ trợ cho ít nhất một

đoạn hoặc một phần của gen GA oxidaza đích và nhiều trình tự ADN có nghĩa mà mỗi loại gồm ít nhất một đoạn hoặc một phần của gen GA oxidaza đích, trong đó nhiều đoạn ADN đối nghĩa và nhiều đoạn ADN có nghĩa được sắp xếp theo chuỗi gồm các đoạn lặp lại đảo ngược; (h) trình tự ADN gồm nucleotit thu được từ miARN, tốt hơn là miARN thực vật; (i) trình tự ADN gồm tiền chất miARN mã hóa miARN nhân tạo bổ trợ cho ít nhất một đoạn hoặc một phần của gen GA oxidaza đích; (j) trình tự ADN gồm nucleotit của siARN; (k) trình tự ADN được phiên mã thành aptame ARN có khả năng gắn kết với phối tử; và (l) trình tự ADN được phiên mã thành aptame ARN có khả năng gắn kết với phối tử và ADN phiên mã thành ARN điều hòa có khả năng điều hòa sự biểu hiện gen GA oxidaza đích, trong đó việc điều hòa gen GA oxidaza đích là phụ thuộc vào cấu trúc của ARN điều hòa, và cấu trúc của ARN điều hòa bị ảnh hưởng theo kiểu dị lập thể bởi các trạng thái liên kết của aptame ARN bởi phối tử. Bất kỳ yếu tố ức chế gen nào trong số đó, dù được phiên mã thành ARN sợi đơn hoặc sợi kép, có thể được thiết kế để ức chế nhiều hơn một gen GA oxidaza đích, tùy thuộc vào số lượng và trình tự của (các) yếu tố ức chế.

Nhiều yếu tố ức chế đối nghĩa và/hoặc có nghĩa đối với nhiều hơn một đích GA oxidaza có thể được sắp xếp song song theo chuỗi hoặc sắp xếp theo các đoạn song song hoặc lặp lại, lặp lại đảo ngược song song, cũng có thể bị gián đoạn bởi một hoặc nhiều trình tự đệm, và trình tự của từng yếu tố ức chế có thể nhắm đích một hoặc nhiều gen GA oxidaza. Hơn nữa, trình tự đối nghĩa hoặc có nghĩa của yếu tố ức chế có thể không được bắt cặp hoặc bổ trợ hoàn hảo cho trình tự gen GA oxidaza đích, tùy thuộc vào trình tự và độ dài của yếu tố ức chế. Ngay cả các yếu tố ức chế ARNi ngắn hơn gồm từ 19 nucleotit đến 27 nucleotit trong chiều dài có thể có một hoặc nhiều sự bắt cặp sai hoặc bazơ không bổ trợ, vẫn có thể là hữu hiệu để ức chế gen GA oxidaza đích. Theo đó, trình tự yếu tố ức chế đối nghĩa hoặc có nghĩa có thể tương đồng ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5% hoặc 100% với trình tự tương ứng của ít nhất một đoạn hoặc một phần của gen GA oxidaza đích, hoặc trình tự bổ sung của nó.

Đối với sự ức chế đối nghĩa, trình tự ADN có thể phiên mã hoặc yếu tố ức chế gồm trình tự là đối nghĩa hoặc bổ trợ cho ít nhất một đoạn hoặc một phần của gen GA oxidaza đích. Yếu tố ức chế có thể gồm nhiều trình tự đối nghĩa mà bổ trợ cho một hoặc nhiều phần hoặc đoạn của (các) gen GA oxidaza đích, hoặc nhiều bản sao của trình tự đối nghĩa bổ trợ cho gen GA oxidaza đích. Trình tự yếu tố ức chế đối nghĩa có thể tương đồng

ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5% hoặc 100% với trình tự ADN mà bổ trợ cho ít nhất một đoạn hoặc một phần của gen GA oxidaza đích. Mặt khác, trình tự yếu tố ức chế đối nghĩa có thể bổ sung ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5% hoặc 100% cho gen GA oxidaza đích.

Để ức chế (các) gen GA oxidaza bằng cách sử dụng đoạn lặp lại đảo ngược hoặc ARN sợi kép phiên mã, yếu tố ức chế hoặc trình tự ADN có thể phiên mã có thể gồm trình tự có nghĩa mà gồm một đoạn hoặc một phần của gen GA oxidaza đích và trình tự đối nghĩa mà bổ trợ cho một đoạn hoặc một phần của gen GA oxidaza đích, trong đó trình tự ADN đối nghĩa và có nghĩa được sắp xếp song song. Trình tự đối nghĩa và/hoặc có nghĩa, lần lượt, mỗi loại có thể tương đồng hoặc bổ trợ ít hơn 100% với một đoạn hoặc một phần của gen GA oxidaza đích như nêu trên. Trình tự đối nghĩa và có nghĩa có thể được tách riêng bằng trình tự đệm, sao cho phân tử ARN được phiên mã từ yếu tố ức chế tạo ra cấu trúc thân, vòng hoặc thân-vòng giữa các trình tự đối nghĩa và có nghĩa này. Yếu tố ức chế thay vào đó có thể bao gồm nhiều trình tự đối nghĩa và có nghĩa được sắp xếp song song, cũng có thể được tách riêng bằng trình tự đệm. Các yếu tố ức chế như vậy gồm nhiều trình tự đối nghĩa và có nghĩa có thể được sắp xếp ở dạng chuỗi trình tự có nghĩa tiếp đến là chuỗi trình tự đối nghĩa hoặc ở dạng chuỗi trình tự đối nghĩa và có nghĩa được sắp xếp song song. Ngoài ra, một hoặc nhiều trình tự ADN có nghĩa có thể được biểu hiện tách biệt với một hoặc nhiều trình tự đối nghĩa (nghĩa là một hoặc nhiều trình tự ADN có nghĩa có thể được biểu hiện từ trình tự ADN có thể phiên mã thứ nhất và một hoặc nhiều trình tự ADN đối nghĩa có thể được biểu hiện từ trình tự ADN có thể phiên mã thứ hai, trong khi trình tự ADN phiên mã thứ nhất và thứ hai được biểu hiện dưới dạng bản phiên mã riêng biệt).

Để ức chế (các) gen GA oxidaza bằng cách sử dụng ARN nhỏ (miARN), trình tự ADN có thể phiên mã hoặc yếu tố ức chế có thể gồm trình tự ADN có nguồn gốc từ trình tự miARN có nguồn gốc từ virus hoặc tế bào nhân điển hình, như động vật hoặc thực vật, hoặc được biến đổi hoặc thu được từ trình tự miARN tự nhiên như vậy. Các trình tự miARN tự nhiên hoặc có nguồn gốc tự nhiên như vậy có thể tạo thành cấu trúc gấp lại và đóng vai trò là một bộ khung cho tiền chất miARN (pre-miARN), và có thể tương ứng với vùng thân của trình tự tiền chất miARN tự nhiên, như từ trình tự tiền chất miARN hoặc miARN sơ cấp (pri-miARN) tự nhiên (hoặc có nguồn gốc tự nhiên). Tuy nhiên, ngoài các trình tự

khung miARN tự nhiên hoặc có nguồn gốc tự nhiên hoặc các trình tự đã được xử lý trước, các miARN được thao tác di truyền hoặc tổng hợp theo các phương án này còn bao gồm trình tự tương ứng với một đoạn hoặc một phần của (các) gen GA oxidaza đích. Do đó, ngoài các trình tự miARN khung hoặc đã được xử lý trước, yếu tố ức chế có thể còn gồm trình tự đối nghĩa và/hoặc có nghĩa tương ứng với một đoạn hoặc một phần của gen GA oxidaza đích, và/hoặc trình tự bổ sung của nó, mặc dù một hoặc nhiều sự bắt cặp sai trong trình tự có thể được chấp nhận.

Các miARN được thao tác di truyền là hữu ích để ức chế gen nhắm đích với tính đặc hiệu tăng. Ví dụ, xem Parizotto và đồng tác giả, *Genes Dev*. 18:2237-2242 (2004), và công bố đơn Mỹ số 2004/0053411, 2004/0268441, 2005/0144669, và 2005/0037988, được đưa vào đây bằng cách viện dẫn. Các miARN là các ARN không mã hóa protein. Khi phân tử tiền chất miARN được phân cắt, miARN thuần thục được tạo ra thường gồm từ 19 đến 25 nucleotit trong chiều dài (thường từ 20 đến 24 nucleotit trong chiều dài ở cây), như 19, 20, 21, 22, 23, 24, hoặc 25 nucleotit trong chiều dài, và có trình tự tương ứng với gen được nhắm đích để ức chế và/hoặc phần bổ trợ của nó. miARN thuần thục lai với bản phiên mã mARN đích và hướng dẫn sự gắn kết của phức protein với bản phiên mã đích, mà có thể có chức năng ức chế dịch mã và/hoặc gây thoái biến bản phiên mã, do đó điều hòa âm tính hoặc ức chế sự biểu hiện gen đích. Tiền chất miARN cũng là hữu ích ở cây để nhằm tạo ra trong pha siARN, siARN tác động trans (ta-siARN), trong quá trình mà cần có polymeraza ARN phụ thuộc ARN để gây ra sự ức chế gen đích. Ví dụ, xem, Allen và đồng tác giả, *Cell* 121:207-221 (2005), Vaucheret *Science STKE*, 2005:pe43 (2005), và Yoshikawa và đồng tác giả *Genes Dev*., 19:2164-2175 (2005), được đưa vào đây bằng cách viện dẫn.

Các miARN thực vật điều hòa các gen đích của chúng bằng cách nhận biết và gắn kết với trình tự bổ sung hoặc bổ trợ gần như hoàn hảo (vị trí nhận biết miARN) trong bản phiên mã mARN đích, tiếp theo là phân cắt bản phiên mã bởi các enzym ARNaza III, như ARGONAUTE1. Ở thực vật, sự bắt cặp sai nhất định giữa một vị trí nhận biết miARN nhất định và miARN thuần thục tương ứng thường không được chấp nhận, đặc biệt là nucleotit bắt cặp sai ở vị trí 10 và 11 của miARN thuần thục. Các vị trí trong miARN thuần thục được đưa ra theo hướng 5' đến 3'. Sự bổ trợ hoàn hảo giữa vị trí nhận biết miARN nhất định và miARN thuần thục tương ứng thường được yêu cầu tại các vị trí 10 và 11 của miARN thuần thục. Ví dụ, xem Franco-Zorrilla và đồng tác giả (2007) Nature Genetics, 39:1033-1037; và Axtell và đồng tác giả (2006) Cell, 127:565-577.

Nhiều gen ARN nhỏ (gen MIR) đã được xác định và cung cấp công khai trong cơ sở dữ liệu ("miRBase", có sẵn trực tuyến tại microrna.sanger.ac.uk/sequences; cũng thấy trong Griffiths-Jones và đồng tác giả (2003) Nucleic Acids Res., 31:439-441). Các gen MIR đã được báo cáo xảy ra ở các vùng liên gen, cả dạng được phân cắt và các cụm trong hệ gen, nhưng cũng có thể nằm hoàn toàn hoặc một phần trong các intron của các gen khác (cả mã hóa protein và không mã hóa protein). Để đánh giá về sinh học miARN, xem tài liệu Kim (2005) Nature Rev. Mol. Cell. Biol., 6:376-385. Sự phiên mã các gen MIR có thể, ít nhất là trong một số trường hợp, dưới sự kiểm soát thúc đẩy của đoạn khởi đầu riêng của gen MIR. Bản phiên mã sơ cấp, được gọi là "pri-miARN", có thể khá lớn (vài kilo bazơ) và có thể là nhiều xitron, chứa một hoặc nhiều tiền chất miARN (cấu trúc gấp lại có chứa một sắp xếp thân-vòng được xử lý thành miARN thuần thục) cũng như "mũ" 5' thông thường và đuôi polyadenyl hóa của mARN. Ví dụ, xem FIG. 1 trong tài liệu Kim (2005) Nature Rev. Mol. Cell. Biol., 6:376-385.

Sự biểu hiện chuyển gen của miARN (cho dù trình tự tồn tại tự nhiên hay trình tự nhân tạo) có thể được sử dụng để điều hòa sự biểu hiện của gen hoặc các gen đích của miARN. Các vị trí nhận dạng của miARN đã được xác thực ở tất cả các vùng của mARN, bao gồm vùng 5' chưa được dịch, vùng mã hóa, vùng intron và vùng 3' chưa được dịch, cho thấy rằng vị trí của đích miARN hoặc vị trí nhận biết so với trình tự mã hóa có thể không nhất thiết ảnh hưởng đến sự ức chế (ví dụ, xem, Jones-Rhoades và Bartel (2004). Mol. Cell, 14:787-799, Rhoades và đồng tác giả (2002) Cell, 110:513-520, Allen và đồng tác giả (2004) Nat. Genet., 36:1282-1290, Sunkar và Zhu (2004) Plant Cell, 16:2001-2019). miARN là các yếu tố điều hòa quan trọng ở sinh vật nhân điển hình, và sự ức chế chuyển gen với miARN là một công cụ hữu ích để điều khiển các con đường và phản ứng sinh học. Mô tả về miARN tự nhiên, tiền chất của chúng, vị trí nhận biết và đoạn khởi đầu được đề xuất trong công bố đơn Mỹ số 2006/0200878, được đưa vào đây bằng cách viện dẫn.

Việc thiết kế trình tự miARN nhân tạo có thể đạt được bằng cách thay thế nucleotit trong vùng thân của tiền chất miARN bằng trình tự bổ sung cho đích dự định, như đã chứng minh, ví dụ, bởi Zeng và đồng tác giả (2002) Mol. Cell, 9:1327-1333. Theo nhiều phương án, đích có thể là trình tự gen GA20 oxidaza hoặc gen GA3 oxidaza. Một ví dụ không giới hạn về phương pháp chung để xác định các thay đổi nucleotit trong trình tự miARN tự nhiên để tạo ra tiền chất miARN được thao tác di truyền cho đích quan tâm bao gồm các bước sau: (a) Chọn một trình tự đích duy nhất gồm ít nhất là 18 nucleotit đặc hiệu với gen

đích, ví dụ, bằng cách sử dụng các công cụ sắp thẳng hàng trình tự như BLAST (xem, ví dụ, Altschul và đồng tác giả (1990) J. Mol. Biol., 215:403-410; Altschul và đồng tác giả (1997) Nucleic Acids Res., 25:3389-3402); trình tự ADN bổ trợ và/hoặc ADN hệ gen có thể được sử dụng để xác định các trình tự gen trực giao phiên mã đích và bất kỳ khả năng bắt cặp sai nào với các gen không liên quan, do đó tránh được sự bất hoạt không chủ ý hoặc ức chế các trình tự không phải đích; (b) Phân tích gen mục tiêu cho các trình tự không mong muốn (ví dụ, bắt cặp với trình tự từ các loài không phải đích) và ghi điểm từng trình tự đích tiềm năng cho hàm lượng GC, điểm Reynold (xem Reynold và đồng tác giả (2004) Nature Biotechnol., 22 : 326-330) và tính không đối xứng chức năng được đặc trưng bởi sự chênh lệch âm về năng lượng tự do ("ΔΔG") (xem Khvorova và đồng tác giả (2003) Cell, 115:209-216). Tốt hơn là, các trình tự đích (ví dụ, 19-mer) có thể được chọn mà có tất cả hoặc hầu hết các đặc điểm sau: (1) điểm Reynold > 4, (2) hàm lượng GC trong khoảng từ 40% đến khoảng 60%, (3) ΔΔG âm, (4) adenosin cuối cùng, (5) thiếu một chuỗi liên tiếp gồm 4 nucleotit giống nhau hoặc nhiều hơn; (6) một vị trí gần điểm cuối 3' của gen đích; (7) sự khác biệt tối thiểu từ bản phiên mã tiền chất miARN. Theo một khía cạnh, phân tử ARN không mã hóa được sử dụng ở đây để ức chế gen đích (ví dụ, gen GA20 hoặc GA3 oxidaza) được thiết kế để có trình tự đích biểu hiện một hoặc nhiều, hai hoặc nhiều hơn, ba hoặc nhiều hơn, bốn hoặc nhiều hơn, hoặc năm hoặc nhiều các đặc điểm đã nói ở trên. Vị trí ở mỗi nucleotit thứ ba của yếu tố ức chế có thể là quan trọng trong việc ảnh hưởng đến hiệu quả của ARNi; ví dụ, thuật toán, "siExplorer" có sẵn công khai tại rna.chem.t.u-tokyo.ac.jp/siexplorer.htm (xem Katoh và Suzuki (2007) Nucleic Acids Res., 10.1093/nar/gkl1120); (c) Xác định đoạn bổ trợ ngược của trình tự đích đã chọn (ví dụ, 19-mer) để sử dụng trong việc tạo ra một miARN thuần thục được biến đổi. Liên quan đến trình tự 19 mer, một nucleotit khác ở vị trí 20 có thể được bắt cặp với trình tự nhận biết hoặc đích đã chọn, và nucleotit ở vị trí 21 có thể được chọn để không bắt cặp để ngăn chặn lan rộng sự bất hoạt trên bản phiên mã đích hoặc được bắt cặp với trình tự đích để thúc đẩy lan truyền sự bất hoạt trên bản phiên mã đích; và (d) Biến nạp miARN nhân tạo vào thực vật.

Theo các phương án của sáng chế, vectơ, cấu trúc hoặc phân tử ADN tái tổ hợp được đề xuất gồm trình tự ADN có thể phiên mã hoặc yếu tố ức chế mã hóa phân tử miARN hoặc tiền chất miARN để ức chế đích (các) gen GA oxidaza. Trình tự ADN có thể phiên mã và yếu tố ức chế như vậy có thể gồm trình tự gồm ít nhất 19 nucleotit trong chiều dài

mà tương ứng với một hoặc nhiều (các) gen GA oxidaza và/hoặc trình tự bổ sung cho một hoặc nhiều (các) gen GA oxidaza, mặc dù một hoặc nhiều sự bắt cặp sai trình tự hoặc nucleotit không bắt cặp bazơ có thể được chấp nhận.

(Các) gen GA oxidaza cũng có thể bị ức chế bằng cách sử dụng một hoặc nhiều ARN can thiệp nhỏ (siARN). Con đường siARN liên quan đến sự phân cắt không theo giai đoạn của một trình tự trung gian ARN sợi kép dài hơn ("sợi kép ARN") thành các ARN can thiệp nhỏ (siARN). Kích thước hoặc độ dài của siARN nằm trong khoảng từ 19 đến khoảng 25 cặp bazơ hoặc nucleotit, nhưng các loại siARN phổ biến bao gồm những loại chứa 21 hoặc 24 cặp bazơ. Do đó, trình tự ADN có thể phiên mã hoặc yếu tố ức chế có thể mã hóa phân tử ARN gồm ít nhất khoảng 19 đến khoảng 25 nucleotit (hoặc nhiều hơn) trong chiều dài, như ít nhất là 19, 20, 21, 22, 23, 24 hoặc 25 nucleotit trong chiều dài. Do đó, để ức chế siARN, vectơ, cấu trúc hoặc phân tử ADN tái tổ hợp được đề xuất gồm trình tự ADN có thể phiên mã và yếu tố ức chế mã hóa phân tử siARN để ức chế đích (các) gen GA oxidaza. Trình tự ADN có thể phiên mã và yếu tố ức chế này có thể gồm ít nhất 19 nucleotit trong chiều dài và có trình tự tương ứng với một hoặc nhiều (các) gen GA oxidaza, và/hoặc trình tự bổ sung cho một hoặc nhiều (các) gen GA oxidaza.

(Các) gen GA oxidaza cũng có thể bị ức chế bằng cách sử dụng một hoặc nhiều ARN can thiệp nhỏ tác động trans (ta-siARN). Trong con đường ta-siARN, miARN có chức năng dẫn đường quá trình xử lý trong pha các bản phiên mã siARN sơ cấp trong một quy trình đòi hỏi polymeraza ARN phụ thuộc ARN để sản xuất tiền chất ARN sợi kép. ta-siARN được xác định do thiếu cấu trúc thứ cấp, vị trí đích của miARN khởi tạo sản xuất ARN sợi kép, các yêu cầu của DCL4 và polymeraza ARN phụ thuộc ARN (RDR6), và sản xuất nhiều ARN nhỏ theo giai đoạn hoàn hảo ~ 21-nt với sợi kép được bắt cặp hoàn hảo với 2-nucleotit 3' nhô ra (xem Allen và đồng tác giả (2005) Cell, 121:207-221). Kích thước hoặc chiều dài của ta-siARN nằm trong khoảng từ 20 đến khoảng 22 cặp bazơ hoặc nucleotit, nhưng chủ yếu là 21 cặp bazơ. Do đó, trình tự ADN có thể phiên mã hoặc yếu tố ức chế của sáng chế có thể mã hóa phân tử ARN gồm ít nhất khoảng 20 đến khoảng 22 nucleotit trong chiều dài, như 20, 21 hoặc 22 nucleotit trong chiều dài. Do đó, để ức chế ta-siARN, vectơ, cấu trúc hoặc phân tử ADN tái tổ hợp được đề xuất gồm trình tự ADN có thể phiên mã hoặc yếu tố ức chế mã hóa phân tử ta-siARN để ức chế đích (các) gen GA oxidaza. Trình tự ADN có thể phiên mã và yếu tố ức chế này có thể gồm ít nhất 20 nucleotit

trong chiều dài và có trình tự tương ứng với một hoặc nhiều (các) gen GA oxidaza, và/hoặc trình tự bổ sung cho một hoặc nhiều (các) gen GA oxidaza. Đối với các phương pháp tạo khung ta-siARN thích hợp, xem, ví dụ, patent Mỹ số 9,309,512, được đưa vào đây bằng cách viện dẫn.

Theo các phương án của sáng chế, cấu trúc, vectơ hoặc phân tử ADN tái tổ hợp được đề xuất gồm trình tự ADN có thể phiên mã mã hóa phân tử ARN không mã hóa mà gắn kết hoặc lai với mARN đích trong tế bào cây, trong đó phân tử mARN đích mã hóa gen GA20 hoặc GA3 oxidaza, và trong đó trình tự ADN có thể phiên mã được liên kết theo kiểu hoạt động được với đoạn khởi đầu cơ định hoặc đặc hiệu mô hoặc ưu tiên mô. Ngoài việc nhắm đích trình tự mARN thuần thục, phân tử ARN không mã hóa thay vào đó có thể nhắm đích trình tự intron của gen GA oxidaza hoặc bản phiên mã mARN, hoặc trình tự mARN của GA oxidaza chồng lên các trình tự mã hóa và không mã hóa. Theo các phương án khác, cấu trúc, vectơ hoặc phân tử ADN tái tổ hợp được đề xuất gồm trình tự ADN có thể phiên mã mã hóa phân tử ARN (tiền chất) không mã hóa mà được phân cắt hoặc xử lý bằng phân tử ARN không mã hóa thuần thục mà gắn kết hoặc lai với mARN đích trong tế bào thực vật, trong đó phân tử mARN đích mã hóa protein GA20 hoặc GA3 oxidaza, và trong đó trình tự ADN có thể phiên mã được liên kết theo kiểu hoạt động được với đoạn khởi đầu cơ định hoặc đặc hiệu mô hoặc ưu tiên mô. Đối với các mục đích theo sáng, "phân tử ARN không mã hóa" là phân tử ARN không mã hóa protein. Các ví dụ không giới hạn của phân tử ARN không mã hóa bao gồm ARN nhỏ (miARN), tiền chất miARN, ARN can thiệp nhỏ (siARN), tiền chất siARN, ARN nhỏ (18-26 nt trong chiều dài) và tiền chất mã hóa chúng, siARN tạp sắc (hc-siARN), ARN tương tác Piwi (piARN), ARN sợi kép kẹp tóc (dsARN kẹp tóc), siARN tác động trans (ta-siARN), siARN đối nghĩa tồn tại tự nhiên (nat-siARN), ARN CRISPR (crARN), ARN đánh dấu (tracrARN), ARN dẫn đường (gARN) và ARN dẫn đường đơn (sgARN).

Theo các phương án của sáng chế, đoạn khởi đầu đặc hiệu mô hoặc ưu tiên mô thích hợp để biểu hiện yếu tố ức chế GA20 oxidaza hoặc GA3 oxidaza có thể bao gồm các đoạn khởi đầu mà điều khiển hoặc gây ra sự biểu hiện của yếu tố ức chế hoặc trình tự liên kết của nó ít nhất là ở (các) mô lá và/hoặc mạch của cây ngô hoặc ngũ cốc, hoặc có thể là các mô khác trong trường hợp của GA3 oxidaza. Sự biểu hiện cấu trúc hoặc yếu tố ức chế GA oxidaza với đoạn khởi đầu đặc hiệu mô hoặc ưu tiên mô còn có thể xảy ra ở các mô

khác của cây ngô hoặc ngũ cốc bên ngoài mô lá và mạch, nhưng các mức GA hoạt động trong các mô sinh sản đang phát triển của cây (đặc biệt là trong cơ quan sinh sản cái hoặc bắp) tốt hơn là không bị giảm hoặc ảnh hưởng đáng kể (so với cây đối chứng hoặc kiểu dại), sao cho sự phát triển của cơ quan cái hoặc bắp có thể được xử lý bình thường trong cây chuyển gen không có sự khác dạng ở bắp và khả năng giảm năng suất.

Đoạn khởi đầu mạch bất kỳ đã biết trong lĩnh vực này có thể có khả năng được sử dụng làm đoạn khởi đầu đặc hiệu mô hoặc ưu tiên mô. Ví dụ về đoạn khởi đầu mạch bao gồm đoạn khởi đầu RTBV (xem, ví dụ, SEQ ID NO: 65), đoạn khởi đầu gen sucroza synthaza đã biết, như đoạn khởi đầu sucroza synthaza-1 (Sus1 hoặc Sh1) ở ngô (xem, ví dụ, SEQ ID NO: 67), đoạn khởi đầu gen paralog Sh1 ở ngô, đoạn khởi đầu sucroza synthaza lúa mạch (Ss1) promoter, đoạn khởi đầu sucroza synthaza-1 (RSs1) lúa (xem, ví dụ, SEQ ID NO: 68), hoặc đoạn khởi đầu sucroza synthaza-2 (RSs2) lúa (xem, ví dụ, SEQ ID NO: 69), đoạn khởi đầu gen vận chuyển sucroza đã biết, như đoạn khởi đầu gen vận chuyển sucroza (SUT1) lúa (xem, ví dụ, SEQ ID NO: 70), hoặc các đoạn khởi đầu virut đã biết khác nhau, như đoạn khởi đầu của virut đốm vàng ở chi thài lài (CoYMV), đoạn khởi đầu vùng liên gen lớn (large intergenic region-LIR) của geminivirut gây bệnh lùn ở cây lúa mì (wheat dwarf geminivirus-WDV), đoạn khởi đầu protein vỏ (coat protein-CP) của geminivirut sọc lá ngô (maize streak geminivirus-MSV), hoặc đoạn khởi đầu giống sọc vàng 1 (YS1) ở lúa hoặc OsYSL2 (SEQ ID NO: 71), và phần trình tự chức năng bất kỳ hoặc phần cắt của đoạn khởi đầu bất kỳ nêu trên với kiểu biểu hiện tương tự, như đoạn khởi đầu RTBV bị cắt (xem, ví dụ, SEQ ID NO: 66).

Đoạn khởi đầu lá bất kỳ đã biết trong lĩnh vực này có thể có khả năng được sử dụng làm đoạn khởi đầu đặc hiệu mô hoặc ưu tiên mô. Ví dụ về đoạn khởi đầu lá bao gồm đoạn khởi đầu PPDK hoặc pyruvat phosphat dikinaza ngô (xem, ví dụ, SEQ ID NO: 72), đoạn khởi đầu FDA hoặc fructoza 1,6 bisphosphat aldolaza ngô (xem, ví dụ, SEQ ID NO: 73), và đoạn khởi đầu Nadh-Gogat lúa (xem, ví dụ, SEQ ID NO: 74), và phần trình tự chức năng bất kỳ hoặc phần cắt của đoạn khởi đầu bất kỳ nêu trên với kiểu biểu hiện tương tự. Các ví dụ khác về đoạn khởi đầu lá từ gen của cây một lá mầm bao gồm đoạn khởi đầu ribuloza biphosphat carboxylaza (RuBisCO) hoặc dưới đơn vị nhỏ RuBisCO (RBCS), đoạn khởi đầu gen của protein gắn kết chất diệp lục a/b, đoạn khởi đầu phosphoenolpyruvat

carboxylaza (PEPC), và đoạn khởi đầu gen Myb, và phần trình tự chức năng bất kỳ hoặc phần cắt của đoạn khởi đầu bất kỳ nêu trên với kiểu biểu hiện tương tự.

Đoạn khởi đầu lá và/hoặc mạch khác đã biết trong lĩnh vực này cũng có thể được sử dụng, bao gồm các trình tự khởi đầu từ các gen liên quan (ví dụ, sucroza synthaza, vận chuyển sucroza, và trình tự khởi đầu gen virut) các loài cây hoặc virut giống nhau hoặc khác nhau có mẫu hiểu hiện tương tự. Được đề xuất nữa là trình tự khởi đầu với mức tương đồng cao với trình tự bất kỳ nêu trên. Ví dụ, đoạn khởi đầu mạch có thể gồm trình tự ADN mà tương đồng ít nhất 70%, ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5% hoặc 100% với một hoặc nhiều SEQ ID NO: 65, 66, 67, 68, 69, 70, và 71, phần trình tự chức năng bất kỳ hoặc phần cắt của chúng, và/hoặc trình tự bất kỳ bổ trợ cho trình tự bất kỳ nêu trên; đoạn khởi đầu của lá có thể gồm, ví dụ, trình tự ADN mà tương đồng ít nhất 70%, ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5% hoặc 100% với một hoặc nhiều SEQ ID NO: 72, 73, và 74, phần trình tự chức năng bất kỳ hoặc phần cắt của chúng, và/hoặc trình tự bất kỳ bổ trợ cho trình tự bất kỳ nêu trên; và đoạn khởi đầu cơ định có thể gồm trình tự ADN mà tương đồng ít nhất 70%, ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5% hoặc 100% với một hoặc nhiều SEQ ID NO: 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, và 83, phần trình tự chức năng bất kỳ hoặc phần cắt của chúng, và/hoặc trình tự bất kỳ bổ trợ cho trình tự bất kỳ nêu trên. Ví dụ về đoạn khởi đầu lá và/hoặc mạch còn có thể bao gồm các trình tự khởi đầu được nhận diện sau này và/hoặc được thao tác di truyền đã biết khác, được chứng minh là có kiểu biểu hiện ở (các) mô lá và/hoặc mạch của cây ngô hoặc ngũ cốc. Ngoài ra, đoạn khởi đầu cơ định được nhận diện sau này hoặc đã biết bất kỳ cũng có thể được sử dụng để biểu hiện yếu tố ức chế GA20 oxidaza hoặc GA3 oxidaza. Các ví dụ thông thường của đoạn khởi đầu cơ định được đề xuất dưới đây.

Như được hiểu trong lĩnh vực này, thuật ngữ "đoạn khởi đầu", có thể thường nói đến trình tự ADN có chứa một vị trí gắn ARN polymeraza, vị trí bắt đầu phiên mã, và/hoặc hộp TATA và hỗ trợ hoặc thúc đẩy sự phiên mã và biểu hiện của gen (hoặc gen chuyển) và/hoặc trình tự polynucleotit có thể phiên mã liên quan. Đoạn khởi đầu có thể được tổng hợp hoặc là nhân tạo và/hoặc được thao tác di truyền, đa dạng hoặc có nguồn gốc từ trình tự khởi đầu đã biết hoặc tồn tại tự nhiên. Đoạn khởi đầu có thể là đoạn khởi đầu khảm gồm

sự kết hợp của hai hoặc nhiều trình tự khác loại. Do đó, đoạn khởi đầu của sáng chế có thể bao gồm các biến thể của trình tự khởi đầu có thành phần tương tự nhau, nhưng không tương đồng với, (các) trình tự khởi đầu khác được biết đến hoặc được đề xuất ở đây. Đoạn khởi đầu có thể được phân loại theo nhiều tiêu chí liên quan đến kiểu biểu hiện của trình tự hoặc gen có thể phiên mã hoặc mã hóa liên quan (bao gồm một gen chuyển) được liên kết theo kiểu hoạt động được với đoạn khởi đầu, như cơ định, phát triển, đặc hiệu mô, cảm ứng, v.v.. Đoạn khởi đầu mà điều khiển sự biểu hiện trong tất cả hoặc gần như tất cả các mô của cây được gọi là đoạn khởi đầu "cơ định". Tuy nhiên, mức độ biểu hiện với "đoạn khởi đầu cơ định" không nhất thiết phải đồng nhất giữa các loại mô và tế bào khác nhau. Đoạn khởi đầu mà điều khiển sự biểu hiện trong các thời kì hoặc giai đoạn phát triển nhất định được gọi là đoạn khởi đầu "phát triển". Đoạn khởi đầu mà điều khiển sự biểu hiện tăng cường trong một số mô của cây so với các mô thực vật khác được gọi là đoạn khởi đầu "tăng cường mô" hoặc "ưu tiên mô". Do đó, đoạn khởi đầu "ưu tiên mô" gây ra sự biểu hiện tương đối cao hơn hoặc ưu tiên hoặc chiếm ưu thế trong (các) mô cụ thể của cây, nhưng với mức độ biểu hiện thấp hơn trong (các) mô khác của cây. Đoạn khởi đầu biểu hiện trong (các) mô cụ thể của cây, với ít hoặc không có biểu hiện nào trong các mô thực vật khác, được gọi là đoạn khởi đầu "đặc hiệu mô". Đoạn khởi đầu đặc hiệu mô hoặc ưu tiên mô còn có thể được định nghĩa theo các mô cụ thể hoặc được ưu tiên trong đó nó điều khiển sự biểu hiện của yếu tố ức chế hoặc trình tự ADN có thể phiên mã được liên kết của nó. Ví dụ, đoạn khởi đầu gây ra sự biểu hiện cụ thể trong các mô mạch có thể được gọi là "đoạn khởi đầu đặc hiệu mạch", trong khi đó đoạn khởi đầu gây ra sự biểu hiện ưu tiên hoặc chiếm ưu thế trong các mô mạch có thể được gọi là "đoạn khởi đầu ưu tiên mạch". Tương tự, đoạn khởi đầu gây ra sự biểu hiện đặc hiệu trong các mô lá có thể được gọi là "đoạn khởi đầu đặc hiệu lá", trong khi đó đoạn khởi đầu gây ra sự biểu hiện ưu tiên hoặc chiếm ưu thế trong các mô lá có thể được gọi là "đoạn khởi đầu ưu tiên lá". Đoạn khởi đầu "cảm ứng" là đoạn khởi đầu khởi tạo quá trình phiên mã để đáp ứng với một kích thích môi trường như lạnh, hạn hán hoặc ánh sáng, hoặc các kích thích khác, như vết cắt hoặc ứng dụng hóa học. Đoạn khởi đầu cũng có thể được phân loại theo nguồn gốc của nó, như là khác loại, tương đồng, khảm, tổng hợp, v.v.. Đoạn khởi đầu "khác loại" là trình tự khởi đầu có nguồn gốc khác nhau liên quan đến trình tự có thể phiên mã, trình tự mã hóa, hoặc gen (hoặc gen chuyển) liên kết của nó, và/hoặc không tồn tại trong tự nhiên trong các loài thực vật được biến đổi, như nêu trên.

Một vài GA oxidaza ở cây ngũ cốc gồm họ các gen GA oxidaza liên quan. Ví dụ, cây ngô có họ gồm ít nhất chín gen GA20 oxidaza gồm GA20 oxidaza_1, GA20 oxidaza_2, GA20 oxidaza_3, GA20 oxidaza_4, GA20 oxidaza_5, GA20 oxidaza_6, GA20 oxidaza_7, GA20 oxidaza_8, và GA20 oxidaza_9. Tuy nhiên, chỉ có hai GA3 oxidaza ở ngô, GA3 oxidaza_1 và GA3 oxidaza_2. Trình tự ADN và protein theo SEQ ID NO cho mỗi trong số các gen GA20 này được đề xuất trong bảng 1, và trình tự ADN và protein theo SEQ ID NO cho mỗi trong số các gen GA3 oxidaza được đề xuất trong bảng 2.

Bảng 1. Trình tự ADN và protein theo ký hiệu nhận dạng đối với gen GA20 oxidaza ở ngô.

Gen GA20 oxidaza	ADN bổ trợ	Trình tự mã hóa (CDS)	Protein
GA20 oxidaza_1	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 2	SEQ ID NO: 3
GA20 oxidaza_2	SEQ ID NO: 4	SEQ ID NO: 5	SEQ ID NO: 6
GA20 oxidaza_3	SEQ ID NO: 7	SEQ ID NO: 8	SEQ ID NO: 9
GA20 oxidaza_4	SEQ ID NO: 10	SEQ ID NO: 11	SEQ ID NO: 12
GA20 oxidaza_5	SEQ ID NO: 13	SEQ ID NO: 14	SEQ ID NO: 15
GA20 oxidaza_6	SEQ ID NO: 16	SEQ ID NO: 17	SEQ ID NO: 18
GA20 oxidaza_7	SEQ ID NO: 19	SEQ ID NO: 20	SEQ ID NO: 21
GA20 oxidaza_8	SEQ ID NO: 22	SEQ ID NO: 23	SEQ ID NO: 24
GA20 oxidaza_9	SEQ ID NO: 25	SEQ ID NO: 26	SEQ ID NO: 27

Bảng 2. Trình tự ADN và protein theo ký hiệu nhận dạng đối với gen GA3 oxidaza ở ngô.

Gen GA3 oxidaza	ADN bổ trợ	Trình tự mã hóa (CDS)	Protein
GA3 oxidaza_1	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 29	SEQ ID NO: 30
GA3 oxidaza_2	SEQ ID NO: 31	SEQ ID NO: 32	SEQ ID NO: 33

Trình tự ADN hệ gen của GA20 oxidaza_3 được đề xuất trong SEQ ID NO: 34, và trình tự ADN hệ gen của GA20 oxidaza_5 được đề xuất trong SEQ ID NO: 35. Đối với gen GA20 oxidaza_3, SEQ ID NO: 34 tạo ra 3000 nucleotit ngược dòng của 5'-UTR GA20 oxidaza_3; nucleotit 3001-3096 tương ứng với 5'-UTR; nucleotit 3097-3665 tương ứng với exon thứ nhất; nucleotit 3666-3775 intron thứ nhất; nucleotit 3776-4097 tương ứng với exon thứ hai; nucleotit 4098-5314 tương ứng với intron thứ hai; nucleotit 5315-5584 tương

ứng với exon thứ ba; và nucleotit 5585-5800 tương ứng với 3'-UTR. SEQ ID NO: 34 còn tạo ra 3000 nucleotit xuôi dòng của đầu 3'-UTR (nucleotit 5801-8800). Đối với gen GA20 oxidaza_5, SEQ ID NO: 35 tạo ra 3000 nucleotit ngược dòng của codon bắt đầu GA20 oxidaza_5 (nucleotit 1-3000); nucleotit 3001-3791 tương ứng với exon thứ nhất; nucleotit 3792-3906 tương ứng với intron thứ nhất; nucleotit 3907-4475 tương ứng với exon thứ hai; nucleotit 4476-5197 tương ứng với intron thứ hai; nucleotit 5198-5473 tương ứng với exon thứ ba; và nucleotit 5474-5859 tương ứng với 3'-UTR. SEQ ID NO: 35 còn tạo ra 3000 nucleotit xuôi dòng của đầu 3'-UTR (nucleotit 5860-8859).

Trình tự ADN hệ gen của GA3 oxidaza_1 được đề xuất trong SEQ ID NO: 36, và trình tự ADN hệ gen của GA3 oxidaza_2 được đề xuất trong SEQ ID NO: 37. Đối với gen GA3 oxidaza_1, nucleotit 1-29 của SEQ ID NO: 36 tương ứng với 5'-UTR; nucleotit 30-514 của SEQ ID NO: 36 tương ứng với exon thứ nhất; nucleotit 515-879 của SEQ ID NO: 36 tương ứng với intron thứ nhất; nucleotit 880-1038 của SEQ ID NO: 36 tương ứng với exon thứ hai; nucleotit 1039-1158 của SEQ ID NO: 36 tương ứng với intron thứ hai; nucleotit 1159-1663 của SEQ ID NO: 36 tương ứng với exon thứ ba; và nucleotit 1664-1788 của SEQ ID NO: 36 tương ứng với 3'-UTR. Đối với gen GA3 oxidaza_2, nucleotit 1-38 của SEQ ID NO: 37 tương ứng với 5-UTR; nucleotit 39-532 của SEQ ID NO: 37 tương ứng với exon thứ nhất; nucleotit 533-692 của SEQ ID NO: 37 tương ứng với intron thứ nhất; nucleotit 693-851 của SEQ ID NO: 37 tương ứng với exon thứ hai; nucleotit 852-982 của SEQ ID NO: 37 tương ứng với intron thứ hai; nucleotit 983-1445 của SEQ ID NO: 37 tương ứng với exon thứ ba; và nucleotit 1446-1698 của SEQ ID NO: 37 tương ứng với 3'-UTR.

Ngoài việc quan sát kiểu hình với sự nhắm đích (các) gen GA20 oxidaza_3 và/hoặc GA20 oxidaza_5, hoặc (các) gen GA3 oxidaza_1 và/hoặc GA3 oxidaza_2, để ức chế, kiểu hình bán lùn còn được quan sát với sự ức chế gen GA20 oxidaza_4. Trình tự ADN hệ gen của GA20 oxidaza_4 được đề xuất trong SEQ ID NO: 38. Đối với gen GA oxidaza_4, SEQ ID NO: 38 tạo ra nucleotit 1-1416 ngược dòng của 5'-UTR; nucleotit 1417-1543 của SEQ ID NO: 38 tương ứng với 5'-UTR; nucleotit 1544-1995 của SEQ ID NO: 38 tương ứng với exon thứ nhất; nucleotit 1996-2083 của SEQ ID NO: 38 tương ứng với intron thứ nhất; nucleotit 2084-2411 của SEQ ID NO: 38 tương ứng với exon thứ hai; nucleotit 2412-2516 của SEQ ID NO: 38 tương ứng với intron thứ hai; nucleotit 2517-2852

của SEQ ID NO: 38 tương ứng với exon thứ ba; nucleotit 2853-3066 của SEQ ID NO: 38 tương ứng với 3'-UTR; và nucleotit 3067-4095 của SEQ ID NO: 38 tương ứng với trình tự hệ gen xuôi dòng với 3'-UTR.

Theo các phương án của sáng chế, cấu trúc, vectơ hoặc phân tử ADN tái tổ hợp được đề xuất gồm trình tự ADN có thể phiên mã mã hóa phân tử ARN không mã hóa, trong đó phân tử ARN không mã hóa gồm trình tự mà bổ sung ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% cho ít nhất một đoạn hoặc một phần của phân tử mARN (i) được biểu hiện từ gen GA oxidaza nội sinh và/hoặc (ii) mã hóa protein GA oxidaza nội sinh ở thực vật, trong đó trình tự ADN có thể phiên mã được liên kết theo kiểu hoạt động được với đoạn khởi đầu biểu hiện được ở thực vật, và trong đó thực vật là cây ngô hoặc ngũ cốc.

Theo một vài phương án, phân tử ARN không mã hóa nhắm đích (các) gen GA20 oxidaza, như (các) gen GA20 oxidaza_3 và/hoặc GA20 oxidaza_5, để ức chế và gồm trình tự mà bổ sung ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% cho ít nhất 15, ít nhất 16, ít nhất 17, ít nhất 18, ít nhất 19, ít nhất 20, ít nhất 21, ít nhất 22, ít nhất 23, ít nhất 24, ít nhất 25, ít nhất 26, hoặc ít nhất 27 nucleotit liên tiếp của một hoặc nhiều SEQ ID NO: 7, 8, 13 và 14. Theo một vài phương án, phân tử ARN không mã hóa bổ sung ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% cho ít nhất 15, ít nhất 16, ít nhất 17, ít nhất 18, ít nhất 19, ít nhất 20, ít nhất 21, ít nhất 22, ít nhất 23, ít nhất 24, ít nhất 25, ít nhất 26, hoặc ít nhất 27 nucleotit liên tiếp của phân tử mARN mã hóa protein GA20 oxidaza nội sinh ở thực vật mà tương đồng ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% với một hoặc cả hai SEQ ID NO: 9 và 15. Theo các phương án khác, phân tử ARN không mã hóa có thể gồm trình tự mà bổ sung ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% cho ít nhất 15, ít nhất 16, ít nhất 17, ít nhất 18, ít nhất 19, ít nhất 20, ít nhất 21, ít nhất 22, ít nhất 23, ít nhất 24, ít nhất 25, ít nhất 26, hoặc ít nhất 27 nucleotit liên tiếp của phân tử mARN mã hóa protein GA20 oxidaza nội sinh ở thực vật mà giống ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% với một hoặc cả hai SEQ ID NO: 9 và 15. Ngoài việc

nhắm đích trình tự mARN thuần thục (bao gồm một hoặc cả hai trình tự exon hoặc chưa được dịch mã), phân tử ARN không mã hóa còn có thể nhắm đích các trình tự intron của bản phiên mã hoặc gen GA20 oxidaza.

Theo một vài phương án, phân tử ARN không mã hóa nhắm đích (các) gen GA3 oxidaza để ức chế và gồm trình tự mà bổ sung ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% cho ít nhất 15, ít nhất 16, ít nhất 17, ít nhất 18, ít nhất 19, ít nhất 20, ít nhất 21, ít nhất 22, ít nhất 23, ít nhất 24, ít nhất 25, ít nhất 26, hoặc ít nhất 27 nucleotit liên tiếp của một hoặc nhiều SEQ ID NO: 28, 29, 31 và 32. Theo các phương án khác, phân tử ARN không mã hóa bổ sung ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% cho ít nhất 15, ít nhất 16, ít nhất 17, ít nhất 18, ít nhất 19, ít nhất 20, ít nhất 21, ít nhất 22, ít nhất 23, ít nhất 24, ít nhất 25, ít nhất 26, hoặc ít nhất 27 nucleotit liên tiếp của phân tử mARN mã hóa protein GA3 oxidaza nội sinh ở thực vật mà tương đồng ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% với một hoặc cả hai SEQ ID NO: 30 và 33. Theo các phương án khác, phân tử ARN không mã hóa có thể gồm trình tự mà bổ sung ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% cho ít nhất 15, ít nhất 16, ít nhất 17, ít nhất 18, ít nhất 19, ít nhất 20, ít nhất 21, ít nhất 22, ít nhất 23, ít nhất 24, ít nhất 25, ít nhất 26, hoặc ít nhất 27 nucleotit liên tiếp của phân tử mARN mã hóa protein GA3 oxidaza nội sinh ở thực vật mà giống ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% với một hoặc cả hai SEQ ID NO: 30 và 33. Ngoài việc nhắm đích trình tự mARN thuần thục (bao gồm một hoặc cả hai trình tự exon hoặc chưa được dịch mã), phân tử ARN không mã hóa còn có thể nhắm đích các trình tự intron của bản phiên mã hoặc gen GA3 oxidaza.

Theo một vài phương án, phân tử ARN không mã hóa nhắm đích gen GA20 oxidaza_4 để ức chế và gồm trình tự mà bổ sung ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% cho ít nhất 15, ít nhất 16, ít nhất 17, ít nhất 18, ít nhất 19, ít nhất 20, ít nhất 21, ít nhất 22, ít nhất 23, ít nhất 24, ít nhất 25, ít nhất 26, hoặc ít nhất 27 nucleotit liên tiếp của một hoặc cả hai SEQ ID NO: 10 và 11. Theo các phương án khác, phân tử ARN không mã hóa bổ

sung ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% cho ít nhất 15, ít nhất 16, ít nhất 17, ít nhất 18, ít nhất 19, ít nhất 20, ít nhất 21, ít nhất 22, ít nhất 23, ít nhất 24, ít nhất 25, ít nhất 26, hoặc ít nhất 27 nucleotit liên tiếp của phân tử mARN mã hóa protein GA20 oxidaza nội sinh ở thực vật mà tương đồng ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% với một hoặc cả hai SEQ ID NO: 12. Theo các phương án khác, phân tử ARN không mã hóa có thể gồm trình tự mà bổ sung ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% cho ít nhất 15, ít nhất 16, ít nhất 17, ít nhất 18, ít nhất 19, ít nhất 20, ít nhất 21, ít nhất 22, ít nhất 23, ít nhất 24, ít nhất 25, ít nhất 26, hoặc ít nhất 27 nucleotit liên tiếp của phân tử mARN mã hóa protein GA20 oxidaza nội sinh ở thực vật mà giống ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% với SEQ ID NO: 12. Ngoài việc nhắm đích trình tự mARN thuần thục (bao gồm một hoặc cả hai trình tự exon hoặc chưa được dịch mã), phân tử ARN không mã hóa còn có thể nhắm đích các trình tự intron của bản phiên mã hoặc gen GA20 oxidaza.

Theo nhiều phương án, phân tử ARN không mã hóa được mã hóa bởi trình tự ADN có thể phiên mã của cấu trúc, vectơ hoặc phân tử ADN tái tổ hợp có thể là tiền chất miARN hoặc siARN mà được xử lý hoặc phân cắt ở tế bào thực vật để tạo thành miARN hoặc siARN thuần thục mà nhắm đích gen GA20 oxidaza hoặc GA3 oxidaza.

Theo các phương án của sáng chế, mức GA có thể được giảm ở thân hoặc cuống của cây ngô hoặc ngũ cốc bằng cách nhắm đích chỉ tập hợp con giới hạn của các gen trong họ GA oxidaza để ức chế. Không bị giới hạn bởi lý thuyết, đề xuất rằng sự nhắm đích số lượng giới hạn của các gen trong họ GA oxidaza để ức chế có thể tạo ra kiểu hình chiều cao thấp và khả năng chống đổ ở cây chuyển gen, mà không có sự khác dạng ở các mô sinh sản hoặc bắp của cây do sự biểu hiện khác nhau giữa các gen GA oxidaza, sự bổ trợ đủ cho (các) gen GA được ức chế bởi (các) gen GA oxidaza khác trong các mô sinh sản đó, và/hoặc sự ức chế không hoàn toàn (các) gen GA oxidaza đích. Do đó, không chỉ sự khác dạng có thể được tránh bằng cách hạn chế sự biểu hiện hoặc sự ức chế (các) gen GA oxidaza bằng đoạn khởi đầu đặc hiệu mô hoặc ưu tiên mô, đề xuất rằng tập hợp con giới hạn của các gen GA oxidaza (ví dụ, số lượng hạn chế của các gen GA20 oxidaza) có thể được nhắm đích

để ức chế, sao cho các gen GA oxidaza khác trong cùng họ gen (ví dụ, các gen GA20 oxidaza khác) có thể bù cho sự giảm biểu hiện (các) gen GA oxidaza bị ức chế ở các mô đó. Sự ức chế không hoàn toàn (các) gen GA oxidaza đích còn có thể cho phép mức biểu hiện đủ của (các) gen GA oxidaza đích ở một hoặc nhiều mô để tránh sự khác dạng hoặc các đặc điểm không mong muốn ở cây mà sẽ ảnh hưởng tiêu cực đến năng suất cây trồng, như sự khác dạng sinh sản hoặc sự rút ngắn quá mức chiều cao cây. Không giống như đột biến mất chức năng hoàn toàn trong gen, sự ức chế có thể cho phép hoạt tính một phần của gen đích vẫn tồn tại. Do các gen GA20 oxidaza khác nhau có các kiểu biểu hiện khác nhau ở thực vật, nên việc nhắm đích tập hợp con giới hạn của các gen GA20 oxidaza để ức chế có thể cho phép sửa đổi một số đặc điểm trong khi tránh được sự khác dạng được kết hợp trước đó với các đột biến GA trong cây ngũ cốc. Nói cách khác, các đặc điểm sinh trưởng, phát triển và sinh sản hoặc sự khác dạng được kết hợp trước đây với các đột biến GA trong cây ngô và các loại cây ngũ cốc khác có thể được tách ra bằng cách nhắm đích chỉ số lượng hoặc tập hợp con hạn chế (ví dụ, một hoặc nhiều, nhưng không phải tất cả) các gen GA20 hoặc GA3 oxidaza và/hoặc bằng cách ức chế không hoàn toàn gen GA oxidaza đích. Bằng cách nhắm đích theo kiểu chuyển gen tập hợp con của một hoặc nhiều gen GA3 hoặc GA20 oxidaza nội sinh để ức chế trong cây, kiểu biểu hiện phổ biến hơn (ví dụ, trong đoạn khởi đầu cơ định) có thể được sử dụng tạo ra cây bán lùn mà không có sự khác dạng sinh sản đáng kể và/hoặc các đặc điểm không mong muốn khác trong cây, ngay cả khi có sự biểu hiện của cấu trúc chuyển gen trong (các) mô sinh sản. Thật vậy, yếu tố ức chế và cấu trúc được đề xuất ở đây nhắm đích chọn lọc các gen GA20 oxidaza_3 và/hoặc GA20 oxidaza_5 (được xác định trong Bảng 1 ở trên), để ức chế, mà có thể được liên kết theo kiểu hoạt động được với đoạn khởi đầu mạch, lá và/hoặc cơ định.

Với cấu trúc ức chế chỉ nhắm vào một tập hợp con giới hạn của các gen GA20 oxidaza, như gen GA20 oxidaza_3, GA20 oxidaza_4, và/hoặc GA20 oxidaza_5, hoặc nhắm vào gen GA3 oxidaza_1 và/hoặc GA3 oxidaza_2, hạn chế kiểu biểu hiện của yếu tố ức chế có thể ít quan trọng hơn để có được sự phát triển sinh sản bình thường của cây ngũ cốc hoặc cây ngô và tránh sự khác dạng trong cơ quan cái hoặc bắp do sự bổ trợ, v.v., từ các gen GA20 và/hoặc GA3 oxidaza khác. Do đó, sự biểu hiện của cấu trúc và yếu tố ức chế, nhắm đích chọn lọc hoặc ưu tiên, ví dụ, (các) gen GA20 oxidaza_3 và/hoặc GA20 oxidaza_5, gen GA20 oxidaza_4, và/hoặc (các) gen GA3 oxidaza_1 và/hoặc GA3 oxidaza_2 ở ngô, hoặc các gen tương tự và dạng tương tự ở các cây ngũ cốc khác, có thể

được điều khiển bằng các đoạn khởi đầu biểu hiện được ở thực vật khác nhau bao gồm đoạn khởi đầu cơ định và đoạn khởi đầu đặc hiệu mô hoặc ưu tiên mô, như đoạn khởi đầu mạch hoặc lá, mà có thể bao gồm, ví dụ, đoạn khởi đầu RTBV nêu trên (ví dụ, đoạn khởi đầu gồm trình tự RTBV (SEQ ID NO: 65) hoặc RTBV được cắt (SEQ ID NO: 66)), và các đoạn khởi đầu bất kỳ khác mà điều khiển sự biểu hiện ở các mô bao gồm nhiều hoặc tất cả (các) mô mạch và/hoặc lá của cây. Đoạn khởi đầu cơ định đã biết hoặc được nhận diện sau này bất kỳ với mức biểu hiện đủ cao cũng có thể được sử dụng để biểu hiện cấu trúc ức chế nhắm đích tập hợp con của các gen GA20 và/hoặc GA3 oxidaza ở ngô, đặc biệt là (các) gen GA20 oxidaza_3 và/hoặc GA20 oxidaza_5, gen GA20 oxidaza_4, và/hoặc (các) gen GA3 oxidaza_1 và/hoặc GA3 oxidaza_2, hoặc các gen tương tự và dạng tương đồng ở các cây ngũ cốc khác.

Ví dụ về các đoạn khởi đầu cơ định mà có thể được sử dụng ở cây một lá mầm, như cây ngô hoặc ngũ cốc, bao gồm, ví dụ, các đoạn khởi đầu gen actin khác nhau, như đoạn khởi đầu Actin 1 ở lúa (xem, ví dụ, patent Mỹ số 5,641,876; cũng xem SEQ ID NO: 75 hoặc SEQ ID NO: 76) đoạn khởi đầu Actin 2 ở lúa (xem, ví dụ, patent Mỹ số 6,429,357; cũng xem, ví dụ, SEQ ID NO: 77 hoặc SEQ ID NO: 78), đoạn khởi đầu CaMV 35S hoặc 19S (xem, ví dụ, patent Mỹ số 5,352,605; cũng xem, ví dụ SEQ ID NO: 79 đối với CaMV 35S), đoạn khởi đầu ubiquitin ở ngô (xem, ví dụ, patent Mỹ số 5,510,474), đoạn khởi đầu *Coix lacryma-jobi* polyubiquitin (xem, ví dụ, SEQ ID NO: 80), đoạn khởi đầu Gos2 lúa hoặc ngô (xem, ví dụ, Pater và đồng tác giả, The Plant Journal, 2(6): 837-44 1992; cũng xem, ví dụ SEQ ID NO: 81 đối với đoạn khởi đầu Gos2 lúa), đoạn khởi đầu FMV 35S (xem, ví dụ, patent Mỹ số 6,372,211), đoạn khởi đầu CMV tăng cường kép (xem, ví dụ, patent Mỹ số 5,322,938), đoạn khởi đầu MMV (xem, ví dụ, patent Mỹ số 6,420,547; cũng xem, ví dụ SEQ ID NO: 82), đoạn khởi đầu PCLSV (xem, ví dụ, patent Mỹ số 5,850,019; cũng xem, ví dụ SEQ ID NO: 83), đoạn khởi đầu Emu (xem, ví dụ, Last và đồng tác giả, Theor. Appl. Genet. 81:581 (1991); và Mcelroy và đồng tác giả, Mol. Gen. Genet. 231:150 (1991)), đoạn khởi đầu tubulin từ cây ngô, lúa hoặc các loài khác, đoạn khởi đầu nopalin synthaza (nos), đoạn khởi đầu octopin synthaza (ocs), đoạn khởi đầu mannopin synthaza (mas), hoặc đoạn khởi đầu rượu dehydrogenaza ở cây (ví dụ, Adh1 ngô), đoạn khởi đầu bất kỳ khác bao gồm đoạn khởi đầu virut đã biết hoặc được nhận diện sau này trong lĩnh vực này để tạo ra sự biểu hiện cơ định ở cây ngô hoặc ngũ cốc, đoạn khởi đầu cơ định bất

kỳ khác đã biết trong lĩnh vực này có thể được sử dụng ở cây ngũ cốc hoặc một lá mầm, và phần trình tự chức năng bất kỳ hoặc phần cắt của đoạn khởi đầu bất kỳ nêu trên.

Mức biểu hiện đủ của trình tự ADN có thể phiên mã mã hóa phân tử ARN không mã hóa nhắm đích gen GA oxidaza để ức chế có thể là cần thiết để tạo ra một kiểu hình chiều cao thấp, bán lùn có khả năng chống đổ, vì mức độ biểu hiện thấp hơn có thể không đủ để hạ thấp mức GA hoạt động trong cây đến một mức đủ để tạo ra một kiểu hình đáng kể. Do đó, có thể ưu tiên đoạn khởi đầu đặc hiệu mô và ưu tiên mô mà điều khiển, v.v., mức biểu hiện vừa phải hoặc mạnh của trình tự ADN có thể phiên mã được liên kết của chúng ở (các) mô tạo GA hoạt động của cây. Ngoài ra, đoạn khởi đầu đặc hiệu mô và ưu tiên mô này phải điều khiển, v.v., sự biểu hiện của trình tự ADN có thể phiên mã được liên kết của chúng trong một hoặc nhiều (các) giai đoạn phát triển sinh dưỡng của cây khi cây đang lớn và/hoặc kéo dài bao gồm một hoặc nhiều (các) giai đoạn sinh dưỡng sau: V_E, V1, V2, V3, V4, V5, V6, V7, V8, V9, V10, V11, V12, V13, V14, Vn, V_T, như sự biểu hiện ít nhất trong V3-V12, V4-V12, V5-V12, V6-V12, V7-V12, V8-V12, V3-V14, V5-V14, V6-V14, V7-V14, V8-V14, V9-V14, V10-V14, v.v., hoặc trong khoảng bất kỳ khác của các giai đoạn sinh dưỡng khi sự sinh trưởng và/hoặc kéo dài cây đang xảy ra.

Theo nhiều phương án, đoạn khởi đầu biểu hiện được ở thực vật tốt hơn là có thể điều khiển sự biểu hiện theo kiểu cơ định hoặc ở ít nhất một phần của các mô mạch và/hoặc lá của cây. Các đoạn khởi đầu khác nhau điều khiển sự biểu hiện của yếu tố ức chế nhắm đích (các) gen GA20 oxidaza_3 và/hoặc GA20 oxidaza_5 nội sinh, gen GA20 oxidaza_4, (các) gen GA3 oxidaza_1 và/hoặc GA3 oxidaza_2 ở ngô, hoặc các gen tương tự và dạng tương đồng ở các cây ngũ cốc khác, có thể là hữu hiệu để giảm chiều cao cây và tăng khả năng chống đổ để thay đổi các mức phụ thuộc vào kiểu cụ thể của chúng và cường độ biểu hiện ở cây. Tuy nhiên, một số đoạn khởi đầu đặc hiệu mô và ưu tiên mô điều khiển sự biểu hiện của yếu tố ức chế GA20 hoặc GA3 oxidaza ở cây có thể không tạo ra kiểu hình chiều cao thấp hoặc chống đổ đáng kể do kiểu biểu hiện không gian-thời gian của đoạn khởi đầu trong quá trình phát triển cây, và/hoặc lượng hoặc cường độ biểu hiện của đoạn khởi đầu quá thấp hoặc yếu. Hơn nữa, một số cấu trúc ức chế chỉ có thể làm giảm và không loại bỏ biểu hiện của (các) gen GA20 hoặc GA3 oxidaza đích khi được biểu hiện ở cây, và do đó tùy thuộc vào kiểu và cường độ biểu hiện với đoạn khởi đầu nhất định, kiểu và mức độ biểu hiện của cấu trúc ức chế GA20 hoặc GA3 oxidaza với đoạn khởi đầu như

vậy có thể không đủ để tạo ra kiểu hình chiều cao cây và khả năng chống đổ có thể quan sát được ở thực vật.

Theo các phương án này, cấu trúc, vectơ hoặc phân tử ADN tái tổ hợp để ức chế một hoặc nhiều (các) gen GA20 hoặcn GA3 oxidaza nội sinh ở cây được đề xuất gồm trình tự ADN có thể phiên mã mã hóa phân tử ARN không mã hóa, trong đó phân tử ARN không mã hóa gồm trình tự mà bổ sung ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% cho ít nhất một đoạn hoặc một phần của phân tử mARN được biểu hiện từ gen GA oxidaza nội sinh và mã hóa protein GA oxidaza nội sinh ở cây, trong đó trình tự ADN có thể phiên mã được liên kết theo kiểu hoạt động được với đoạn khởi đầu biểu hiện được ở thực vật, và trong đó cây là cây ngô hoặc ngũ cốc. Như nêu trên, ngoài việc nhắm đích trình tự mARN thuần thục, phân tử ARN không mã hóa còn có thể nhắm đích (các) trình tự intron của bản phiên mã hoặc gen GA oxidaza. Theo nhiều phương án, phân tử ARN không mã hóa có thể nhắm đích gen GA20 oxidaza_3 để ức chế và gồm trình tự mà bổ sung ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% cho ít nhất 15, ít nhất 16, ít nhất 17, ít nhất 18, ít nhất 19, ít nhất 20, ít nhất 21, ít nhất 22, ít nhất 23, ít nhất 24, ít nhất 25, ít nhất 26, hoặc ít nhất 27 nucleotit liên tiếp của SEQ ID NO: 7 hoặc SEQ ID NO: 8. Theo một vài phương án, phân tử ARN không mã hóa nhắm đích gen GA20 oxidaza_3 để ức chế có thể bổ trợ cho ít nhất 19 nucleotit liên tiếp, nhưng không nhiều hơn 27 nucleotit liên tiếp, như bổ trợ cho 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, hoặc 27 nucleotit liên tiếp, của SEQ ID NO: 7 hoặc SEQ ID NO: 8. Theo một vài phương án, phân tử ARN không mã hóa có thể nhắm đích gen GA20 oxidaza để ức chế và gồm trình tự mà bổ sung ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% cho ít nhất 15, ít nhất 16, ít nhất 17, ít nhất 18, ít nhất 19, ít nhất 20, ít nhất 21, ít nhất 22, ít nhất 23, ít nhất 24, ít nhất 25, ít nhất 26, hoặc ít nhất 27 nucleotit liên tiếp của phân tử mARN mã hóa protein GA20 oxidaza nội sinh ở thực vật mà tương đồng ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% với SEQ ID NO: 9. Theo các phương án khác, phân tử ARN không mã hóa có thể gồm trình tự mà bổ sung ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% cho ít nhất 15, ít nhất 16, ít nhất 17, ít nhất 18, ít nhất 19, ít nhất 20, ít nhất 21, ít nhất 22, ít nhất 23, ít nhất 24, ít nhất 25, ít nhất

tiếp, nhưng không lớn hơn 27 nucleotit liên tiếp, như bổ trợ cho 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, hoặc 27 nucleotit liên tiếp, của SEQ ID NO: 13 hoặc SEQ ID NO: 14. Theo một vài phương án, phân tử ARN không mã hóa có thể nhắm đích gen GA20 oxidaza để ức chế gồm trình tự mà bổ sung ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% cho ít nhất 15, ít nhất 16, ít nhất 17, ít nhất 18, ít nhất 19, ít nhất 20, ít nhất 21, ít nhất 22, ít nhất 23, ít nhất 24, ít nhất 25, ít nhất 26, hoặc ít nhất 27 nucleotit liên tiếp của phân tử mARN mã hóa protein GA20 oxidaza nội sinh ở thực vật mà tương đồng ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% với SEQ ID NO: 15. Theo các phương án khác, phân tử ARN không mã hóa có thể gồm trình tự mà bổ sung ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% cho ít nhất 15, ít nhất 16, ít nhất 17, ít nhất 18, ít nhất 19, ít nhất 20, ít nhất 21, ít nhất 22, ít nhất 23, ít nhất 24, ít nhất 25, ít nhất 26, hoặc ít nhất 27 nucleotit liên tiếp của phân tử mARN mã hóa protein GA20 oxidaza nội sinh mà tương tự ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% với SEQ ID NO: 15.

Như nêu trên, phân tử ARN không mã hóa có thể nhắm đích trình tự intron của gen GA oxidaza thay cho, hoặc ngoài, vùng chưa dịch mã hoặc thuộc exon của mARN thuần thục của gen GA oxidaza. Do đó, phân tử ARN không mã hóa nhắm đích gen GA20 oxidaza_5 để ức chế có thể gồm trình tự mà bổ sung ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% cho ít nhất 15, ít nhất 16, ít nhất 17, ít nhất 18, ít nhất 19, ít nhất 20, ít nhất 21, ít nhất 22, ít nhất 23, ít nhất 24, ít nhất 25, ít nhất 26, hoặc ít nhất 27 nucleotit liên tiếp của SEQ ID NO: 35, và/hoặc của nucleotit 3792-3906 hoặc 4476-5197 của SEQ ID NO: 35. Các trình tự được đề xuất ở đây cho GA20 oxidaza_5 có thể thay đổi theo sự đa dạng của cây ngô, dòng và mầm nguyên sinh do hiện tượng đa hình và/hoặc sự hiện diện của các alen khác nhau của gen. Hơn nữa, gen GA20 oxidaza_5 có thể được biểu thị dưới dạng các đồng phân ghép xen kẽ có thể tạo ra các mARN, ADN bổ trợ và các trình tự mã hóa khác nhau có thể ảnh hưởng đến thiết kế cấu trúc ức chế và phân tử ARN không mã hóa. Do đó, phân tử ARN không mã hóa nhắm đích gen GA20 oxidaza_3 để ức chế có thể được xác định rộng hơn như gồm trình tự mà bổ sung ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% cho ít nhất

26, hoặc ít nhất 27 nucleotit liên tiếp của phân tử mARN mã hóa protein GA20 oxidaza nội sinh mà tương tự ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% với SEQ ID NO: 9.

Như nêu trên, phân tử ARN không mã hóa có thể nhắm đích trình tự intron của gen GA oxidaza thay cho, hoặc ngoài, 5' UTR hoặc 3' UTR, chứa exon, của gen GA oxidaza. Do đó, phân tử ARN không mã hóa nhắm đích gen GA20 oxidaza_3 để ức chế có thể gồm trình tự mà bổ sung ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% cho ít nhất 15, ít nhất 16, ít nhất 17, ít nhất 18, ít nhất 19, ít nhất 20, ít nhất 21, ít nhất 22, ít nhất 23, ít nhất 24, ít nhất 25, ít nhất 26, hoặc ít nhất 27 nucleotit liên tiếp của SEQ ID NO: 34, và/hoặc của nucleotit 3666-3775 hoặc 4098-5314 của SEQ ID NO: 34. Điều quan trọng cần lưu ý là các trình tự được đề xuất ở đây cho gen GA20 oxidaza_3 có thể thay đổi khác nhau tùy theo sự đa dạng của cây ngô, dòng và mầm nguyên sinh do hiện tượng đa hình và/hoặc sự hiện diện của các alen khác nhau của gen. Hơn nữa, gen GA20 oxidaza_3 có thể được biểu hiện dưới dạng các đồng phân ghép xen kẽ có thể tạo ra các mARN, ADN bổ trợ và các trình tự mã hóa khác nhau có thể ảnh hưởng đến thiết kế cấu trúc ức chế và phân tử ARN không mã hóa. Do đó, phân tử ARN không mã hóa nhắm đích gen GA20 oxidaza_3 để ức chế có thể được xác định theo cách rộng hơn là gồm trình tự mà bổ sung ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% cho ít nhất 15, ít nhất 16, ít nhất 17, ít nhất 18, ít nhất 19, ít nhất 20, ít nhất 21, ít nhất 22, ít nhất 23, ít nhất 24, ít nhất 25, ít nhất 26, hoặc ít nhất 27 nucleotit liên tiếp của SEQ ID NO: 34.

Theo các phương án của sáng chế, cấu trúc, vectơ hoặc phân tử ADN tái tổ hợp để ức chế gen GA20 oxidaza_5 nội sinh ở cây được đề xuất gồm trình tự ADN có thể phiên mã mã hóa phân tử ARN không mã hóa, trong đó phân tử ARN không mã hóa nhắm đích gen GA20 oxidaza_5 để ức chế gồm trình tự mà bổ sung ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% cho ít nhất 15, ít nhất 16, ít nhất 17, ít nhất 18, ít nhất 19, ít nhất 20, ít nhất 21, ít nhất 22, ít nhất 23, ít nhất 24, ít nhất 25, ít nhất 26, hoặc ít nhất 27 nucleotit liên tiếp của SEQ ID NO: 13 hoặc SEQ ID NO: 14. Theo một vài phương án, phân tử ARN không mã hóa nhắm đích gen GA20 oxidaza_5 để ức chế có thể bổ trợ cho ít nhất 19 nucleotit liên

15, ít nhất 16, ít nhất 17, ít nhất 18, ít nhất 19, ít nhất 20, ít nhất 21, ít nhất 22, ít nhất 23, ít nhất 24, ít nhất 25, ít nhất 26, hoặc ít nhất 27 nucleotit liên tiếp của SEQ ID NO: 35.

Theo các phương án khác, cấu trúc, vectơ hoặc phân tử ADN tái tổ hợp để ức chế chung các gen GA20 oxidaza_3 và GA20 oxidaza_5 nội sinh ở cây được đề xuất gồm trình tự ADN có thể phiên mã mã hóa phân tử ARN không mã hóa, trong đó phân tử ARN không mã hóa nhắm đích các gen GA20 oxidaza_3 và GA20 oxidaza_5 để ức chế gồm trình tự là (i) bổ sung ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% cho ít nhất 15, ít nhất 16, ít nhất 17, ít nhất 18, ít nhất 19, ít nhất 20, ít nhất 21, ít nhất 22, ít nhất 23, ít nhất 24, ít nhất 25, ít nhất 26, hoặc ít nhất 27 nucleotit liên tiếp của SEQ ID NO: 7 và/hoặc SEQ ID NO: 8, và (ii) bổ sung ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% cho ít nhất 15, ít nhất 16, ít nhất 17, ít nhất 18, ít nhất 19, ít nhất 20, ít nhất 21, ít nhất 22, ít nhất 23, ít nhất 24, ít nhất 25, ít nhất 26, hoặc ít nhất 27 nucleotit liên tiếp của SEQ ID NO: 13 và/hoặc SEQ ID NO: 14. Theo một vài trong số các phương án này, phân tử ARN không mã hóa cùng nhắm đích các gen GA20 oxidaza_3 và GA20 oxidaza_5 để ức chế có thể bổ trợ cho ít nhất 19 nucleotit liên tiếp, nhưng không lớn hơn 27 nucleotit liên tiếp, như bổ trợ cho 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, hoặc 27 nucleotit liên tiếp, của (i) SEQ ID NO: 7 (và/hoặc SEQ ID NO: 8) và (ii) SEQ ID NO: 13 (và/hoặc SEQ ID NO: 14). Theo nhiều phương án, phân tử ARN không mã hóa cùng nhắm đích các gen GA20 oxidaza_3 và GA20 oxidaza_5 để ức chế gồm trình tự là (i) bổ sung ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% cho ít nhất 15, ít nhất 16, ít nhất 17, ít nhất 18, ít nhất 19, ít nhất 20, ít nhất 21, ít nhất 22, ít nhất 23, ít nhất 24, ít nhất 25, ít nhất 26, hoặc ít nhất 27 nucleotit liên tiếp của phân tử mARN mã hóa protein GA20 oxidaza nội sinh ở thực vật mà tương đồng ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% với SEQ ID NO: 9, và (ii) bổ sung ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% cho ít nhất 15, ít nhất 16, ít nhất 17, ít nhất 18, ít nhất 19, ít nhất 20, ít nhất 21, ít nhất 22, ít nhất 23, ít nhất 24, ít nhất 25, ít nhất 26, hoặc ít nhất 27 nucleotit liên tiếp của phân tử mARN mã hóa protein GA20 oxidaza nội sinh ở thực vật mà tương đồng ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% với

SEQ ID NO: 15. Như nêu trên, phân tử ARN không mã hóa có thể nhắm đích trình tự intron của gen GA oxidaza. Do đó, phân tử ARN không mã hóa có thể nhắm đích (các) trình tự intron của một hoặc cả hai gen GA20 oxidaza_3 và/hoặc GA20 oxidaza_5 như được nhận diện ở trên.

Theo các phương án cụ thể, phân tử ARN không mã hóa được mã hóa bởi trình tự ADN có thể phiên mã gồm (i) trình tự mà bổ sung ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% cho SEQ ID NO: 39, 41, 43 hoặc 45, và/hoặc (ii) trình tự hoặc yếu tố ức chế mã hóa phân tử ARN không mã hóa gồm trình tự mà tương đồng ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% với SEQ ID NO: 40, 42, 44 hoặc 46. Theo một vài phương án, phân tử ARN không mã hóa được mã hóa bởi trình tự ADN có thể phiên mã có thể gồm trình tự với một hoặc nhiều sự bắt cặp sai, như 1, 2, 3, 4, 5 hoặc nhiều sự bắt cặp sai bổ trợ, liên quan đến trình tự của đích hoặc vị trí nhận biết của mARN gen GA20 oxidaza được nhắm đích, như trình tự gần như bổ trợ cho SEQ ID NO: 40 nhưng với một hoặc nhiều sự bắt cặp sai bổ trợ so với SEQ ID NO: 40. Theo một phương án cụ thể, phân tử ARN không mã hóa được mã hóa bởi trình tự ADN có thể phiên mã gồm trình tự tương đồng 100% với SEQ ID NO: 40, bổ trợ 100% cho trình tự đích trong ADN bổ trợ và mã hóa trình tự của GA20 oxidaza_3 (nghĩa là, lần lượt là SEQ ID NO: 7 và 8), và/hoặc cho trình tự tương ứng của mARN được mã hóa bởi gen GA20 oxidaza_3 nội sinh. Tuy nhiên, phân tử ARN không mã hóa được mã hóa bởi trình tự ADN có thể phiên mã tương đồng 100% với SEQ ID NO: 40, 42, 44 hoặc 46 có thể không hoàn toàn bổ trợ cho trình tự đích trong ADN bổ trợ và các trình tự mã hóa của gen GA20 oxidaza_5 (nghĩa là, lần lượt là SEQ ID NO: 13 và 14), và/hoặc với trình tự tương ứng của mARN được mã hóa bởi gen GA20 oxidaza_5 nội sinh. Ví dụ, sự bắt cặp bổ trợ gần nhất giữa phân tử ARN không mã hóa hoặc trình tự miARN trong SEQ ID NO: 40 và ADN bổ trợ và các trình tự mã hóa của gen GA20 oxidaza_5 có thể bao gồm một sự bắt cặp sai ở vị trí thứ nhất của SEQ ID NO: 39 (tức là, "C" ở vị trí thứ nhất của SEQ ID NO: 39 được thay thế bằng "G"; tức là, GTCCATCATGCGGTGCAACTA). Tuy nhiên, phân tử ARN không mã hóa hoặc trình tự miARN trong SEQ ID NO: 40 vẫn có thể gắn kết và lai với mARN được mã hóa bởi gen GA20 oxidaza_5 nội sinh mặc dù có sự bắt cặp sai nhỏ này.

Theo các phương án của sáng chế, cấu trúc, vectơ hoặc phân tử ADN tái tổ hợp để ức chế một hoặc nhiều (các) gen GA3 oxidaza nội sinh ở cây được đề xuất gồm trình tự ADN có thể phiên mã mã hóa phân tử ARN không mã hóa, trong đó phân tử ARN không mã hóa gồm trình tự mà bổ sung ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% cho ít nhất một đoạn hoặc một phần của phân tử mARN được biểu hiện từ gen GA3 oxidaza nội sinh và mã hóa protein GA3 oxidaza nội sinh ở cây, trong đó trình tự ADN có thể phiên mã được liên kết theo kiểu hoạt động được với đoạn khởi đầu biểu hiện được ở thực vật, và trong đó cây là cây ngô hoặc ngũ cốc. Ngoài việc nhắm đích trình tự mARN thuần thục, phân tử ARN không mã hóa còn có thể nhắm đích các trình tự intron của bản phiên mã hoặc gen GA3 oxidaza.

Theo một vài phương án, phân tử ARN không mã hóa có thể nhắm đích gen GA3 oxidaza_1 để ức chế và gồm trình tự mà bổ sung ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% cho ít nhất 15, ít nhất 16, ít nhất 17, ít nhất 18, ít nhất 19, ít nhất 20, ít nhất 21, ít nhất 22, ít nhất 23, ít nhất 24, ít nhất 25, ít nhất 26, hoặc ít nhất 27 nucleotit liên tiếp của SEQ ID NO: 28 hoặc SEQ ID NO: 29. Theo một vài phương án, phân tử ARN không mã hóa nhắm đích gen GA3 oxidaza để ức chế có thể bổ trợ cho ít nhất 19 nucleotit liên tiếp, nhưng không lớn hơn 27 nucleotit liên tiếp, như bổ trợ cho 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, hoặc 27 nucleotit liên tiếp, của SEQ ID NO: 28 hoặc SEQ ID NO: 29. Theo một vài phương án, phân tử ARN không mã hóa nhắm đích gen GA3 oxidaza để ức chế gồm trình tự mà bổ sung ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% cho ít nhất 15, ít nhất 16, ít nhất 17, ít nhất 18, ít nhất 19, ít nhất 20, ít nhất 21, ít nhất 22, ít nhất 23, ít nhất 24, ít nhất 25, ít nhất 26, hoặc ít nhất 27 nucleotit liên tiếp của phân tử mARN mã hóa protein GA3 oxidaza nội sinh ở thực vật mà tương đồng ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% với SEQ ID NO: 30. Theo các phương án khác, phân tử ARN không mã hóa có thể gồm trình tự mà bổ sung ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% cho ít nhất 15, ít nhất 16, ít nhất 17, ít nhất 18, ít nhất 19, ít nhất 20, ít nhất 21, ít nhất 22, ít nhất 23, ít nhất 24, ít nhất 25, ít nhất 26, hoặc ít nhất 27 nucleotit liên tiếp của phân tử mARN mã hóa protein GA3 oxidaza nội sinh mà tương tự ít

nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% với SEQ ID NO: 30.

Như nêu trên, phân tử ARN không mã hóa có thể nhắm đích trình tự intron của gen GA3 oxidaza thay vào đó, hoặc ngoài ra, 5' UTR hoặc 3' UTR, chứa exon, của gen GA oxidaza. Do đó, phân tử ARN không mã hóa nhắm đích gen GA3 oxidaza_1 để ức chế có thể gồm trình tự mà bổ sung ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% cho ít nhất 15, ít nhất 16, ít nhất 17, ít nhất 18, ít nhất 19, ít nhất 20, ít nhất 21, ít nhất 22, ít nhất 23, ít nhất 24, ít nhất 25, ít nhất 26, hoặc ít nhất 27 nucleotit liên tiếp của SEQ ID NO: 36, và/hoặc của nucleotit 515-879 hoặc 1039-1158 của SEQ ID NO: 36. Các trình tự được đề xuất ở đây cho GA3 oxidaza_1 có thể thay đổi theo sự đa dạng của cây ngô, dòng và mầm nguyên sinh do hiện tượng đa hình và/hoặc sự hiện diện của các alen khác nhau của gen. Hơn nữa, gen GA3 oxidaza _1 có thể được biểu hiện dưới dạng các đồng phân ghép xen kẽ có thể tạo ra các mARN, ADN bổ trợ và các trình tự mã hóa khác nhau có thể ảnh hưởng đến thiết kế của cấu trúc ức chế và phân tử ARN không mã hóa. Do đó, phân tử ARN không mã hóa nhắm đích gen GA3 oxidaza_1 để ức chế có thể được xác định rộng hơn ở dạng gồm trình tự mà bổ sung ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% cho ít nhất 15, ít nhất 16, ít nhất 17, ít nhất 18, ít nhất 19, ít nhất 20, ít nhất 21, ít nhất 22, ít nhất 23, ít nhất 24, ít nhất 25, ít nhất 26, hoặc ít nhất 27 nucleotit liên tiếp của SEQ ID NO: 36.

Theo một vài phương án, phân tử ARN không mã hóa có thể nhắm đích gen GA3 oxidaza_2 để ức chế và gồm trình tự mà bổ sung ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% cho ít nhất 15, ít nhất 16, ít nhất 17, ít nhất 18, ít nhất 19, ít nhất 20, ít nhất 21, ít nhất 22, ít nhất 23, ít nhất 24, ít nhất 25, ít nhất 26, hoặc ít nhất 27 nucleotit liên tiếp của SEQ ID NO: 31 hoặc SEQ ID NO: 32. Theo một vài phương án, phân tử ARN không mã hóa nhắm đích gen GA3 oxidaza để ức chế có thể bổ trợ cho ít nhất 19 nucleotit liên tiếp, nhưng không lớn hơn 27 nucleotit liên tiếp, như bổ trợ cho 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, hoặc 27 nucleotit liên tiếp, của SEQ ID NO: 31 hoặc SEQ ID NO: 32. Theo một vài phương án, phân tử ARN không mã hóa nhắm đích gen GA3 oxidaza để ức chế gồm trình tự mà bổ sung ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất

Theo các phương án cụ thể, phân tử ARN không mã hóa được mã hóa bởi trình tự ADN có thể phiên mã để nhắm đích gen GA3 oxidaza gồm (i) trình tự bổ sung ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% cho SEQ ID NO: 57 hoặc 59, và/hoặc (ii) trình tự hoặc yếu tố ức chế mã hóa phân tử ARN không mã hóa gồm trình tự tương đồng ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% với SEQ ID NO: 58 hoặc 60. Theo một vài phương án, phân tử ARN không mã hóa được mã hóa bởi trình tự ADN có thể phiên mã có thể gồm trình tự với một hoặc nhiều sự bắt cặp sai, như 1, 2, 3, 4, 5 hoặc nhiều sự bắt cặp sai bổ trợ, so với trình tự đích hoặc vị trí nhận biết của mARN gen GA3 oxidaza đích, như trình tự gần như bổ trợ cho SEQ ID NO: 57 hoặc 59 nhưng với một hoặc nhiều sự bắt cặp sai bổ trợ so với SEQ ID NO: 57 hoặc 59. Theo một phương án cụ thể, phân tử ARN không mã hóa được mã hóa bởi trình tự ADN có thể phiên mã gồm trình tự là tương đồng 100% với SEQ ID NO: 58 hoặc 60, là bổ trợ 100% cho trình tự đích trong ADN bổ trợ và các trình tự mã hóa của gen GA3 oxidaza_1 hoặc GA3 oxidaza_2 ở ngô (tức là, SEQ ID NO: 28, 29, 31 và/hoặc 32), và/hoặc cho trình tự tương ứng của mARN được mã hóa bởi gen GA3 oxidaza_1 hoặc GA3 oxidaza_2 nội sinh.

Theo một vài phương án, phân tử ARN không mã hóa có thể nhắm đích gen GA20 oxidaza_4 để ức chế và gồm trình tự mà bổ sung ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% cho ít nhất 15, ít nhất 16, ít nhất 17, ít nhất 18, ít nhất 19, ít nhất 20, ít nhất 21, ít nhất 22, ít nhất 23, ít nhất 24, ít nhất 25, ít nhất 26, hoặc ít nhất 27 nucleotit liên tiếp của SEQ ID NO: 10 hoặc SEQ ID NO: 11. Theo một vài phương án, phân tử ARN không mã hóa nhắm đích gen GA20 oxidaza_4 để ức chế có thể bổ trợ cho ít nhất 19 nucleotit liên tiếp, nhưng không lớn hơn 27 nucleotit liên tiếp, như bổ trợ cho 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, hoặc 27 nucleotit liên tiếp, của SEQ ID NO: 10 hoặc SEQ ID NO: 11. Theo một vài phương án, phân tử ARN không mã hóa nhắm đích gen GA20 oxidaza để ức chế gồm trình tự mà bổ sung ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% cho ít nhất 15, ít nhất 16, ít nhất 17, ít nhất 18, ít nhất 19, ít nhất 20, ít nhất 21, ít nhất 22, ít nhất 23, ít nhất 24, ít nhất 25, ít nhất 26, hoặc ít nhất 27 nucleotit liên tiếp của phân tử mARN mã hóa protein GA20 oxidaza nội sinh ở thực vật mà tương đồng ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% với SEQ ID

98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% cho ít nhất 15, ít nhất 16, ít nhất 17, ít nhất 18, ít nhất 19, ít nhất 20, ít nhất 21, ít nhất 22, ít nhất 23, ít nhất 24, ít nhất 25, ít nhất 26, hoặc ít nhất 27 nucleotit liên tiếp của phân tử mARN mã hóa protein GA3 oxidaza nội sinh ở thực vật mà tương đồng ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% với SEQ ID NO: 33. Theo các phương án khác, phân tử ARN không mã hóa có thể gồm trình tự mà bổ sung ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% cho ít nhất 15, ít nhất 16, ít nhất 17, ít nhất 18, ít nhất 19, ít nhất 20, ít nhất 21, ít nhất 22, ít nhất 23, ít nhất 24, ít nhất 25, ít nhất 26, hoặc ít nhất 27 nucleotit liên tiếp của phân tử mARN mã hóa protein GA3 oxidaza nội sinh mà tương tự ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% với SEQ ID NO: 33.

Như nêu trên, phân tử ARN không mã hóa có thể nhắm đích trình tự intron của gen GA3 oxidaza thay vào đó, hoặc ngoài ra, 5' UTR hoặc 3' UTR, chứa exon, của gen GA3 oxidaza. Do đó, phân tử ARN không mã hóa nhắm đích gen GA3 oxidaza_2 để ức chế có thể gồm trình tự mà bổ sung ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% cho ít nhất 15, ít nhất 16, ít nhất 17, ít nhất 18, ít nhất 19, ít nhất 20, ít nhất 21, ít nhất 22, ít nhất 23, ít nhất 24, ít nhất 25, ít nhất 26, hoặc ít nhất 27 nucleotit liên tiếp của SEQ ID NO: 37, và/hoặc của nucleotit 533-692 hoặc 852-982 của SEQ ID NO: 37. Các trình tự được đề xuất ở đây cho GA3 oxidaza_2 có thể thay đổi tùy theo sự đa dạng của cây ngô, dòng và mầm nguyên sinh do hiện tượng đa hình và/hoặc sự hiện diện của các alen khác nhau của gen. Hơn nữa, gen GA3 oxidaza_2 có thể được biểu hiện dưới dạng các đồng phân ghép xen kẽ có thể tạo ra mARN, ADN bổ trợ và các trình tự mã hóa khác nhau có thể ảnh hưởng đến thiết kế của cấu trúc ức chế và phân tử ARN không mã hóa. Do đó, phân tử ARN không mã hóa nhắm đích gen GA3 oxidaza_2 để ức chế có thể được xác định rộng hơn ở dạng gồm trình tự mà bổ sung ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% cho ít nhất 15, ít nhất 16, ít nhất 17, ít nhất 18, ít nhất 19, ít nhất 20, ít nhất 21, ít nhất 22, ít nhất 23, ít nhất 24, ít nhất 25, ít nhất 26, hoặc ít nhất 27 nucleotit liên tiếp của SEQ ID NO: 37.

NO: 12. Theo các phương án khác, phân tử ARN không mã hóa có thể gồm trình tự mà bổ sung ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% cho ít nhất 15, ít nhất 16, ít nhất 17, ít nhất 18, ít nhất 19, ít nhất 20, ít nhất 21, ít nhất 22, ít nhất 23, ít nhất 24, ít nhất 25, ít nhất 26, hoặc ít nhất 27 nucleotit liên tiếp của phân tử mARN mã hóa protein GA20 oxidaza nội sinh mà tương tự ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% với SEQ ID NO: 12.

Như nêu trên, phân tử ARN không mã hóa có thể nhắm đích trình tự intron của gen GA20 oxidaza thay cho, hoặc ngoài ra, 5' UTR hoặc 3' UTR, chứa exon, của gen GA20 oxidaza. Do đó, phân tử ARN không mã hóa nhắm đích gen GA20 oxidaza_4 để ức chế có thể gồm trình tự mà bổ sung ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% cho ít nhất 15, ít nhất 16, ít nhất 17, ít nhất 18, ít nhất 19, ít nhất 20, ít nhất 21, ít nhất 22, ít nhất 23, ít nhất 24, ít nhất 25, ít nhất 26, hoặc ít nhất 27 nucleotit liên tiếp của SEQ ID NO: 38, và/hoặc của nucleotit 1996-2083 hoặc 2412-2516 của SEQ ID NO: 38. Các trình tự được đề xuất ở đây cho GA20 oxidaza_4 có thể thay đổi theo sự đa dạng của cây ngô, dòng và mầm nguyên sinh do hiện tượng đa hình và/hoặc sự hiện diện của các alen khác nhau của gen. Hơn nữa, gen GA20 oxidaza_4 có thể được biểu hiện dưới dạng các đồng phân ghép xen kẽ có thể tạo ra mARN, ADN bổ trợ và các trình tự mã hóa khác nhau có thể ảnh hưởng đến thiết kế của cấu trúc ức chế và phân tử ARN không mã hóa. Do đó, phân tử ARN không mã hóa nhắm đích gen GA20 oxidaza_4 để ức chế có thể được xác định rộng hơn ở dạng gồm trình tự mà bổ sung ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% cho ít nhất 15, ít nhất 16, ít nhất 17, ít nhất 18, ít nhất 19, ít nhất 20, ít nhất 21, ít nhất 22, ít nhất 23, ít nhất 24, ít nhất 25, ít nhất 26, hoặc ít nhất 27 nucleotit liên tiếp của SEQ ID NO: 38.

Theo các phương án cụ thể, phân tử ARN không mã hóa được mã hóa bởi trình tự ADN có thể phiên mã để nhắm đích gen GA20 oxidaza_4 gồm (i) trình tự bổ sung ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% cho SEQ ID NO: 61, và/hoặc (ii) trình tự hoặc yếu tố ức chế mã hóa phân tử ARN không mã hóa gồm trình tự tương đồng ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% với SEQ ID NO: 62. Theo một vài phương án, phân tử

ARN không mã hóa được mã hóa bởi trình tự ADN có thể phiên mã có thể gồm trình tự với một hoặc nhiều sự bắt cặp sai, như 1, 2, 3, 4, 5 hoặc nhiều sự bắt cặp sai bổ trợ, so với trình tự đích hoặc hoặc vị trí nhận biết của mARN gen GA20 oxidaza đích, như trình tự mà gần như bổ trợ cho SEQ ID NO: 61 nhưng với một hoặc nhiều sự bắt cặp sai bổ trợ so với SEQ ID NO: 61. Theo một phương án cụ thể, phân tử ARN không mã hóa được mã hóa bởi trình tự ADN có thể phiên mã gồm trình tự là tương đồng 100% với SEQ ID NO: 62, là bổ trợ 100% cho trình tự đích trong ADN bổ trợ và các trình tự mã hóa của gen GA20 oxidaza_4 ở ngô (tức là, SEQ ID NO: 10 hoặc 11), và/hoặc cho trình tự tương ứng của mARN được mã hóa bởi gen GA20 oxidaza_4 nội sinh.

Theo các phương án của sáng chế, cấu trúc ADN tái tổ hợp được đề xuất gồm trình tự ADN có thể phiên mã mã hóa phân tử ARN không mã hóa nhắm đích (các) gen GA20 oxidaza_3 và/hoặc GA20 oxidaza_5 nội sinh để ức chế, trong đó trình tự ADN có thể phiên mã được liên kết theo kiểu hoạt động được với đoạn khởi đầu cơ định, đặc hiệu mô hoặc ưu tiên mô, và trong đó trình tự ADN có thể phiên mã làm cho mức độ biểu hiện của (các) gen GA20 oxidaza_3 và/hoặc GA20 oxidaza_5 nội sinh bị giảm hoặc hạ thấp ở một hoặc nhiều (các) mô của cây được biến nạp bằng trình tự ADN có thể phiên mã. Phân tử ARN không mã hóa được mã hóa bởi trình tự ADN có thể phiên mã này có thể gồm trình tự mà (i) bổ sung ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% cho ít nhất 15, ít nhất 16, ít nhất 17, ít nhất 18, ít nhất 19, ít nhất 20, ít nhất 21, ít nhất 22, ít nhất 23, ít nhất 24, ít nhất 25, ít nhất 26, hoặc ít nhất 27 nucleotit liên tiếp của phân tử mARN mã hóa protein GA20 oxidaza nội sinh ở thực vật mà tương đồng ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% với SEQ ID NO: 9, và/hoặc (ii) bổ sung ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% cho ít nhất 15, ít nhất 16, ít nhất 17, ít nhất 18, ít nhất 19, ít nhất 20, ít nhất 21, ít nhất 22, ít nhất 23, ít nhất 24, ít nhất 25, ít nhất 26, hoặc ít nhất 27 nucleotit liên tiếp của phân tử mARN mã hóa protein GA20 oxidaza nội sinh ở thực vật mà tương đồng ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% với SEQ ID NO: 15.

Theo các phương án của sáng chế, cấu trúc ADN tái tổ hợp được đề xuất gồm trình tự ADN có thể phiên mã mã hóa phân tử ARN không mã hóa nhắm đích (các) gen GA3 oxidaza_1 và/hoặc GA3 oxidaza_2 nội sinh để ức chế, trong đó trình tự ADN có thể phiên mã được liên kết theo kiểu hoạt động được với đoạn khởi đầu cơ định, đặc hiệu mô hoặc ưu tiên mô, và trong đó trình tự ADN có thể phiên mã làm cho mức độ biểu hiện của (các) gen GA3 oxidaza_1 và/hoặc GA3 oxidaza_2 nội sinh bị giảm hoặc hạ thấp ở một hoặc nhiều (các) mô của cây được biến nạp bằng trình tự ADN có thể phiên mã. Phân tử ARN không mã hóa được mã hóa bởi trình tự ADN có thể phiên mã này có thể gồm trình tự mà (i) bổ sung ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% cho ít nhất 15, ít nhất 16, ít nhất 17, ít nhất 18, ít nhất 19, ít nhất 20, ít nhất 21, ít nhất 22, ít nhất 23, ít nhất 24, ít nhất 25, ít nhất 26, hoặc ít nhất 27 nucleotit liên tiếp của phân tử mARN mã hóa protein GA3 oxidaza nội sinh ở thực vật mà tương đồng ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% với SEQ ID NO: 30, và/hoặc (ii) bổ sung ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% cho ít nhất 15, ít nhất 16, ít nhất 17, ít nhất 18, ít nhất 19, ít nhất 20, ít nhất 21, ít nhất 22, ít nhất 23, ít nhất 24, ít nhất 25, ít nhất 26, hoặc ít nhất 27 nucleotit liên tiếp của phân tử mARN mã hóa protein GA3 oxidaza nội sinh ở thực vật mà tương đồng ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% với SEQ ID NO: 33.

Theo các phương án của sáng chế, cấu trúc ADN tái tổ hợp được đề xuất gồm trình tự ADN có thể phiên mã mã hóa phân tử ARN không mã hóa nhắm đích gen GA20 oxidaza_4 nội sinh để ức chế, trong đó trình tự ADN có thể phiên mã được liên kết theo kiểu hoạt động được với đoạn khởi đầu cơ định, đặc hiệu mô hoặc ưu tiên mô, và trong đó trình tự ADN có thể phiên mã làm cho mức độ biểu hiện của gen GA20 oxidaza_4 nội sinh bị giảm hoặc hạ thấp ở một hoặc nhiều (các) mô của cây được biến nạp bằng trình tự ADN có thể phiên mã. Phân tử ARN không mã hóa được mã hóa bởi trình tự ADN có thể phiên mã này có thể gồm trình tự mà (i) bổ sung ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% cho ít nhất 15, ít nhất 16, ít nhất 17, ít nhất 18, ít nhất 19, ít nhất 20, ít nhất 21, ít nhất 22, ít nhất 23, ít nhất 24, ít nhất 25, ít nhất 26, hoặc ít nhất 27 nucleotit liên tiếp của phân tử mARN

không mã hóa nhắm đích (các) gen GA3 oxidaza_1 và/hoặc GA3 oxidaza_2 nội sinh để ức chế, và/hoặc có gen GA3 oxidaza_1 và/hoặc GA3 oxidaza_2 nội sinh được chỉnh sửa bằng kỹ thuật chỉnh sửa hệ gen nhắm đích, như được đề xuất ở đây, trong đó trình tự ADN có thể phiên mã được liên kết theo kiểu hoạt động được với đoạn khởi đầu cơ định hoặc đoạn khởi đầu đặc hiệu mô hoặc ưu tiên mô, như đoạn khởi đầu mạch hoặc đoạn khởi đầu của lá, và trong đó mức độ biểu hiện của (các) gen GA3 oxidaza_1 và/hoặc GA3 oxidaza_2 nội sinh được loại bỏ, giảm hoặc hạ thấp ở một hoặc nhiều (các) mô cây, như một hoặc nhiều (các) mô mạch và/hoặc lá, của cây biến đổi hoặc chuyển gen ít nhất 5%, ít nhất 10%, ít nhất 20%, ít nhất 25%, ít nhất 30%, ít nhất 40%, ít nhất 50%, ít nhất 60%, ít nhất 70%, ít nhất 75%, ít nhất 80%, ít nhất 90%, hoặc 100% khi so với cây đối chứng hoặc kiểu dại. Theo nhiều phương án, cây biến đổi hoặc chuyển gen được đề xuất được biến nạp bằng cấu trúc ADN tái tổ hợp gồm trình tự ADN có thể phiên mã mã hóa phân tử ARN không mã hóa nhắm đích (các) gen GA3 oxidaza_1 và/hoặc GA3 oxidaza_2 nội sinh để ức chế, và/hoặc có gen GA3 oxidaza_1 và/hoặc GA3 oxidaza_2 nội sinh được chỉnh sửa bằng kỹ thuật chỉnh sửa hệ gen nhắm đích để giảm hoặc loại bỏ mức biểu hiện và/hoặc hoạt tính của nó, trong đó trình tự ADN có thể phiên mã được liên kết theo kiểu hoạt động được với đoạn khởi đầu cơ định hoặc đoạn khởi đầu đặc hiệu mô hoặc ưu tiên mô, như đoạn khởi đầu mạch hoặc đoạn khởi đầu của lá, và trong đó mức của một hoặc nhiều GA hoạt động, như GA1, GA3, GA4, và/hoặc GA7, được giảm hoặc hạ thấp ở một hoặc nhiều (các) mô cây, như một hoặc nhiều (các) mô thân, gióng, mạch và/hoặc lá hoặc một hoặc nhiều (các) mô thân và/hoặc gióng, của cây biến đổi hoặc chuyển gen ít nhất 5%, ít nhất 10%, ít nhất 20%, ít nhất 25%, ít nhất 30%, ít nhất 40%, ít nhất 50%, ít nhất 60%, ít nhất 70%, ít nhất 75%, ít nhất 80%, ít nhất 90%, hoặc 100% khi so với cây đối chứng hoặc kiểu dại.

Theo nhiều phương án, cây biến đổi hoặc chuyển gen được đề xuất được biến nạp bằng cấu trúc ADN tái tổ hợp gồm trình tự ADN có thể phiên mã mã hóa phân tử ARN không mã hóa nhắm đích gen GA20 oxidaza_4 nội sinh để ức chế, và/hoặc có gen GA20 oxidaza_4 nội sinh được chỉnh sửa bằng kỹ thuật chỉnh sửa hệ gen nhắm đích, như được đề xuất ở đây, trong đó trình tự ADN có thể phiên mã được liên kết theo kiểu hoạt động được với đoạn khởi đầu cơ định hoặc đoạn khởi đầu đặc hiệu mô hoặc ưu tiên mô, như đoạn khởi đầu mạch hoặc đoạn khởi đầu của lá, và trong đó mức độ biểu hiện của (các) gen GA20 oxidaza_4 nội sinh được loại bỏ, giảm hoặc hạ thấp ở một hoặc nhiều (các) mô cây, như một hoặc nhiều (các) mô mạch và/hoặc lá, của cây biến đổi hoặc chuyển gen ít

mã hóa protein GA20 oxidaza nội sinh ở thực vật mà tương đồng ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% với SEQ ID NO: 12.

Theo nhiều phương án, cây biến đổi hoặc chuyển gen được đề xuất được biến nạp bằng cấu trúc ADN tái tổ hợp gồm trình tự ADN có thể phiên mã mã hóa phân tử ARN không mã hóa nhắm đích (các) gen GA20 oxidaza_3 và/hoặc GA20 oxidaza_5 nội sinh để ức chế, và/hoặc có (các) gen GA20 oxidaza_3 và/hoặc GA20 oxidaza_5 nội sinh được chỉnh sửa bằng kỹ thuật chỉnh sửa hệ gen nhắm đích, như được đề xuất ở đây, trong đó trình tự ADN có thể phiên mã được liên kết theo kiểu hoạt động được với đoạn khởi đầu cơ định hoặc đoạn khởi đầu đặc hiệu mô hoặc ưu tiên mô, như đoạn khởi đầu mạch hoặc đoạn khởi đầu của lá, và trong đó mức độ biểu hiện của (các) gen GA20 oxidaza_3 và/hoặc GA20 oxidaza_5 nội sinh được loại bỏ, giảm hoặc hạ thấp ở một hoặc nhiều (các) mô cây, như một hoặc nhiều (các) mô mạch và/hoặc lá, của cây biến đổi hoặc chuyển gen ít nhất 5%, ít nhất 10%, ít nhất 20%, ít nhất 25%, ít nhất 30%, ít nhất 40%, ít nhất 50%, ít nhất 60%, ít nhất 70%, ít nhất 75%, ít nhất 80%, ít nhất 90%, hoặc 100% khi so với cây đối chứng hoặc kiểu dại. Theo nhiều phương án, cây biến đổi hoặc chuyển gen được đề xuất được biến nạp bằng cấu trúc ADN tái tổ hợp gồm trình tự ADN có thể phiên mã mã hóa phân tử ARN không mã hóa nhắm đích (các) gen GA20 oxidaza_3 và/hoặc GA20 oxidaza_5 nội sinh để ức chế, và/hoặc có (các) gen GA20 oxidaza_3 và/hoặc GA20 oxidaza_5 nội sinh được chỉnh sửa bằng kỹ thuật chỉnh sửa hệ gen nhắm đích để giảm hoặc loại bỏ mức biểu hiện và/hoặc hoạt tính của nó, trong đó trình tự ADN có thể phiên mã được liên kết theo kiểu hoạt động được với đoạn khởi đầu cơ định hoặc đoạn khởi đầu đặc hiệu mô hoặc ưu tiên mô, như đoạn khởi đầu mạch hoặc đoạn khởi đầu của lá, và trong đó mức của một hoặc nhiều GA hoạt động, như GA1, GA3, GA4, và/hoặc GA7, được giảm hoặc hạ thấp ở một hoặc nhiều (các) mô cây, như một hoặc nhiều (các) mô thân, gióng, mạch và/hoặc lá hoặc một hoặc nhiều (các) mô thân và/hoặc gióng, của cây biến đổi hoặc chuyển gen ít nhất 5%, ít nhất 10%, ít nhất 20%, ít nhất 25%, ít nhất 30%, ít nhất 40%, ít nhất 50%, ít nhất 60%, ít nhất 70%, ít nhất 75%, ít nhất 80%, ít nhất 90%, hoặc 100% khi so với cây đối chứng hoặc kiểu dại.

Theo nhiều phương án, cây biến đổi hoặc chuyển gen được đề xuất được biến nạp bằng cấu trúc ADN tái tổ hợp gồm trình tự ADN có thể phiên mã mã hóa phân tử ARN

nhất 5%, ít nhất 10%, ít nhất 20%, ít nhất 25%, ít nhất 30%, ít nhất 40%, ít nhất 50%, ít nhất 60%, ít nhất 70%, ít nhất 75%, ít nhất 80%, ít nhất 90%, hoặc 100% khi so với cây đối chứng hoặc kiểu dại. Theo nhiều phương án, cây biến đổi hoặc chuyển gen được đề xuất được biến nạp bằng cấu trúc ADN tái tổ hợp gồm trình tự ADN có thể phiên mã mã hóa phân tử ARN không mã hóa nhắm đích (các) gen GA20 oxidaza_4 nội sinh để ức chế, và/hoặc có gen GA20 oxidaza_4 nội sinh được chỉnh sửa bằng kỹ thuật chỉnh sửa hệ gen nhắm đích để giảm hoặc loại bỏ mức biểu hiện và/hoặc hoạt tính của nó, trong đó trình tự ADN có thể phiên mã được liên kết theo kiểu hoạt động được với đoạn khởi đầu cơ định hoặc đoạn khởi đầu đặc hiệu mô hoặc ưu tiên mô, như đoạn khởi đầu mạch hoặc đoạn khởi đầu của lá, và trong đó mức của một hoặc nhiều GA hoạt động, như GA1, GA3, GA4, và/hoặc GA7, được giảm hoặc hạ thấp ở một hoặc nhiều (các) mô cây, như một hoặc nhiều (các) mô thân, gióng, mạch và/hoặc lá hoặc một hoặc nhiều (các) mô thân và/hoặc gióng, của cây biến đổi hoặc chuyển gen ít nhất 5%, ít nhất 10%, ít nhất 20%, ít nhất 25%, ít nhất 30%, ít nhất 40%, ít nhất 50%, ít nhất 60%, ít nhất 70%, ít nhất 75%, ít nhất 80%, ít nhất 90%, hoặc 100% khi so với cây đối chứng hoặc kiểu dại.

Theo nhiều phương án, cây biến đổi hoặc chuyển gen được đề xuất được biến nạp bằng cấu trúc ADN tái tổ hợp gồm trình tự ADN có thể phiên mã mã hóa phân tử ARN không mã hóa nhắm đích (các) gen GA20 oxidaza_3, GA20 oxidaza_4, và/hoặc GA20 oxidaza_5 nội sinh để ức chế, được biến nạp bằng cấu trúc ADN tái tổ hợp gồm trình tự ADN có thể phiên mã mã hóa phân tử ARN không mã hóa nhắm đích (các) gen GA3 oxidaza_1 và/hoặc GA3 oxidaza_2 nội sinh để ức chế, và/hoặc có gen GA20 oxidaza_3, GA20 oxidaza_4, hoặc GA20 oxidaza_5 nội sinh được chỉnh sửa bằng kỹ thuật chỉnh sửa hệ gen nhắm đích, để giảm hoặc loại bỏ mức biểu hiện và/hoặc hoạt tính của nó, như được đề xuất ở đây, trong đó trình tự ADN có thể phiên mã được liên kết theo kiểu hoạt động được với đoạn khởi đầu cơ định hoặc đoạn khởi đầu đặc hiệu mô hoặc ưu tiên mô, như đoạn khởi đầu mạch hoặc đoạn khởi đầu của lá, và trong đó cây biến đổi hoặc chuyển gen có một hoặc nhiều đặc điểm sau đây: tầm vóc hoặc chiều cao cây giảm hoặc bán lùn, chiều dài gióng thân giảm, khả năng chống đổ tăng, và/hoặc đường kính thân hoặc cuống tăng. Cây biến đổi hoặc chuyển gen này có thể không có sự khác dạng sinh sản đáng kể bất kỳ. Cây biến đổi hoặc chuyển gen có thể có một hoặc nhiều các đặc điểm bổ trợ sau đây: hiện tượng đứt gãy giảm, rễ sâu hơn, diện tích lá tăng, khép tán sớm hơn, độ dẫn khí khổng cao hơn, chiều cao bắp thấp hơn, hàm lượng nước ở lá tăng, khả năng chịu hạn hán được cải

thiện, hiệu quả sử dụng nitơ tăng, hiệu quả sử dụng nước tăng, hàm lượng anthoxyanin và diện tích anthoxyanin ở lá giảm trong điều kiện bình thường và/hoặc áp lực hạn chế nitơ hoặc nước, trọng lượng bắp tăng, số lượng hạt tăng, trọng lượng hạt tăng, sản lượng tăng, và/hoặc chỉ số thu hoạch tăng. Theo nhiều trong số các phương án này, mức biểu hiện và/hoặc hoạt tính của (các) gen GA20 oxidaza_3, GA20 oxidaza_4, và/hoặc GA20 oxidaza_5 nội sinh, hoặc (các) gen GA3 oxidaza_1 và/hoặc GA3 oxidaza_2 nội sinh, có thể được loại bỏ, giảm hoặc hạ thấp ở một hoặc nhiều (các) mô cây, như một hoặc nhiều (các) mô mạch và/hoặc lá, của cây biến đổi hoặc chuyển gen ít nhất 5%, ít nhất 10%, ít nhất 20%, ít nhất 25%, ít nhất 30%, ít nhất 40%, ít nhất 50%, ít nhất 60%, ít nhất 70%, ít nhất 75%, ít nhất 80%, ít nhất 90%, hoặc 100% khi so với cây đối chứng hoặc kiểu dại, và/hoặc mức của một hoặc nhiều GA hoạt động, như GA1, GA3, GA4, và/hoặc GA7, được giảm hoặc hạ thấp ở một hoặc nhiều (các) mô cây, như một hoặc nhiều (các) mô thân, gióng, mạch và/hoặc lá, hoặc một hoặc nhiều (các) mô thân và/hoặc gióng, của cây biến đổi hoặc chuyển gen ít nhất 5%, ít nhất 10%, ít nhất 20%, ít nhất 25%, ít nhất 30%, ít nhất 40%, ít nhất 50%, ít nhất 60%, ít nhất 70%, ít nhất 75%, ít nhất 80%, ít nhất 90%, hoặc 100% khi so với cây đối chứng hoặc kiểu dại.

Theo nhiều phương án được mô tả trong các phần nêu trên, phân tử ARN không mã hóa được mã hóa bởi trình tự ADN có thể phiên mã của cấu trúc, vectơ hoặc phân tử ADN tái tổ hợp có thể là tiền chất miARN hoặc siARN mà sau đó có thể được xử lý hoặc phân cắt trong tế bào cây để tạo ra miARN hoặc siARN thuần thục.

Cấu trúc, vectơ hoặc phân tử ADN tái tổ hợp theo sáng chế có thể gồm trình tự ADN có thể phiên mã mã hóa phân tử ARN không mã hóa nhắm đích gen GA oxidaza nội sinh để ức chế, trong đó trình tự ADN có thể phiên mã được liên kết theo kiểu hoạt động được với đoạn khởi đầu biểu hiện được ở thực vật, như đoạn khởi đầu cơ định hoặc mạch và/hoặc lá. Đối với các mục đích của sáng chế, phân tử ARN không mã hóa được mã hóa bởi trình tự ADN có thể phiên mã nhắm đích gen GA oxidaza nội sinh để ức chế có thể bao gồm phân tử ARN không mã hóa thuần thục nhắm đích gen GA oxidaza nội sinh để ức chế, và/hoặc tiền chất phân tử ARN mà có thể được xử lý trong tế bào thực vật thành phân tử ARN không mã hóa thuần thục, như miARN hoặc siARN, nhắm đích gen GA oxidaza nội sinh để ức chế. Ngoài đoạn khởi đầu liên kết của nó, trình tự ADN có thể phiên mã mã hóa phân tử ARN không mã hóa để ức chế gen GA oxidaza nội sinh cũng có thể

được liên kết theo kiểu hoạt động được với một hoặc nhiều (các) yếu tố điều hòa bổ sung, như (các) đoạn tăng cường, đoạn dẫn đầu, vị trí bắt đầu phiên mã (TSS), trình tự liên kết, (các) vùng chưa dịch mã 5' và 3' (UTR), (các) intron, tín hiệu polyadenyl hóa, vùng hoặc trình tự kết thúc, v.v., mà phù hợp, cần thiết hoặc được ưu tiên để tăng cường, điều hòa hoặc cho phép biểu hiện của trình tự ADN có thể phiên mã trong tế bào thực vật. (Các) yếu tố điều hòa bổ sung như vậy có thể là tùy chọn và/hoặc được sử dụng để tăng cường hoặc tối ưu hóa sự biểu hiện của gen chuyển hoặc trình tự ADN có thể phiên mã. Như được đề xuất ở đây, "đoạn tăng cường" có thể được phân biệt với "đoạn khởi đầu" ở chỗ đoạn tăng cường thường thiếu vị trí bắt đầu phiên mã, hộp TATA, hoặc trình tự tương đương và do đó một mình không đủ để điều khiển sao chép. Như được sử dụng ở đây, "đoạn dẫn đầu" có thể được định nghĩa chung là trình tự ADN của 5'-UTR của gen (hoặc gen chuyển) giữa vị trí bắt đầu phiên mã (TSS) và đầu 5' của vị trí bắt đầu trình tự ADN có thể phiên mã hoặc trình tự mã hóa protein của gen chuyển.

Theo các phương án khác, các phương pháp được đề xuất để biến nạp tế bào thực vật, mô hoặc mảnh cấy bằng cấu trúc hoặc phân tử ADN tái tổ hợp gồm trình tự ADN có thể phiên mã hoặc gen chuyển được liên kết theo kiểu hoạt động được với đoạn khởi đầu biểu hiện được ở thực vật để tạo ra cây chuyển gen. Trình tự ADN có thể phiên mã có thể mã hóa phân tử ARN không mã hóa nhắm đích (các) gen GA oxidaza để ức chế, hoặc tiền chất ARN được xử lý thành phân tử ARN thuần thục, như miARN hoặc siARN, nhắm đích một hoặc nhiều (các) gen GA oxidaza để ức chế. Nhiều phương pháp để biến nạp nhiễm sắc thể hoặc plastid trong tế bào thực vật bằng cấu trúc hoặc phân tử ADN tái tổ hợp đã biết trong lĩnh vực này, mà có thể được sử dụng theo các phương án phương pháp của sáng chế để tạo ra cây và tế bào cây chuyển gen. Bất kỳ phương pháp hoặc kỹ thuật phù hợp để biến nạp tế bào thực vật đã biết trong lĩnh vực này đều có thể sử dụng theo các phương pháp hiện tại. Các phương pháp hiệu quả để biến nạp thực vật bao gồm biến nạp qua trung gian vi khuẩn, như biến nạp qua trung gian *Agrobacterium* hoặc biến nạp qua trung gian *Rhizobium*, và biến nạp qua trung gian vi đạn hoặc bắn phá hạt. Nhiều phương pháp đã biết trong lĩnh vực này để biến nạp các mảnh cấy bằng vectơ biến nạp thông qua biến nạp qua trung gian vi khuẩn hoặc vi đạn hoặc bắn phá hạt và sau đó nuôi cấy, v.v., các mảnh cấy đó để tái sinh hoặc phát triển cây chuyển gen. Các phương pháp khác để biến nạp thực vật, như vi tiêm, điện di, thấm lọc chân không, áp suất, sử dụng sóng âm, khuấy sợi silic cacbua, biến nạp qua trung gian PEG, v.v., cũng được biết đến trong lĩnh vực này.

Các phương pháp biến nạp tế bào cây và mảnh cấy được biết rõ bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này. Các phương pháp để biến nạp tế bào cây bằng bắn phá vi đạn với các hạt được phủ bằng ADN tái tổ hợp được đề xuất, ví dụ, trong patent Mỹ số 5,550,318; 5,538,880 6,160,208; 6,399,861; và 6,153,812, và biến nạp qua trung gian *Agrobacterium* được mô tả, ví dụ, trong patent Mỹ số 5,159,135; 5,824,877; 5,591,616; 6,384,301; 5,750,871; 5,463,174; và 5,188,958, được đưa vào đây bằng cách viện dẫn. Các phương pháp khác để biến nạp thực vật có thể được thấy trong, ví dụ, Compendium of Transgenic Crop Plants (2009) Blackwell Publishing. Phương pháp thích hợp bất kỳ để biến nạp thực vật đã biết hoặc được phát triển sau này trong lĩnh vực này có thể được sử dụng để biến nạp tế bào cây bằng các vectơ, cấu trúc hoặc phân tử axit nucleic bất kỳ được đề xuất ở đây.

Cây chuyển gen được tạo ra bằng các phương pháp biến nạp có thể là dạng khảm hoặc không khảm cho sự kiện biến nạp tùy thuộc vào các phương pháp và mảnh cấy được sử dụng. Các phương pháp còn được đề xuất để biểu hiện phân tử ARN không mã hóa nhắm đích gen GA oxidaza nội sinh để ức chế ở một hoặc nhiều tế bào cây hoặc mô trong điều kiện kiểm soát đoạn khởi đầu biểu hiện được ở thực vật, như đoạn khởi đầu cơ định, đặc hiệu mô, ưu tiên mô, mạch và/hoặc lá như được đề xuất ở đây. Các phương pháp này có thể được sử dụng để tạo ra cây ngô hoặc ngũ cốc chuyển gen có chiều cao thấp, bán lùn, chiều dài gióng giảm, đường kính thân/cuống tăng, và/hoặc khả năng chống đổ được cải thiện. Cây ngô hoặc ngũ cốc chuyển gen này còn có thể có các đặc điểm khác có thể là có lợi về năng suất, như hiện tượng đứt gãy giảm, rễ sâu hơn, diện tích lá tăng, khép tán sớm hơn, khả năng chịu hạn hán được cải thiện, hiệu quả sử dụng nitơ tăng, hiệu quả sử dụng nước tăng, độ dẫn khí khổng cao hơn, chiều cao bắp thấp hơn, hàm lượng nước ở lá tăng, hàm lượng và/hoặc diện tích anthoxyanin ở lá giảm dưới điều kiện áp lực bình thường hoặc hạn chế nitơ hoặc nước, trọng lượng bắp tăng, số hạt hoặc hạt giống tăng, trọng lượng hạt hoặc hạt giống tăng, sản lượng tăng, và/hoặc chỉ số thu hoạch tăng, so với cây đối chứng hoặc kiểu dại. Như được sử dụng ở đây, "chỉ số thu hoạch" dùng để chỉ khối lượng của hạt thu hoạch chia cho tổng khối lượng sinh khối trên mặt đất của cây trên diện tích thu hoạch.

Cây chuyển gen biểu hiện gen chuyển GA oxidaza hoặc phân tử ARN không mã hóa nhắm đích gen GA oxidaza nội sinh để ức chế có thể có sự khép tán sớm hơn (ví dụ, khép tán sớm hơn khoảng một ngày, hoặc 12-48 giờ, 12-36 giờ, 18-36 giờ, hoặc khoảng

24 giờ) so với cây đối chứng hoặc kiểu dại. Mặc dù cây chuyển gen biểu hiện gen chuyển GA oxidaza hoặc phân tử ARN không mã hóa nhắm đích gen GA oxidaza nội sinh để ức chế có thể có chiều cao bắp thấp hơn so với cây đối chứng hoặc kiểu dại, song chiều cao của bắp thường có thể là ít nhất 18 insơ so với mặt đất. Cây chuyển gen biểu hiện phân tử ARN không mã hóa nhắm đích gen GA oxidaza nội sinh để ức chế có thể có sinh khối và/hoặc diện tích lá lớn hơn trong một hoặc nhiều giai đoạn sinh dưỡng sau này (ví dụ, V8-V12) so với cây đối chứng hoặc kiểu dại. Cấu trúc gen biểu hiện gen chuyển GA oxidaza hoặc phân tử ARN không mã hóa nhắm đích gen GA oxidaza nội sinh để ức chế có thể có rễ sâu hơn trong giai đoạn sinh dưỡng sau này khi được trồng trên cánh đồng, so với cây đối chứng hoặc kiểu dại, mà có thể là do tốc độ phía trước rễ tăng. Các cây chuyển gen này có thể đạt độ sâu 90 cm dưới mặt đất sớm hơn (ví dụ, sớm hơn 10-25 ngày, sớm hơn 15-25 ngày, hoặc sớm hơn khoảng 20 ngày) so với cây đối chứng hoặc kiểu dại, mà có thể xảy ra bởi sự chuyển đổi từ sinh dưỡng sang sinh sản của cây (ví dụ, bằng V16/R1 vào khoảng 50 ngày sau khi trồng, trái ngược với khoảng 70 ngày sau khi trồng đối với cây đối chứng).

(Các) tế bào nhận hoặc mảnh cấy hoặc tế bào đích để biến nạp bao gồm, nhưng không giới hạn ở, tế bào hạt, tế bào quả, tế bào lá, tế bào lá mầm, tế bào trụ dưới lá mầm, tế bào mô phân sinh, tế bào phôi, tế bào nội nhũ, tế bào rễ, tế bào chồi, tế bào thân, tế bào vỏ, tế bào hoa, tế bào cụm hoa, tế bào cuống, tế bào cuống nhỏ, tế bào vòi nhụy, tế bào nhụy, tế bào đế hoa, tế bào cánh hoa, tế bào đài hoa, tế bào phấn hoa, tế bào bao phấn, tế bào chỉ nhị, tế bào bầy nhụy, tế bào noãn, tế bào vỏ quả, tế bào libe, tế bào chồi, tế bào mô sẹo, tế bào lạp lục, tế bào khí khổng, tế bào lông, tế bào lông rễ, tế bào rễ lưu trữ, hoặc tế bào mô mạch, hạt giống, phôi, mô phân sinh, lá mầm, trụ dưới lá mầm, nội nhũ, rễ, chồi, thân, nút, mô sẹo, dịch treo tế bào, tế bào nguyên sinh, hoa, lá, phấn hoa, bao phấn, bầu nhụy, noãn, vỏ quả, chồi, và/hoặc mô mạch, hoặc phần có thể biến nạp bất kỳ trong số các loại nêu trên. Đối với sự biến nạp thực vật, (các) tế bào, (các) mô, (các) mảnh cấy đích, v.v. bất kỳ, mà có thể được sử dụng để nhận phân tử hoặc vectơ biến nạp ADN tái tổ hợp theo sang chế có thể được gọi chung là "mảnh cấy" để biến nạp. Tốt hơn là, mô hoặc tế bào mảnh cấy được biến nạp hoặc có thể biến nạp có thể được phát triển thêm hoặc tái sinh thành cây. Bất kỳ tế bào hoặc mảnh cấy nào mà một cây có khả năng sinh có thể được trồng hoặc tái sinh đều được dự tính là tế bào hoặc mảnh cấy nhận hữu ích để thực hành sáng chế này (tức là, ở dạng mảnh cấy đích để biến nạp). Mô sẹo có thể được bắt đầu hoặc tạo ra từ các nguồn mô khác nhau, bao gồm, nhưng không giới hạn ở, phôi hoặc các bộ

phận của phôi, mô hạt không phôi, mô phân sinh đỉnh hạt giống, tiểu bào tử, và tương tự. Bất kỳ tế bào nào có khả năng tăng sinh như mô sẹo đều có thể đóng vai trò là tế bào nhận để biến nạp. Các phương pháp và vật liệu biến nạp để tạo ra cây chuyển gen (ví dụ, các môi trường khác nhau và các tế bào đích nhận hoặc mảnh cấy và các phương pháp biến nạp và tái sinh tiếp theo thành cây chuyển gen) là đã biết trong lĩnh vực này.

Sự biến nạp của vật liệu thực vật hoặc mảnh cấy đích có thể được thực hiện trong nuôi cấy mô trên môi trường dinh dưỡng, ví dụ như một hỗn hợp các chất dinh dưỡng cho phép các tế bào phát triển *in vitro* hoặc nuôi cấy tế bào. Các mảnh cấy, tế bào hoặc mô được biến nạp có thể phải chịu các bước nuôi cấy bổ sung, cảm ứng mô sẹo, chọn lọc, tái sinh, v.v., như đã biết trong lĩnh vực này. Sự biến nạp cũng có thể được thực hiện mà không cần tạo hoặc sử dụng mô sẹo. Các tế bào, mô hoặc mảnh cấy được biến nạp gồm có sự kiện hoặc sự gắn xen trình tự ADN tái tổ hợp có thể được sinh trưởng, phát triển hoặc tái sinh thành cây chuyển gen trong môi trường nuôi cấy, nút hoặc đất theo phương pháp được biết đến trong lĩnh vực này. Cây chuyển gen còn có thể được lai với chính chúng hoặc các cây khác để tạo ra hạt giống và cây con chuyển gen. Cây chuyển gen cũng có thể được chuẩn bị bằng cách lai cây thứ nhất gồm trình tự ADN tái tổ hợp hoặc sự kiện biến nạp với cây thứ hai thiếu đoạn gắn xen. Ví dụ, trình tự hoặc cấu trúc ADN tái tổ hợp có thể được đưa vào dòng cây đầu tiên mà có thể chịu biến nạp, sau đó có thể được lai với dòng cây thứ hai để đưa trình tự hoặc cấu trúc ADN tái tổ hợp này vào dòng cây thứ hai hàng. Con cháu của các dòng lai này còn có thể được lai trở lại vào dòng mong muốn nhiều lần hơn, như qua 6 đến 8 thế hệ hoặc lai chéo ngược, để tạo ra một cây con có kiểu gen về cơ bản giống như dòng bố mẹ ban đầu, nhưng dùng để đưa trình tự hoặc cấu trúc ADN tái tổ hợp này vào.

Cây biến đổi gen hoặc được chỉnh sửa, bộ phận cây, tế bào, hoặc mảnh cấy được đề xuất ở đây có thể là thuộc một giống ưu tú hoặc một dòng ưu tú. Một giống ưu tú hoặc một dòng ưu tú dùng để chỉ một giống có kết quả từ việc nhân giống và chọn lọc cho hiệu suất nông học vượt trội. Cây biến đổi hoặc được chỉnh sửa, tế bào, hoặc mảnh cấy được đề xuất ở đây có thể là một cây lai, tế bào hoặc mảnh cấy. Như được sử dụng ở đây, "con lai", được tạo ra bằng cách lai hai cây từ các giống, dòng, dòng thuần hoặc loài khác nhau, sao cho con cháu gồm vật liệu di truyền từ mỗi bố mẹ. Các chuyên gia nhận ra rằng các giống lai bậc cao hơn cũng có thể được tạo ra. Ví dụ, con lai đầu tiên có thể được tạo bằng cách lai giữa giống A với giống B để tạo ra con lai A x B, và con lai thứ hai có thể được tạo

bằng cách lai giữa giống C với giống D để tạo ra con lai C x D. Con lai thứ nhất và thứ hai còn có thể được lai để tạo ra con lai bậc cao hơn (A x B) x (C x D) gồm thông tin di truyền từ cả bốn giống bố mẹ.

Theo các phương án của sáng chế, cây biến đổi được đề xuất gồm yếu tố ức chế GA oxidaza nhắm đích hai hoặc nhiều gen GA oxidaza để ức chế, hoặc kết hợp của hai hoặc nhiều yếu tố ức chế GA oxidaza và/hoặc bản chỉnh sửa gen. Vectơ hoặc cấu trúc ADN tái tổ hợp có thể gồm catxet đơn hoặc yếu tố ức chế gồm trình tự ADN có thể phiên mã được thiết kế hoặc được chọn để mã hóa phân tử ARN không mã hóa mà bổ trợ cho trình tự đích hoặc nhận biết mARN của hai hoặc nhiều gen GA oxidaza bao gồm ít nhất gen GA oxidaza thứ nhất và gen GA oxidaza thứ hai – tức là, các mARN của các gen GA oxidaza chung nhau trình tự tương đồng hoặc gần như tương đồng (hoặc tương tự) sao cho yếu tố ức chế đơn và phân tử ARN không mã hóa được mã hóa có thể nhắm đích mỗi trong số các gen GA oxidaza đích để ức chế. Ví dụ, catxet biểu hiện và cấu trúc ức chế được đề xuất ở đây gồm trình tự ADN có thể phiên mã mã hóa phân tử ARN không mã hóa đơn nhắm đích cả gen GA20 oxidaza_3 và GA20 oxidaza_5 để ức chế.

Theo các phương án khác, vectơ hoặc cấu trúc ADN tái tổ hợp có thể gồm hai hoặc nhiều yếu tố ức chế hoặc trình tự có thể được xếp cùng nhau trong cấu trúc hoặc vectơ song song trong catxet biểu hiện đơn hoặc riêng biệt trong hai hoặc nhiều catxet biểu hiện. Vectơ hoặc cấu trúc ADN tái tổ hợp có thể gồm catxet biểu hiện đơn hoặc yếu tố ức chế gồm trình tự ADN có thể phiên mã mã hóa phân tử ARN không mã hóa gồm hai hoặc nhiều trình tự đích được xếp song song, bao gồm ít nhất trình tự đích thứ nhất và trình tự đích thứ hai, trong đó trình tự đích thứ nhất bổ trợ cho vị trí đích hoặc nhận biết mARN của gen GA oxidaza thứ nhất, và trình tự đích thứ hai bổ trợ cho vị trí đích hoặc nhận biết mARN của gen GA oxidaza thứ hai, và trong đó trình tự ADN có thể phiên mã được liên kết theo kiểu hoạt động được với đoạn khởi đầu biểu hiện được ở thực vật. Đoạn khởi đầu biểu hiện được ở thực vật có thể là đoạn khởi đầu cơ định, hoặc đoạn khởi đầu đặc hiệu mô hoặc ưu tiên mô, như được đề xuất ở đây. Phân tử ARN không mã hóa có thể được biểu hiện ở dạng tiền chất miARN mà được xử lý thành hai hoặc nhiều miARN thuần thục bao gồm ít nhất miARN thuần thục thứ nhất và miARN thuần thục thứ hai, trong đó miARN thứ nhất gồm trình tự đích bổ trợ cho vị trí đích hoặc nhận biết mARN của gen GA oxidaza thứ nhất, và

miARN thứ hai gồm trình tự đích bổ trợ cho vị trí đích hoặc nhận biết mARN của gen GA oxidaza thứ hai.

Theo các phương án khác, vectơ hoặc cấu trúc ADN tái tổ hợp có thể gồm hai hoặc nhiều catxet biểu hiện bao gồm catxet biểu hiện thứ nhất và catxet biểu hiện thứ hai, trong đó catxet biểu hiện thứ nhất gồm trình tự ADN có thể phiên mã thứ nhất được liên kết theo kiểu hoạt động được với đoạn khởi đầu biểu hiện được ở thực vật thứ nhất, và catxet biểu hiện thứ hai gồm trình tự ADN có thể phiên mã thứ hai được liên kết theo kiểu hoạt động được với đoạn khởi đầu biểu hiện được ở thực vật thứ hai, trong đó trình tự ADN có thể phiên mã thứ nhất mã hóa phân tử ARN không mã hóa thứ nhất gồm trình tự đích mà bổ trợ cho vị trí đích hoặc nhận biết mARN của gen GA oxidaza thứ nhất, và trình tự ADN có thể phiên mã thứ hai mã hóa phân tử ARN không mã hóa thứ hai gồm trình tự đích mà bổ trợ cho vị trí đích hoặc nhận biết mARN của gen GA oxidaza thứ hai. Đoạn khởi đầu biểu hiện được ở thực vật thứ nhất và thứ hai mỗi đoạn có thể là đoạn khởi đầu cơ định, hoặc đoạn khởi đầu đặc hiệu mô hoặc ưu tiên mô, như được đề xuất ở đây, và đoạn khởi đầu biểu hiện được ở thực vật thứ nhất và thứ hai có thể là đoạn khởi đầu giống nhau hoặc khác nhau.

Theo các phương án khác, hai hoặc nhiều yếu tố ức chế hoặc cấu trúc nhắm đích (các) gen GA oxidaza và/hoặc (các) bản chỉnh sửa gen GA oxidaza có thể được kết hợp trong cây biến đổi bằng cách lai hai hoặc nhiều cây cùng nhau trong một hoặc nhiều thế hệ để tạo ra cây biến đổi có sự kết hợp mong muốn của (các) yếu tố ức chế và/hoặc (các) bản chỉnh sửa gen. Theo các phương án này, cây biến đổi thứ nhất gồm yếu tố ức chế cấu trúc nhắm đích (các) gen GA oxidaza (hoặc bản chỉnh sửa gen GA oxidaza) có thể được lai với cây biến đổi thứ hai gồm yếu tố ức chế hoặc cấu trúc nhắm đích (các) gen GA oxidaza (bản chỉnh sửa gen GA oxidaza), sao cho cây con biến đổi có thể được tạo ra gồm yếu tố ức chế hoặc cấu trúc thứ nhất và yếu tố ức chế hoặc cấu trúc thứ hai, yếu tố ức chế hoặc cấu trúc và bản chỉnh sửa gen GA oxidaza, hoặc bản chỉnh sửa gen GA oxidaza thứ nhất và bản chỉnh sửa gen GA oxidaza thứ hai. Theo cách khác, cây biến đổi gồm hai hoặc nhiều yếu tố ức chế hoặc cấu trúc nhắm đích (các) gen GA oxidaza và/hoặc (các) bản chỉnh sửa gen GA oxidaza có thể được tạo ra bằng cách (i) đồng biến nạp yếu tố ức chế hoặc cấu trúc thứ nhất và yếu tố ức chế hoặc cấu trúc thứ hai (mỗi loại nhắm đích một gen GA oxidaza để ức chế), (ii) biến nạp cây biến đổi bằng yếu tố ức chế hoặc cấu trúc thứ hai, trong đó cây

biến đổi đã gồm yếu tố ức chế hoặc cấu trúc thứ nhất, (iii) biến nạp cây biến đổi bằng yếu tố ức chế hoặc cấu trúc, trong đó cây biến đổi đã gồm gen GA oxidaza được chỉnh sửa, (iv) biến nạp cây biến đổi bằng (các) cấu trúc để tạo ra một hoặc nhiều bản chỉnh sửa trong (các) gen GA oxidaza, trong đó cây biến đổi đã gồm yếu tố ức chế hoặc cấu trúc, hoặc (v) biến nạp bằng (các) cấu trúc để tạo ra hai hoặc nhiều bản chỉnh sửa trong (các) gen GA oxidaza.

Theo các phương án của sáng chế, cây biến đổi được đề xuất gồm hai hoặc nhiều cấu trúc nhắm đích (các) gen GA oxidaza để ức chế bao gồm cấu trúc ADN tái tổ hợp thứ nhất và cấu trúc ADN tái tổ hợp thứ hai, trong đó cấu trúc ADN tái tổ hợp thứ nhất gồm trình tự ADN có thể phiên mã thứ nhất mã hóa phân tử ARN không mã hóa thứ nhất mà bổ trợ cho trình tự đích hoặc nhận biết mARN của gen GA oxidaza thứ nhất, và cấu trúc ADN tái tổ hợp thứ hai gồm trình tự ADN có thể phiên mã thứ hai mã hóa phân tử ARN không mã hóa thứ hai mà bổ trợ cho trình tự đích hoặc nhận biết mARN của gen GA oxidaza thứ hai. Các cấu trúc ADN tái tổ hợp thứ nhất và thứ hai có thể được xếp trong vectơ đơn và được biến nạp trong cây ở dạng sự kiện đơn, hoặc có mặt trong các vectơ hoặc cấu trúc riêng biệt mà có thể được biến nạp ở dạng các sự kiện riêng biệt. Theo các phương án này, gen GA oxidaza thứ nhất có thể là gen GA20 oxidaza_3, GA20 oxidaza_5, GA20 oxidaza_4, GA3 oxidaza_1, hoặc GA3 oxidaza_2, phân tử ARN không mã hóa thứ nhất bổ trợ cho trình tự đích hoặc nhận biết của mARN được biểu hiện từ gen GA oxidaza này, và gen GA oxidaza thứ hai có thể là gen GA20 oxidaza_3, GA20 oxidaza_5, GA20 oxidaza_4, GA3 oxidaza_1, hoặc GA3 oxidaza_2. Theo một vài phương án, các gen GA oxidaza thứ nhất và thứ hai có thể là (các) gen GA oxidaza giống nhau hoặc khác nhau. Theo cách khác, gen GA oxidaza thứ hai có thể là gen GA oxidaza khác, như gen GA20 oxidaza_1, GA20 oxidaza_2, GA20 oxidaza_6, GA20 oxidaza_7, GA20 oxidaza_8, hoặc GA20 oxidaza_9, và phân tử ARN không mã hóa thứ hai bổ trợ cho trình tự đích hoặc nhận biết của mARN được biểu hiện từ gen GA oxidaza này.

Theo các phương án của sáng chế, cây biến đổi được đề xuất gồm cấu trúc ADN tái tổ hợp nhắm đích các gen GA oxidaza để ức chế gồm trình tự ADN có thể phiên mã mã hóa phân tử ARN không mã hóa mà gồm hai hoặc nhiều nhắm đích trình tự được sắp xếp song song bao gồm ít nhất trình tự đích thứ nhất that bổ trợ cho trình tự đích hoặc nhận biết mARN của gen GA oxidaza thứ nhất và trình tự đích thứ hai mà bổ trợ cho trình tự

đích hoặc nhận biết mARN của gen GA oxidaza thứ hai. Phân tử ARN không mã hóa có thể được biểu hiện ở dạng tiền chất miARN mà được xử lý trong hai hoặc nhiều miARN thuần thục bao gồm ít nhất miARN thuần thục thứ nhất và miARN thứ hai, trong đó miARN thứ nhất gồm trình tự nhắm đích thứ nhất mà bổ trợ cho vị trí đích hoặc nhận biết mARN của gen GA oxidaza thứ nhất, và miARN thứ hai gồm trình tự nhắm đích thứ hai mà bổ trợ cho vị trí đích hoặc nhận biết mARN của gen GA oxidaza thứ hai. Theo các phương án này, gen GA oxidaza thứ nhất có thể là gen GA20 oxidaza_3, GA20 oxidaza_5, GA20 oxidaza_4, GA3 oxidaza_1, hoặc GA3 oxidaza_2, phân tử ARN không mã hóa thứ nhất bổ trợ cho trình tự đích hoặc nhận biết của mARN được biểu hiện từ gen GA oxidaza này, và gen GA oxidaza thứ hai có thể là gen GA20 oxidaza_3, GA20 oxidaza_5, GA20 oxidaza_4, GA3 oxidaza_1, hoặc GA3 oxidaza_2. Theo một vài phương án, các gen GA oxidaza thứ nhất và thứ hai có thể là (các) gen GA oxidaza giống nhau hoặc khác nhau. Theo cách khác, gen GA oxidaza thứ hai có thể là gen GA oxidaza khác, như gen GA20 oxidaza_1, GA20 oxidaza_2, GA20 oxidaza_6, GA20 oxidaza_7, GA20 oxidaza_8, hoặc GA20 oxidaza_9, và phân tử ARN không mã hóa thứ hai bổ trợ cho trình tự đích hoặc nhận biết của mARN được biểu hiện từ gen GA oxidaza này.

Trong các kịch bản xếp chồng ở trên, và bất kể các trình tự nhắm đích được xếp chồng song song trong một trình tự ADN có thể phiên mã (hoặc catxet biểu hiện) hay trong các trình tự ADN có thể phiên mã riêng biệt (hoặc catxet biểu hiện), gen GA oxidaza thứ hai có thể là gen GA oxidaza khác gen GA20 oxidaza_3, GA20 oxidaza_5, GA20 oxidaza_4, GA3 oxidaza_1, hoặc GA3 oxidaza_2, như gen GA20 oxidaza_1, GA20 oxidaza_2, GA20 oxidaza_6, GA20 oxidaza_7, GA20 oxidaza_8, hoặc GA20 oxidaza_9. Theo các phương án này, trình tự nhắm đích thứ hai của phân tử ARN không mã hóa có thể bổ sung ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% cho ít nhất 15, ít nhất 16, ít nhất 17, ít nhất 18, ít nhất 19, ít nhất 20, ít nhất 21, ít nhất 22, ít nhất 23, ít nhất 24, ít nhất 25, ít nhất 26, hoặc ít nhất 27 nucleotit liên tiếp của bất kỳ một hoặc nhiều SEQ ID NO: 1, 2, 4, 5, 16, 17, 19, 20, 22, 23, 25, và/hoặc 26. Theo một vài phương án, trình tự nhắm đích thứ hai của phân tử ARN không mã hóa có thể bổ trợ cho ít nhất 19 nucleotit liên tiếp, nhưng không lớn hơn 27 nucleotit liên tiếp, như bổ trợ cho 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, hoặc 27 nucleotit liên tiếp, của bất kỳ một hoặc nhiều SEQ ID NO: 1, 2, 4, 5, 16, 17, 19, 20, 22, 23, 25, và/hoặc 26. Theo một vài phương án, trình tự nhắm đích thứ hai của phân tử ARN không

mã hóa có thể bổ sung ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% cho ít nhất 15, ít nhất 16, ít nhất 17, ít nhất 18, ít nhất 19, ít nhất 20, ít nhất 21, ít nhất 22, ít nhất 23, ít nhất 24, ít nhất 25, ít nhất 26, hoặc ít nhất 27 nucleotit liên tiếp của phân tử mARN mã hóa protein GA oxidaza nội sinh ở thực vật mà tương đồng ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% với bất kỳ một hoặc nhiều SEQ ID NO: 3, 6, 18, 21, 24, và/hoặc 27. Theo các phương án khác, trình tự nhắm đích thứ hai của phân tử ARN không mã hóa có thể gồm trình tự mà bổ sung ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% cho ít nhất 15, ít nhất 16, ít nhất 17, ít nhất 18, ít nhất 19, ít nhất 20, ít nhất 21, ít nhất 22, ít nhất 23, ít nhất 24, ít nhất 25, ít nhất 26, hoặc ít nhất 27 nucleotit liên tiếp của phân tử mARN mã hóa protein GA oxidaza nội sinh mà tương tự ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% với bất kỳ một hoặc nhiều SEQ ID NO: 3, 6, 18, 21, 24, và/hoặc 27.

Cấu trúc hoặc phân tử ADN tái tổ hợp theo sáng chế có thể gồm hoặc được bao gồm trong vectơ biến nạp ADN để sử dụng trong việc biến nạp tế bào thực vật, mô hoặc mảnh cấy. Nói chung, vectơ biến nạp có thể bao gồm các trình tự hoặc các yếu tố cần thiết hoặc có lợi cho việc biến nạp hiệu quả, ngoài ít nhất một gen chuyển, catxet biểu hiện và/hoặc trình tự ADN có thể phiên mã mã hóa một gen GA oxidaza hoặc phân tử ARN không mã hóa nhắm đích gen GA oxidaza nội sinh để ức chế. Đối với biến nạp qua trung gian *Agrobacterium*, qua trung gian *Rhizobia* hoặc các vi khuẩn khác, vectơ biến nạp có thể gồm đoạn hoặc vùng ADN di chuyển (hoặc T-ADN) được thao tác di truyền có hai trình tự viền, viền trái (LB) và viền phải (RB), chặn hai bên ít nhất là trình tự ADN có thể phiên mã hoặc gen chuyển, sao cho việc gắn xen T-ADN vào hệ gen thực vật sẽ tạo ra một sự kiện biến nạp cho trình tự ADN có thể phiên mã, gen chuyển hoặc catxet biểu hiện. Do đó, trình tự ADN có thể phiên mã, gen chuyển hoặc catxet biểu hiện mã hóa phân tử ARN không mã hóa nhắm đích gen GA oxidaza nội sinh để ức chế có thể được định vị giữa viền trái và phải của T-ADN, có lẽ cùng với (các) gen chuyển hoặc (các) catxet biểu hiện, như một gen chuyển đánh dấu có thể lựa chọn thực vật và/hoặc (các) gen khác có lợi ích nông học mà có thể tạo ra một đặc điểm hoặc kiểu hình có lợi ích nông học đối với cây trồng. Theo các phương án thay thế, trình tự ADN có thể phiên mã, gen chuyển hoặc catxet biểu

hiện mã hóa phân tử ARN không mã hóa nhắm đích gen GA oxidaza nội sinh để ức chế và gen chuyển đánh dấu có thể chọn lọc ở cây (hoặc gen khác của lợi ích nông học) có thể có trong đoạn T-ADN riêng biệt trên (các) phân tử ADN tái tổ hợp giống nhau hoặc khác nhau, như để cùng biến nạp. Cấu trúc hoặc vectơ biến nạp có thể còn bao gồm các yếu tố duy trì chưa có nhân điển hình, có thể nằm trong vectơ bên ngoài (các) vùng T-ADN.

Gen chuyển đánh dấu có thể lựa chọn ở thực vật trong cấu trúc hoặc vectơ biến nạp theo sáng chế có thể được sử dụng để hỗ trợ trong việc lựa chọn các tế bào hoặc mô biến nạp do sự hiện diện của một tác nhân chọn lọc, như là thuốc kháng sinh hoặc thuốc diệt cỏ, trong đó gen chuyển đánh dấu có thể lựa chọn ở thực vật đem lại khả năng chịu đựng hoặc đề kháng với tác nhân chọn lọc. Do đó, tác nhân chọn lọc có thể thiên vị hoặc ủng hộ sự sống sót, phát triển, tăng trưởng, tăng sinh, v.v., của tế bào biến nạp biểu hiện gen đánh dấu chọn lọc thực vật, như để tăng tỷ lệ của tế bào hoặc mô biến nạp ở cây R_0. Gen đánh dấu chọn lọc thực vật thường được sử dụng bao gồm, ví dụ, các loại tạo ra khả năng chịu đựng hoặc đề kháng với thuốc kháng sinh, như kanamycin và paromomycin (*nptII*), hygromycin B (*aph IV*), streptomycin hoặc spectinomycin (*aadA*) và gentamycin (*aac3* và *aacC4*), các loại tạo ra khả năng chịu đựng hoặc đề kháng với thuốc diệt cỏ như glufosinat (*bar* hoặc *pat*), dicamba (*DMO*) và glyphosat (*aroA* hoặc *EPSPS*). Gen đánh dấu chọn lọc thực vật còn có thể được sử dụng, mà tạo ra khả năng để sàng lọc trực quan đối với các dạng biến nạp, như luciferaza hoặc protein huỳnh quang xanh lá cây (GFP), hoặc gen biểu hiện gen beta glucuronidaza hoặc *uidA* (GUS) mà các cơ chất sinh màu khác nhau đối với chúng là đã biết. Theo một vài phương án, vectơ hoặc polynucleotit được đề xuất ở đây gồm ít nhất một gen đánh dấu chọn lọc được chọn từ nhóm gồm *nptII*, *aph IV*, *aadA*, *aac3, aacC4, bar, pat, DMO, EPSPS, aroA,* GFP, và GUS. Sự biến nạp thực vật còn có thể được thực hiện khi không có sự chọn lọc trong một hoặc nhiều bước hoặc giai đoạn nuôi cấy, phát triển hoặc tái sinh mảnh cấy, mô, cây và/hoặc bộ phận cây biến nạp.

Theo các phương án này, các phương pháp biến nạp tế bào cây, mô hoặc mảnh cấy bằng cấu trúc hoặc phân tử ADN tái tổ hợp có thể bao gồm thêm sự tích hợp hướng vị trí hoặc nhắm đích. Theo các phương pháp này, một phần của phân tử khuôn mẫu ADN cho tái tổ hợp (nghĩa là, trình tự gắn xen) có thể được chèn hoặc tích hợp tại một vị trí hoặc vị trí gen mong muốn trong hệ gen thực vật. Trình tự gắn xen của khuôn mẫu cho có thể gồm một gen chuyển hoặc cấu trúc, chẳng hạn như gen chuyển hoặc trình tự ADN có thể

phiên mã mã hóa phân tử ARN không mã hóa nhắm đích gen GA oxidaza nội sinh để ức chế. Khuôn mẫu cho còn có thể có một hoặc hai nhánh tương đồng chặn hai bên sườn trình tự gắn xen để thúc đẩy sự kiện gắn xen nhắm đích thông qua sự tái tổ hợp tương đồng và/hoặc sửa chữa theo hướng tương đồng. Mỗi nhánh tương đồng có thể tương đồng hoặc bổ sung ít nhất 70%, ít nhất 75%, ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 99% hoặc 100% cho ít nhất 20, ít nhất 25, ít nhất 30, ít nhất 35, ít nhất 40, ít nhất 45, ít nhất 50, ít nhất 60, ít nhất 70, ít nhất 80, ít nhất 90, ít nhất 100, ít nhất 150, ít nhất 200, ít nhất 250, ít nhất 500, ít nhất 1000, ít nhất 2500, hoặc ít nhất 5000 nucleotit liên tiếp của trình tự ADN đích trong hệ gen của cây một lá mầm hoặc ngũ cốc. Do đó, phân tử ADN tái tổ hợp theo sáng chế có thể gồm khuôn mẫu cho để tích hợp gen chuyển hoặc cấu trúc nhắm đích hoặc hướng vị trí, như gen chuyển hoặc trình tự ADN có thể phiên mã mã hóa phân tử ARN không mã hóa nhắm đích gen GA oxidaza nội sinh để ức chế, vào hệ gen của cây.

Bất kỳ vị trí hoặc vị trí gen nào trong hệ gen của cây đều có khả năng được chọn để tích hợp hướng vị trí của gen chuyển, cấu trúc hoặc trình tự ADN có thể phiên mã được đề xuất ở đây. Để tích hợp hướng vị trí, trước tiên, có thể tạo ra đoạn đứt hoặc gãy sợi kép (DSB) hoặc tại vị trí gen được chọn bằng nucleaza đặc hiệu vị trí, chẳng hạn như, nucleaza ngón tay kẽm, meganucleaza tự nhiên hoặc được thao tác di truyền, TALE-endonucleaza, endonucleaza được dẫn đường bằng ARN (ví dụ, Cas9 hoặc Cpf1). Bất kỳ phương pháp nào được biết đến trong lĩnh vực này để tích hợp hướng vị trí có thể được sử dụng. Với sự có mặt của phân tử khuôn mẫu cho với trình tự gắn xen, DSB hoặc đoạn đứt có thể được sửa chữa bằng cách tái tổ hợp tương đồng giữa (các) nhánh tương đồng của khuôn mẫu và hệ gen thực vật, hoặc bằng cách kết nối đầu cuối không tương đồng (NHEJ), dẫn đến sự tích hợp hướng vị trí của trình tự gắn xen vào hệ gen thực vật để tạo ra sự kiện gắn xen đích tại vị trí của DSB hoặc đoạn đứt. Do đó, sự tích hợp hoặc gắn xen đặc hiệu vị trí của gen chuyển, cấu trúc hoặc trình tự có thể đạt được.

Việc đưa DSB hoặc đoạn đứt vào cũng có thể được sử dụng để đưa các đột biến được nhắm đích vào hệ gen của cây. Theo cách tiếp cận này, các đột biến, như xóa, gắn xen, đảo ngược và/hoặc thay thế có thể được đưa vào ở vị trí đích thông qua sửa chữa không hoàn hảo DSB hoặc đoạn đứt để tạo ra sự bất hoạt hoặc phá vỡ gen GA oxidaza. Những đột biến như vậy có thể được tạo ra bởi sự sửa chữa không hoàn ổ gen đích ngay

cả khi không sử dụng phân tử khuôn mẫu cho. "Bất hoạt" gen GA oxidaza có thể đạt được bằng cách tạo gây cảm ứng DSB hoặc đoạn đứt ở hoặc gần ổ gen nội sinh của gen GA oxidaza dẫn đến việc không biểu hiện protein GA oxidaza hoặc biểu hiện protein không có chức năng, trong khi "phá vỡ" gen GA oxidaza có thể đạt được theo cách tương tự bằng cách gây cảm ứng đoạn đứt hoặc DSB ở hoặc gần ổ gen nội sinh của gen GA oxidaza được sửa chữa không hoàn hảo ở vị trí không ảnh hưởng đến trình tự mã hóa của gen GA oxidaza theo cách loại bỏ chức năng của protein GA oxidaza được mã hóa. Ví dụ, vị trí của DSB hoặc đoạn đứt trong vị trí gen nội sinh có thể là ở ngược dòng hoặc vùng 5' của gen GA oxidaza (ví dụ, trình tự khởi đầu và/hoặc tăng cường) để ảnh hưởng hoặc giảm mức độ biểu hiện của nó. Tương tự như vậy, các đột biến bất hoạt hoặc phá vỡ nhắm đích gen GA oxidaza có thể được tạo ra bằng phân tử khuôn mẫu cho để điều khiển một đột biến cụ thể hoặc mong muốn ở hoặc gần vị trí đích thông qua việc sửa chữa DSB hoặc đoạn đứt. Phân tử khuôn mẫu cho có thể gồm trình tự tương đồng có hoặc không có trình tự gắn xen và một hoặc nhiều đột biến, như một hoặc nhiều sự xóa bỏ, gắn xen, đảo ngược và/hoặc thay thế, liên quan đến trình tự gen đích ở hoặc gần vị trí của DSB hoặc đoạn đứt. Ví dụ, các đột biến bất hoạt nhắm đích gen GA oxidaza có thể đạt được bằng cách xóa bỏ hoặc đảo ngược ít nhất một phần của gen này hoặc bằng cách đưa một codon dừng sớm hoặc dịch chuyển khung vào trình tự mã hóa của gen. Việc xóa bỏ một phần gen GA oxidaza cũng có thể được đưa vào bằng cách tạo ra DSB hoặc đoạn đứt tại hai vị trí đích và gây ra việc xóa bỏ vùng đích xen kẽ được chặn hai bên sườn bằng các vị trí đích.

Nucleaza đặc hiệu vị trí được đề xuất ở đây có thể được chọn từ nhóm gồm nucleaza ngón tay kẽm (ZFN), meganucleaza, endonucleaza được dẫn đường bằng ARN, TALE-endonucleaza (TALEN), recombinaza, transposaza, hoặc sự kết hợp bất kỳ của chúng. Xem, ví dụ, Khandagale, K. và đồng tác giả, "Genome editing for targeted improvement in plants," *Plant Biotechnol Rep* 10: 327-343 (2016); và Gaj, T. và đồng tác giả, "ZFN, TALEN and CRISPR/Cas-based methods for genome engineering," *Trends Biotechnol.* 31(7): 397-405 (2013), được đưa vào đây bằng cách viện dẫn. Recombinaza có thể là serin recombinaza được gắn với môtip ADN nhận biết, tyrosin recombinaza được gắn với môtip ADN nhận biết hoặc enzym recombinaza khác đã biết trong lĩnh vực này. Recombinaza hoặc transposaza có thể là ADN transposaza hoặc recombinaza được gắn với miền gắn kết ADN. Tyrosin recombinaza được gắn với môtip ADN nhận biết có thể được chọn từ nhóm gồm Cre recombinaza, Flp recombinaza, và Tnp1 recombinaza. Theo một

vài phương án, Cre recombinaza hoặc Gin recombinaza được đề xuất ở đây được gắn với một miền gắn kết ADN ngón tay kẽm. Theo một phương án khác, serin recombinaza được gắn với môtip ADN nhận biết được đề xuất ở đây được chọn từ nhóm gồm PhiC31 integraza, R4 integraza, và TP-901 integraza. Theo một phương án khác, ADN transposaza được gắn với miền gắn kết ADN được đề xuất ở đây được chọn từ nhóm gồm TALE-piggyBac và TALE-Mutator.

Theo các phương án của sáng chế, endonucleaza được dẫn đường bằng ARN có thể được chọn từ nhóm gồm Cas1, Cas1B, Cas2, Cas3, Cas4, Cas5, Cas6, Cas7, Cas8, Cas9 (còn gọi là Csn1 và Csx12), Cas10, Csy1, Csy2, Csy3, Cse1, Cse2, Csc1, Csc2, Csa5, Csn2, Csm2, Csm3, Csm4, Csm5, Csm6, Cmr1, Cmr3, Cmr4, Cmr5, Cmr6, Csb1, Csb2, Csb3, Csx17, Csx14, Csx10, Csx16, CsaX, Csx3, Csx1, Csx15, Csf1, Csf2, Csf3, Csf4, Cpf1, CasX, CasY, và dạng tương đồng hoặc bản biến đổi của chúng, Argonaute (các ví dụ không giới hạn về Argonaute protein bao gồm *Thermus thermophilus* Argonaute (TtAgo), *Pyrococcus furiosus* Argonaute (PfAgo), *Natronobacterium gregoryi* Argonaute (NgAgo) và dạng tương đồng hoặc bản biến đổi của chúng. Theo một vài phương án, endonucleaza được dẫn đường bằng ARN có thể là enzym Cas9 hoặc Cpf1.

Theo một khía cạnh, nucleaza đặc hiệu vị trí được đề xuất ở đây được chọn từ nhóm gồm nucleaza ngón tay kẽm, meganucleaza, nucleaza được dẫn đường bằng ARN, TALE-nucleaza, recombinaza, transposaza, hoặc sự kết hợp bất kỳ của chúng. Theo khía cạnh khác, nucleaza đặc hiệu vị trí được đề xuất ở đây được chọn từ nhóm gồm Cas9 hoặc Cpf1. Theo khía cạnh khác, nucleaza đặc hiệu vị trí được đề xuất ở đây được chọn từ nhóm gồm Cas1, Cas1B, Cas2, Cas3, Cas4, Cas5, Cas6, Cas7, Cas8, Cas9, Cas10, Csy1, Csy2, Csy3, Cse1, Cse2, Csc1, Csc2, Csa5, Csn2, Csm2, Csm3, Csm4, Csm5, Csm6, Cmr1, Cmr3, Cmr4, Cmr5, Cmr6, Csb1, Csb2, Csb3, Csx17, Csx14, Csx10, Csx16, CsaX, Csx3, Csx1, Csx15, Csf1, Csf2, Csf3, Csf4, Cpf1, CasX, CasY, dạng tương đồng của chúng, hoặc bản biến đổi của chúng. Theo khía cạnh khác, nucleaza được dẫn đường bằng ARN được đề xuất ở đây được chọn từ nhóm gồm Cas9 hoặc Cpf1. Theo khía cạnh khác, nucleaza được dẫn đường bằng ARN được đề xuất ở đây được chọn từ nhóm gồm Cas1, Cas1B, Cas2, Cas3, Cas4, Cas5, Cas6, Cas7, Cas8, Cas9, Cas10, Csy1, Csy2, Csy3, Cse1, Cse2, Csc1, Csc2, Csa5, Csn2, Csm2, Csm3, Csm4, Csm5, Csm6, Cmr1, Cmr3, Cmr4, Cmr5, Cmr6, Csb1, Csb2, Csb3, Csx17, Csx14, Csx10, Csx16, CsaX, Csx3, Csx1, Csx15, Csf1,

Csf2, Csf3, Csf4, Cpf1, CasX, CasY, dạng tương đồng của chúng, hoặc bản biến đổi của chúng. Theo khía cạnh khác, phương pháp và/hoặc chế phẩm được đề xuất ở đây gồm ít nhất một, ít nhất hai, ít nhất ba, ít nhất bốn, ít nhất năm, ít nhất sáu, ít nhất bảy, ít nhất tám, ít nhất chín, hoặc ít nhất mười nucleaza đặc hiệu vị trí. Theo một khía cạnh khác nữa, phương pháp và/hoặc chế phẩm được đề xuất ở đây gồm ít nhất một, ít nhất hai, ít nhất ba, ít nhất bốn, ít nhất năm, ít nhất sáu, ít nhất bảy, ít nhất tám, ít nhất chín, ít nhất mười polynucleotit mã hóa ít nhất một, ít nhất hai, ít nhất ba, ít nhất bốn, ít nhất năm, ít nhất sáu, ít nhất bảy, ít nhất tám, ít nhất chín, ít nhất mười nucleaza đặc hiệu vị trí.

Đối với các endonucleaza được dẫn đường bằng ARN, phân tử ARN dẫn đường (gARN) còn được đề xuất để hướng endonucleaza đến vị trí đích trong hệ gen của cây thông qua sự bắt cặp bazơ hoặc lai để tạo ra đoạn đứt hoặc DBS ở hoặc gần vị trí đích. gARN có thể được biến nạp hoặc đưa vào tế bào cây hoặc mô (có thể cùng với một nucleaza, hoặc cấu trúc, vectơ hoặc phân tử ADN mã hóa nucleaza) ở dạng phân tử gARN, hoặc ở dạng cấu trúc, vectơ hoặc phân tử ADN tái tổ hợp gồm trình tự ADN có thể phiên mã mã hóa ARN dẫn đường được liên kết theo kiểu hoạt động được với đoạn khởi đầu biểu hiện được ở thực vật. Như được hiểu trong lĩnh vực này, "ARN dẫn đường" có thể bao gồm, ví dụ, ARN CRISPR (crARN), ARN dẫn đường chuỗi đơn (sgARN), hoặc bất kỳ phân tử ARN nào khác có thể dẫn đường hoặc hướng endonucleaza đến một vị trí đích cụ thể trong hệ gen. "ARN dẫn đường chuỗi đơn" (hoặc "sgARN") là phân tử ARN gồm crARN liên kết cộng hóa trị tracrARN bằng trình tự liên kết, mà có thể được biểu hiện dưới dạng một phân tử hoặc bản phiên mã ARN đơn. ARN dẫn đường gồm trình tự dẫn đường hoặc nhắm đích mà tương đồng hoặc bổ trợ cho vị trí đích trong hệ gen thực vật, như ở hoặc gần gen GA oxidaza. Môtip liền kề tiền đệm (PAM) có thể có mặt trong hệ gen liền kề ngay cạnh và ngược dòng đến đầu 5' của trình tự vị trí đích của hệ gen bổ trợ cho trình tự nhắm đích của ARN dẫn đường - tức là xuôi dòng ngay lập tức (3') đến sợi có nghĩa (+) của vị trí đích của hệ gen (liên quan đến trình tự nhắm đích của ARN dẫn đường) như đã biết trong lĩnh vực này. Xem, ví dụ, Wu, X. và đồng tác giả, "Target specificity of the CRISPR-Cas9 system," *Quant Biol.* 2(2): 59-70 (2014), được đưa vào đây bằng cách viện dẫn. Trình tự PAM của hệ gen trên sợi có nghĩa (+) liền kề với vị trí đích (liên quan đến trình tự nhắm đích của ARN dẫn đường) có thể gồm 5'-NGG-3'. Tuy nhiên, trình tự tương ứng của ARN dẫn đường (tức là, xuôi dòng ngay lập tức (3') đến trình tự nhắm đích của ARN dẫn đường) thường có thể không bổ trợ cho trình tự PAM của hệ gen. ARN dẫn

đường thường có thể là phân tử ARN không mã hóa mà không mã hóa protein. Trình tự dẫn đường của ARN dẫn đường có thể là ít nhất 10 nucleotit trong chiều dài, như 12-40 nucleotit, 12-30 nucleotit, 12-20 nucleotit, 12-35 nucleotit, 12-30 nucleotit, 15-30 nucleotit, 17-30 nucleotit, hoặc 17-25 nucleotit trong chiều dài, hoặc khoảng 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25 hoặc nhiều nucleotit trong chiều dài. Trình tự dẫn đường có thể tương đồng hoặc bổ sung ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 99% hoặc 100% cho ít nhất 10, ít nhất 11, ít nhất 12, ít nhất 13, ít nhất 14, ít nhất 15, ít nhất 16, ít nhất 17, ít nhất 18, ít nhất 19, ít nhất 20, ít nhất 21, ít nhất 22, ít nhất 23, ít nhất 24, ít nhất 25, hoặc nhiều nucleotit liên tiếp của trình tự ADN ở vị trí đích của hệ gen.

Để chỉnh sửa hệ gen ở hoặc gần gen GA20 oxidaza_3 bằng endonucleaza được dẫn đường bằng ARN, ARN dẫn đường có thể được sử dụng gồm trình tự dẫn đường mà tương đồng hoặc bổ sung ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 99% hoặc 100% với ít nhất 10, ít nhất 11, ít nhất 12, ít nhất 13, ít nhất 14, ít nhất 15, ít nhất 16, ít nhất 17, ít nhất 18, ít nhất 19, ít nhất 20, ít nhất 21, ít nhất 22, ít nhất 23, ít nhất 24, ít nhất 25, hoặc nhiều nucleotit liên tiếp của SEQ ID NO: 34 hoặc trình tự bổ sung của nó (ví dụ, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25 hoặc nhiều nucleotit liên tiếp của SEQ ID NO: 34 hoặc trình tự bổ sung của nó). Để chỉnh sửa hệ gen ở hoặc gần gen GA20 oxidaza_5 bằng endonucleaza được dẫn đường bằng ARN, ARN dẫn đường có thể được sử dụng gồm trình tự dẫn đường mà tương đồng hoặc bổ sung ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 99% hoặc 100% với ít nhất 10, ít nhất 11, ít nhất 12, ít nhất 13, ít nhất 14, ít nhất 15, ít nhất 16, ít nhất 17, ít nhất 18, ít nhất 19, ít nhất 20, ít nhất 21, ít nhất 22, ít nhất 23, ít nhất 24, ít nhất 25, hoặc nhiều nucleotit liên tiếp của SEQ ID NO: 35 hoặc trình tự bổ sung của nó (ví dụ, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25 hoặc nhiều nucleotit liên tiếp của SEQ ID NO: 35 hoặc trình tự bổ sung của nó). Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "liền kề" khi đề cập đến trình tự polynucleotit hoặc protein nghĩa là không có sự bỏ đoạn hoặc khe hở trong trình tự.

Đối với các đột biến làm giảm biểu hiện (và có thể là bất hoạt) thông qua sự chỉnh sửa hệ gen, endonucleaza được dẫn đường bằng ARN có thể được nhắm đích đến trình tự ngược dòng hoặc xuôi dòng, như trình tự khởi đầu và/hoặc tăng cường, hoặc trình tự intron, 5'UTR, và/hoặc 3'UTR của gen GA20 oxidaza_3 hoặc GA20 oxidaza_5 để đột biến một hoặc nhiều trình tự khởi đầu và/hoặc điều hòa của gen và ảnh hưởng hoặc làm

giảm mức biểu hiện của nó. Đối với việc giảm biểu hiện (và có thể là bất hoạt) gen GA20 oxidaza_3 ở ngô, ARN dẫn đường có thể được sử dụng gồm trình tự dẫn đường mà tương đồng hoặc bổ sung ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 99% hoặc 100% với ít nhất 10, ít nhất 11, ít nhất 12, ít nhất 13, ít nhất 14, ít nhất 15, ít nhất 16, ít nhất 17, ít nhất 18, ít nhất 19, ít nhất 20, ít nhất 21, ít nhất 22, ít nhất 23, ít nhất 24, ít nhất 25, hoặc nhiều nucleotit liền kề trong khoảng trình tự nucleotit 1-3096 của SEQ ID NO: 34, khoảng trình tự nucleotit 3666-3775 của SEQ ID NO: 34, khoảng trình tự nucleotit 4098-5314 của SEQ ID NO: 34, khoảng trình tự nucleotit 5585-5800 của SEQ ID NO: 34, hoặc khoảng trình tự nucleotit 5801-8800 của SEQ ID NO: 34, hoặc trình tự bổ sung của nó (ví dụ, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25 hoặc nhiều nucleotit liền kề trong khoảng trình tự nucleotit 1-3096, 3666-3775, 4098-5314, 5585-5800, 5801-8800, hoặc 5585-8800 của SEQ ID NO: 34, hoặc trình tự bổ sung của nó).

Đối với sự giảm biểu hiện (và có thể là bất hoạt) gen GA20 oxidaza_5 ở ngô, ARN dẫn đường có thể được sử dụng gồm trình tự dẫn đường mà tương đồng hoặc bổ sung ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 99% hoặc 100% với ít nhất 10, ít nhất 11, ít nhất 12, ít nhất 13, ít nhất 14, ít nhất 15, ít nhất 16, ít nhất 17, ít nhất 18, ít nhất 19, ít nhất 20, ít nhất 21, ít nhất 22, ít nhất 23, ít nhất 24, ít nhất 25, hoặc nhiều nucleotit liền kề trong khoảng trình tự nucleotit 1-3000 của SEQ ID NO: 35, khoảng trình tự nucleotit 1-3000 của SEQ ID NO: 35, khoảng trình tự nucleotit 3792-3906 của SEQ ID NO: 35, khoảng trình tự nucleotit 4476-5197 của SEQ ID NO: 35, hoặc khoảng trình tự nucleotit 5860-8859 của SEQ ID NO: 35, hoặc trình tự bổ sung của nó (ví dụ, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25 hoặc nhiều nucleotit liền kề trong khoảng trình tự nucleotit 1-3000, 3792-3906, 4476-5197, hoặc 5860-8859 của SEQ ID NO: 35, hoặc trình tự bổ sung của nó).

Đối với các đột biến làm giảm biểu hiện (và có thể là bất hoạt) thông qua sự chỉnh sửa hệ gen, endonucleaza được dẫn đường bằng ARN có thể được nhắm đích để mã hóa và/hoặc trình tự intron của gen GA20 oxidaza_3 hoặc GA20 oxidaza_5 để loại bỏ hữu hiệu sự biểu hiện và/hoặc hoạt tính của protein GA oxidaza chức năng khỏi gen. Tuy nhiên, việc bất hoạt sự biểu hiện của gen GA oxidaza còn có thể đạt được trong một vài trường hợp bằng cách nhắm đích (các) trình tự ngược dòng và/hoặc 5'UTR của gen, hoặc các trình tự khác ở hoặc gần vị trí gen của gen. Do đó, việc bất hoạt sự biểu hiện của gen GA oxidaza

có thể đạt được bằng cách nhắm đích trình tự hệ gen ở hoặc gần vị trí hoặc vị trí gen của gen GA20 oxidaza_3 hoặc GA20 oxidaza_5 đích, trình tự ngược dòng hoặc xuôi dòng, như trình tự khởi đầu và/hoặc tăng cường, hoặc trình tự intron, 5'UTR, và/hoặc 3'UTR, của gen GA20 oxidaza_3 hoặc GA20 oxidaza_5, như nêu trên để phá vỡ gen GA20 oxidaza_3 hoặc GA20 oxidaza_5.

Để bất hoạt (và có thể là giảm biểu hiện) gen GA20 oxidaza_3 ở ngô, ARN dẫn đường có thể được sử dụng gồm trình tự dẫn đường mà tương đồng hoặc bổ sung ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 99% hoặc 100% với ít nhất 10, ít nhất 11, ít nhất 12, ít nhất 13, ít nhất 14, ít nhất 15, ít nhất 16, ít nhất 17, ít nhất 18, ít nhất 19, ít nhất 20, ít nhất 21, ít nhất 22, ít nhất 23, ít nhất 24, ít nhất 25, hoặc nhiều nucleotit liền kề trong khoảng trình tự nucleotit 3097-5584 của SEQ ID NO: 34, khoảng trình tự nucleotit 3097-3665 của SEQ ID NO: 34, khoảng trình tự nucleotit 3776-4097 của SEQ ID NO: 34, hoặc khoảng trình tự nucleotit 5315-5584 của SEQ ID NO: 34, hoặc trình tự bổ sung của nó (ví dụ, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25 hoặc nhiều nucleotit liền kề trong khoảng trình tự nucleotit 3097-5584, 3097-3665, 3097-3775, 3665-4097, 3776-4097, 3776-5314, 4098-5584, hoặc 5315-5584 của SEQ ID NO: 34, hoặc trình tự bổ sung của nó).

Để bất hoạt (và có thể là giảm biểu hiện) gen GA20 oxidaza_5 ở ngô, ARN dẫn đường có thể được sử dụng gồm trình tự dẫn đường mà tương đồng hoặc bổ sung ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 99% hoặc 100% với ít nhất 10, ít nhất 11, ít nhất 12, ít nhất 13, ít nhất 14, ít nhất 15, ít nhất 16, ít nhất 17, ít nhất 18, ít nhất 19, ít nhất 20, ít nhất 21, ít nhất 22, ít nhất 23, ít nhất 24, ít nhất 25, hoặc nhiều nucleotit liền kề trong khoảng trình tự nucleotit 3001-5473 của SEQ ID NO: 35, khoảng trình tự nucleotit 3001-3791 của SEQ ID NO: 35, khoảng trình tự nucleotit 3907-4475 của SEQ ID NO: 35, hoặc khoảng trình tự nucleotit 5198-5473 của SEQ ID NO: 35, hoặc trình tự bổ sung của nó (ví dụ, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25 hoặc nhiều nucleotit liền kề trong khoảng trình tự nucleotit 3001-5473, 3001-3791, 3001-3906, 3792-4475, 3907-4475, 3907-5197, 4476-5473, hoặc 5198-5473 của SEQ ID NO: 35, hoặc trình tự bổ sung của nó).

Theo một vài phương án, ARN dẫn đường để nhắm đích gen GA20 oxidaza_3 và/hoặc GA20 oxidaza_5 nội sinh được đề xuất gồm trình tự dẫn đường mà tương đồng

hoặc bổ sung ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 99% hoặc 100% với ít nhất 10, ít nhất 11, ít nhất 12, ít nhất 13, ít nhất 14, ít nhất 15, ít nhất 16, ít nhất 17, ít nhất 18, ít nhất 19, ít nhất 20, hoặc ít nhất 21 nucleotit liên tiếp của bất kỳ một hoặc nhiều SEQ ID NO: 138-167.

Để chỉnh sửa hệ gen ở hoặc gần gen GA20 oxidaza_4 bằng endonucleaza được dẫn đường bằng ARN, ARN dẫn đường có thể được sử dụng gồm trình tự dẫn đường mà tương đồng hoặc bổ sung ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 99% hoặc 100% với ít nhất 10, ít nhất 11, ít nhất 12, ít nhất 13, ít nhất 14, ít nhất 15, ít nhất 16, ít nhất 17, ít nhất 18, ít nhất 19, ít nhất 20, ít nhất 21, ít nhất 22, ít nhất 23, ít nhất 24, ít nhất 25, hoặc nhiều nucleotit liên tiếp của SEQ ID NO: 38 hoặc trình tự bổ sung của nó (ví dụ, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25 hoặc nhiều nucleotit liên tiếp của SEQ ID NO: 38 hoặc trình tự bổ sung của nó).

Đối với các đột biến bất hoạt (và có thể là giảm biểu hiện) thông qua sự chỉnh sửa hệ gen, endonucleaza được dẫn đường bằng ARN có thể được nhắm đích để mã hóa và/hoặc trình tự intron của gen GA20 oxidaza_4 để loại bỏ hữu hiệu sự biểu hiện và/hoặc hoạt tính của protein GA20 oxidaza_4 chức năng khỏi gen. Đối với gen GA20 oxidaza_4 ở ngô, ARN dẫn đường có thể được sử dụng gồm trình tự dẫn đường mà tương đồng hoặc bổ sung ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 99% hoặc 100% với ít nhất 10, ít nhất 11, ít nhất 12, ít nhất 13, ít nhất 14, ít nhất 15, ít nhất 16, ít nhất 17, ít nhất 18, ít nhất 19, ít nhất 20, ít nhất 21, ít nhất 22, ít nhất 23, ít nhất 24, ít nhất 25, hoặc nhiều nucleotit liền kề trong khoảng trình tự nucleotit 1544-2852 của SEQ ID NO: 38, khoảng trình tự nucleotit 1544-1995 của SEQ ID NO: 38, khoảng trình tự nucleotit 2084-2411 của SEQ ID NO: 38, hoặc khoảng trình tự nucleotit 2517-2852 của SEQ ID NO: 38, hoặc trình tự bổ sung của nó (ví dụ, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25 hoặc nhiều nucleotit liền kề trong khoảng trình tự nucleotit 1544-2852, 1544-1995, 1544-2083, 1996-2411, 2084-2411, 2084-2516, 2412-2852, hoặc 2517-2852 của SEQ ID NO: 38, hoặc trình tự bổ sung của nó).

Đối với các đột biến làm giảm biểu hiện (và có thể là bất hoạt) thông qua sự chỉnh sửa hệ gen, endonucleaza được dẫn đường bằng ARN có thể được nhắm đích đến trình tự ngược dòng hoặc xuôi dòng, như trình tự khởi đầu và/hoặc tăng cường, hoặc trình tự intron, 5'UTR, và/hoặc 3'UTR của gen GA20 oxidaza_4 để đột biến một hoặc nhiều

trình tự khởi đầu và/hoặc điều hòa của gen và ảnh hưởng hoặc làm giảm mức biểu hiện của nó. Để phá vỡ gen GA20 oxidaza_3 ở ngô, ARN dẫn đường có thể được sử dụng gồm trình tự dẫn đường mà tương đồng hoặc bổ sung ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 99% hoặc 100% với ít nhất 10, ít nhất 11, ít nhất 12, ít nhất 13, ít nhất 14, ít nhất 15, ít nhất 16, ít nhất 17, ít nhất 18, ít nhất 19, ít nhất 20, ít nhất 21, ít nhất 22, ít nhất 23, ít nhất 24, ít nhất 25, hoặc nhiều nucleotit liền kề trong khoảng trình tự nucleotit 1-1416 của SEQ ID NO: 38, khoảng trình tự nucleotit 1417-1543 của SEQ ID NO: 38, khoảng trình tự nucleotit 1996-2083 của SEQ ID NO: 38, khoảng trình tự nucleotit 2412-2516 của SEQ ID NO: 38, khoảng trình tự nucleotit 2853-3066 của SEQ ID NO: 38, hoặc khoảng trình tự nucleotit 3067-4465 của SEQ ID NO: 38, hoặc trình tự bổ sung của nó (ví dụ, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25 hoặc nhiều nucleotit liền kề trong khoảng trình tự nucleotit 1-1416, 1417-1543, 1-1543, 1996-2083, 2412-2516, 2853-3066, 3067-4465 hoặc 2853-4465 của SEQ ID NO: 38, hoặc trình tự bổ sung của nó).

Ngoài trình tự dẫn đường, ARN dẫn đường còn có thể bao gồm một hoặc nhiều (các) trình tự cấu trúc hoặc bộ khung khác, mà có thể liên kết hoặc tương tác với endonucleaza được dẫn đường bằng ARN. Các trình tự cấu trúc hoặc bộ khung như vậy còn có thể tương tác với các phân tử ARN khác (ví dụ, tracrARN). Các phương pháp và kỹ thuật để thiết kế các cấu trúc nhắm đích và ARN dẫn đường để chỉnh sửa hệ gen và tích hợp hướng vị trí tại vị trí đích trong hệ gen của cây bằng cách sử dụng endonucleaza được dẫn đường bằng ARN đã biết trong lĩnh vực này.

Theo một vài phương án, cấu trúc và vectơ ADN tái tổ hợp được đề xuất gồm trình tự polynucleotit mã hóa nucleaza đặc hiệu vị trí, như nucleaza ngón tay kẽm (ZFN), meganucleaza, endonucleaza được dẫn đường bằng ARN, TALE-endonucleaza (TALEN), recombinaza, hoặc transposaza, trong đó trình tự mã hóa được liên kết theo kiểu hoạt động được với đoạn khởi đầu biểu hiện được ở thực vật. Đối với endonucleaza được dẫn đường bằng ARN, cấu trúc và vectơ ADN tái tổ hợp còn được đề xuất gồm trình tự polynucleotit mã hóa ARN dẫn đường, trong đó ARN dẫn đường gồm trình tự dẫn đường có chiều dài đủ có tỷ lệ phần trăm tương đồng hoặc bổ trợ cho vị trí đích trong hệ gen của cây, như ở hoặc gần gen GA oxidaza đích. Theo một vài phương án, trình tự polynucleotit của cấu trúc và vectơ ADN tái tổ hợp mã hóa nucleaza đặc hiệu vị trí hoặc ARN dẫn đường có thể

được liên kết theo kiểu hoạt động được với đoạn khởi đầu biểu hiện được ở thực vật, như đoạn khởi đầu cảm ứng, đoạn khởi đầu cơ định, đoạn khởi đầu đặc hiệu mô, v.v..

Theo một vài phương án, vectơ hoặc cấu trúc ADN tái tổ hợp có thể gồm trình tự polynucleotit thứ nhất mã hóa nucleaza đặc hiệu vị trí và trình tự polynucleotit thứ hai mã hóa ARN dẫn đường mà có thể được đưa vào tế bào cây cùng nhau thông qua kỹ thuật biến nạp cây. Theo cách khác, hai vectơ hoặc cấu trúc ADN tái tổ hợp có thể được đề xuất bao gồm vectơ hoặc cấu trúc ADN tái tổ hợp thứ nhất và vectơ hoặc cấu trúc ADN tái tổ hợp thứ hai có thể được đưa vào tế bào cây cùng nhau hoặc lần lượt thông qua kỹ thuật biến nạp cây, trong đó vectơ hoặc cấu trúc ADN tái tổ hợp thứ nhất gồm trình tự polynucleotit mã hóa nucleaza đặc hiệu vị trí và vectơ hoặc cấu trúc ADN tái tổ hợp thứ hai gồm trình tự polynucleotit mã hóa ARN dẫn đường. Theo một vài phương án, vectơ hoặc cấu trúc ADN tái tổ hợp gồm trình tự polynucleotit mã hóa nucleaza đặc hiệu vị trí có thể được đưa vào thông qua kỹ thuật biến nạp cây vào tế bào cây đã gồm (hoặc được biến nạp bằng) vectơ hoặc cấu trúc ADN tái tổ hợp gồm trình tự polynucleotit mã hóa ARN dẫn đường. Theo cách khác, vectơ hoặc cấu trúc ADN tái tổ hợp gồm trình tự polynucleotit mã hóa ARN dẫn đường có thể được đưa vào thông qua kỹ thuật biến nạp cây vào tế bào cây đã gồm (hoặc được biến nạp bằng) vectơ hoặc cấu trúc ADN tái tổ hợp gồm trình tự polynucleotit mã hóa nucleaza đặc hiệu vị trí. Theo các phương án khác nữa, cây thứ nhất gồm (hoặc được biến nạp bằng) vectơ hoặc cấu trúc ADN tái tổ hợp gồm trình tự polynucleotit mã hóa nucleaza đặc hiệu vị trí có thể được lai với cây thứ hai gồm (hoặc được biến nạp bằng) vectơ hoặc cấu trúc ADN tái tổ hợp gồm trình tự polynucleotit mã hóa ARN dẫn đường. Vectơ hoặc cấu trúc ADN tái tổ hợp này có thể được biến nạp tạm thời vào tế bào cây hoặc biến nạp ổn định hoặc tích hợp vào hệ gen của tế bào cây.

Theo một khía cạnh, vectơ gồm polynucleotit mã hóa nucleaza đặc hiệu vị trí, và tùy ý một hoặc nhiều, hai hoặc nhiều, ba hoặc nhiều, hoặc bốn hoặc nhiều gARN được đề xuất cho cây bằng các phương pháp biến nạp đã biết trong lĩnh vực này (ví dụ, mà không giới hạn, bắn phá hạt, chuyển nhiễm tế bào nguyên sinh qua trung gian PEG hoặc biến nạp qua trung gian *Agrobacterium*). Theo một khía cạnh, vectơ gồm polynucleotit mã hóa Cas9 nucleaza, và tùy ý một hoặc nhiều, hai hoặc nhiều, ba hoặc nhiều, hoặc bốn hoặc nhiều gARN được đề xuất cho cây bằng các phương pháp biến nạp đã biết trong lĩnh vực này (ví dụ, mà không giới hạn, bắn phá hạt, chuyển nhiễm tế bào nguyên sinh qua trung gian PEG

hoặc biến nạp qua trung gian *Agrobacterium*). Theo khía cạnh khác, vectơ gồm polynucleotit mã hóa Cpf1 và, tùy ý một hoặc nhiều, hai hoặc nhiều, ba hoặc nhiều, hoặc bốn hoặc nhiều crARN được đề xuất cho tế bào bằng các phương pháp biến nạp đã biết trong lĩnh vực này (ví dụ, mà không giới hạn, chuyển nhiễm virut, bắn phá hạt, chuyển nhiễm tế bào nguyên sinh qua trung gian PEG hoặc biến nạp qua trung gian *Agrobacterium*).

Một số nucleaza đặc hiệu vị trí, như recombinaza, nucleaza ngón tay kẽm (ZFN), meganucleaza và TALEN, không được dẫn đường bởi ARN và thay vào đó dựa vào cấu trúc protein của chúng để xác định vị trí đích của chúng để gây ra DSB hoặc đoạn đứt, hoặc chúng được dung hợp, buộc hoặc gắn với vùng hoặc môtip protein gắn kết ADN. Cấu trúc protein của nucleaza đặc hiệu vị trí (hoặc miền gắn kết ADN dung hợp/gắn/buộc) có thể nhắm đích nucleaza đặc hiệu vị trí với vị trí đích. Theo nhiều trong số các phương án này, nucleaza đặc hiệu vị trí không được dẫn được bằng ARN, như recombinaza, nucleaza ngón tay kẽm (ZFN), meganucleaza, và TALEN, có thể được thiết kế, thao tác di truyền và được tạo cấu trúc theo các phương pháp đã biết để nhắm đích và gắn kết với vị trí đích ở hoặc gần vị trí gen của gen GA oxidaza nội sinh của cây ngô hoặc ngũ cốc, như gen GA20 oxidaza_3 hoặc gen GA20 oxidaza_5 ở ngô, để tạo ra DSB hoặc đoạn đứt ở vị trí hệ gen này để bất hoạt hoặc phá vỡ sự biểu hiện của gen GA oxidaza thông qua sự sửa chữa DSB hoặc đoạn đứt. Ví dụ, nucleaza đặc hiệu vị trí được thao tác di truyền, như recombinaza, nucleaza ngón tay kẽm (ZFN), meganucleaza, hoặc TALEN, có thể được thiết kế để nhắm đích và gắn kết với (i) vị trí đích trong hệ gen của cây tương ứng với trình tự trong SEQ ID NO: 34, hoặc trình tự bổ sung của nó, để tạo ra DSB hoặc đoạn đứt ở vị trí hệ gen đối với gen GA20 oxidaza_3, (ii) vị trí đích trong hệ gen của cây tương ứng với trình tự trong SEQ ID NO: 35, hoặc trình tự bổ sung của nó, để tạo ra DSB hoặc đoạn đứt ở vị trí hệ gen đối với gen GA20 oxidaza_5, hoặc (iii) vị trí đích trong hệ gen của cây tương ứng với trình tự trong SEQ ID NO: 38, hoặc trình tự bổ sung của nó, để tạo ra DSB hoặc đoạn đứt ở vị trí hệ gen đối với gen GA20 oxidaza_4, mà sau đó có thể tạo ra đột biến hoặc sự gắn xen trình tự ở vị trí của DSB hoặc đoạn đứt, thông qua cơ chế sửa chữa tế bào, mà có thể được dẫn đường bằng khuôn mẫu hoặc phân tử cho.

Theo một khía cạnh, kỹ thuật chỉnh sửa hệ gen được nhắm đích được mô tả ở đây có thể gồm việc sử dụng recombinaza. Theo một vài phương án, tyrosin recombinaza được

gắn, v.v., với vùng hoặc môtip nhận biết ADN có thể được chọn từ nhóm gồm Cre recombinaza, Flp recombinaza và Tnp1 recombinaza. Theo một khía cạnh, Cre recombinaza hoặc *Gin* recombinaza được đề xuất ở đây có thể được buộc vào một miền gắn kết ADN ngón tay kẽm. Hệ thống tái tổ hợp định hướng vị trí Flp-*FRT* có thể đến từ 2µ plasmid từ nấm men *Saccharomyces cerevisiae* của người sản xuất bánh mì. Trong hệ thống này, Flp recombinaza (flippaza) có thể tái tổ hợp các trình tự giữa các vị trí đích nhận biết flippaza (*FRT*). Vị trí (*FRT*) gồm 34 nucleotit. Flp có thể liên kết với các "nhánh" của vị trí *FRT* (một nhánh ở hướng ngược lại) và phân cắt vị trí *FRT* ở hai đầu của trình tự axit nucleic can thiệp. Sau khi phân cắt, Flp có thể tái tổ hợp các trình tự axit nucleic giữa hai vị trí *FRT*. Cre-lox là một hệ thống tái tổ hợp hướng vị trí có nguồn gốc từ vật ăn vi khuẩn P1 mà tương tự như hệ thống tái tổ hợp Flp- *FRT*. Cre-lox có thể được sử dụng để đảo ngược trình tự axit nucleic, xóa trình tự axit nucleic, hoặc hoán vị trình tự axit nucleic. Trong hệ thống này, Cre recombinaza có thể tái tổ hợp một cặp trình tự axit nucleic lox. Các vị trí Lox bao gồm 34 nucleotit, với 13 nucleotit (nhánh) đầu tiên và cuối cùng là xuôi ngược. Trong quá trình tái tổ hợp, protein Cre recombinaza gắn kết với hai vị trí lox trên các axit nucleic khác nhau và phân cắt tại các vị trí lox. Các axit nucleic đã phân cắt được ghép lại với nhau (được hoán vị qua lại) và quá trình tái tổ hợp hoàn tất. Theo khía cạnh khác, vị trí lox được đề xuất ở đây là vị trí loxP, lox 2272, loxN, lox 511, lox 5171, lox71, lox66, M2, M3, M7 hoặc M11.

ZFN là các protein tổng hợp bao gồm miền gắn kết ADN ngón tay kẽm được thao tác di truyền được dung hợp với vùng phân cắt (hoặc nửa vùng phân cắt), mà có thể được lấy từ một endonucleaza hạn chế (ví dụ, *FokI*). Miền gắn kết ADN có thể là chính tắc (C2H2) hoặc không chính tắc (ví dụ, C3H hoặc C4). Miền gắn kết ADN có thể bao gồm một hoặc nhiều ngón tay kẽm (ví dụ, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 hoặc nhiều ngón tay kẽm) tùy thuộc vào vị trí đích. Nhiều ngón tay kẽm trong miền gắn kết ADN có thể được phân tách bằng (các) trình liên kết. ZFN có thể được thiết kế để phân cắt hầu hết đoạn ADN sợi kép bất kỳ bằng cách biến đổi miền gắn kết ADN ngón tay kẽm. Các ZFN tạo thành các dime từ các monome bao gồm vùng phân cắt ADN không đặc hiệu (ví dụ, có nguồn gốc từ *FokI* nucleaza) được dung hợp với miền gắn kết ADN gồm một mảng ngón tay kẽm được thao tác di truyền để gắn kết trình tự ADN của vị trí đích. Miền gắn kết ADN của ZFN thường có thể bao gồm 3-4 (hoặc nhiều hơn) ngón tay kẽm. Các axit amin ở các vị trí -1, +2, +3 và +6 so với điểm bắt đầu của ngón tay kẽm α-helix, góp phần gắn kết đặc hiệu vị trí với

vị trí đích, có thể được thay đổi và tùy chỉnh để phù hợp với trình tự đích cụ thể. Các axit amin khác có thể tạo thành xương sống đồng thuận để tạo ra ZFN với các đặc tính trình tự khác nhau. Các phương pháp và quy tắc để thiết kế ZFN để nhắm đích và gắn kết với các trình tự đích cụ thể là đã biết trong lĩnh vực này. Xem, ví dụ, patent Mỹ số 2005/0064474, 2009/0117617, và 2012/0142062, được đưa vào đây bằng cách viện dẫn. Vùng *FokI* nucleaza có thể yêu cầu thu nhỏ để phân cắt ADN và do đó, hai ZFN với các vùng đầu C của chúng là cần thiết để gắn kết các sợi ADN đối diện của vị trí phân cắt (cách nhau 5-7 bp). Các monome ZFN có thể cắt vị trí đích nếu các vị trí gắn hai ZF là xuôi ngược. ZFN, như được sử dụng ở đây, là rộng và bao gồm một ZFN monomer có thể phân cắt ADN sợi kép mà không cần sự trợ giúp từ một ZFN khác. Thuật ngữ ZFN cũng có thể được sử dụng ZFN để chỉ một hoặc cả hai thành viên của một cặp ZFN được thao tác di truyền để làm việc cùng nhau để phân cắt ADN tại cùng một vị trí.

Không bị giới hạn bởi bất kỳ lý thuyết khoa học nào, bởi vì các đặc tính gắn kết ADN của các vùng ngón tay kẽm có thể được thao tác di truyền lại bằng cách sử dụng một trong các phương pháp khác nhau, nên về mặt lý thuyết, các ZFN tùy biến có thể được cấu tạo để nhắm đích gần như bất kỳ trình tự đích nào (ví dụ, ở hoặc gần gen GA oxidaza trong hệ gen thực vật). Các phương pháp có sẵn công khai để thao tác di truyền các vùng ngón tay kẽm bao gồm lắp ráp phụ thuộc bối cảnh (Context-dependent Assembly-CoDA), thao tác di truyền tổ hợp oligome hóa (Oligomerized Pool Engineering-OPEN) và lắp ráp mô-đun. Theo một khía cạnh, phương pháp và/hoặc chế phẩm được đề xuất ở đây gồm một hoặc nhiều, hai hoặc nhiều, ba hoặc nhiều, bốn hoặc nhiều, hoặc năm hoặc nhiều ZFN. Theo khía cạnh khác, ZFN được đề xuất ở đây có khả năng tạo ra một DSB hoặc đoạn đứt đích. Theo một khía cạnh, vectơ gồm polynucleotit mã hóa một hoặc nhiều, hai hoặc nhiều, ba hoặc nhiều, bốn hoặc nhiều, hoặc năm hoặc nhiều ZFN được đề xuất cho tế bào bằng các phương pháp biến nạp đã biết trong lĩnh vực này (ví dụ, mà không giới hạn, chuyển nhiễm virut, bắn phá hạt, chuyển nhiễm tế bào nguyên sinh qua trung gian PEG, hoặc biến nạp qua trung gian *Agrobacterium*). Các ZFN có thể được đưa vào ở dạng các protein ZFN, ở dạng các polynucleotit mã hóa protein ZFN, và/hoặc ở dạng tổ hợp của các protein và polynucleotit mã hóa protein.

Meganucleaza, thường được xác định trong các vi khuẩn, như họ endonucleaza LAGLIDADG, là các enzym duy nhất có hoạt tính cao và trình tự nhận biết dài (> 14 bp)

dẫn đến tiêu hóa ADN đích đặc hiệu vị trí. Các phiên bản được thao tác di truyền của meganucleaza tồn tại tự nhiên thường có trình tự nhận biết ADN mở rộng (ví dụ, 14 đến 40 bp). Theo một vài phương án, meganucleaza có thể gồm bộ khung hoặc enzym cơ bản, được chọn từ nhóm gồm *I-CreI*, *I-CeuI*, *I-MsoI*, *I-SceI*, *I-AniI* và *I-DmoI*. Thao tác di truyền của meganucleaza có thể khó khăn hơn so với ZFN và TALEN vì chức năng nhận biết và phân cắt ADN của meganucleaza được đan xen trong một miền duy nhất. Các phương pháp chuyên biệt về đột biến và sàng lọc thông lượng cao đã được sử dụng để tạo ra các biến thể meganucleaza mới mà nhận ra các trình tự duy nhất và có hoạt tính nucleaza được cải thiện. Do đó, meganucleaza có thể được lựa chọn hoặc thao tác di truyền để gắn kết với trình tự đích của hệ gen ở cây, như ở hoặc gần vị trí gen của gen GA oxidaza. Theo một khía cạnh, phương pháp và/hoặc chế phẩm được đề xuất ở đây gồm một hoặc nhiều, hai hoặc nhiều, ba hoặc nhiều, bốn hoặc nhiều, hoặc năm hoặc nhiều meganucleaza. Theo khía cạnh khác, meganucleaza được đề xuất ở đây có khả năng tạo ra DSB đích. Theo một khía cạnh, vectơ gồm polynucleotit mã hóa một hoặc nhiều, hai hoặc nhiều, ba hoặc nhiều, bốn hoặc nhiều, hoặc năm hoặc nhiều meganucleaza được đề xuất đối với tế bào bằng các phương pháp biến nạp đã biết trong lĩnh vực này (ví dụ, mà không giới hạn, chuyển nhiễm virut, bắn phá hạt, chuyển nhiễm tế bào nguyên sinh qua trung gian PEG, hoặc biến nạp qua trung gian *Agrobacterium*).

TALEN là các enzym hạn chế nhân tạo được tạo ra bằng cách dung hợp miền gắn kết ADN giống như bộ kích hoạt phiên mã (TALE) với miền nucleaza (ví dụ, *FokI*). Khi mỗi thành viên của một cặp TALEN gắn kết với các vị trí ADN ở bên cạnh một vị trí đích, các monome *FokI* dime hóa và gây ra sự phá vỡ ADN sợi kép ở vị trí đích. Bên cạnh miền phân cắt *FokI* kiểu dại, các biến thể của miền phân cắt *FokI* với các đột biến đã được thiết kế để cải thiện tính đặc hiệu và hoạt tính phân cắt. Miền *FokI* hoạt động như một dime, yêu cầu hai cấu trúc với các miền gắn kết ADN duy nhất cho các vị trí trong hệ gen đích với định hướng và khoảng cách phù hợp. Cả số lượng các gốc axit amin giữa miền gắn kết ADN TALEN và miền phân cắt *FokI* và số lượng các bazơ giữa hai vị trí gắn kết TALEN riêng lẻ đều là các tham số để đạt được mức độ hoạt động cao.

TALEN là các enzym hạn chế nhân tạo được tạo ra bằng cách dung hợp miền gắn kết ADN giống như bộ kích hoạt phiên mã (TALE) với miền nucleaza. Theo một vài khía cạnh, các nucleaza được chọn từ một nhóm bao gồm *PvuII*, *MutH*, *TevI*, *FokI*, *AlwI*,

MlyI, SbfI, SdaI, StsI, CleDORF, Clo051, và *Pept071*. Khi mỗi thành viên của một cặp TALEN gắn kết với các vị trí ADN ở bên cạnh một vị trí đích, các monome *FokI* dime hóa và gây ra sự phá vỡ ADN sợi kép ở vị trí đích. Thuật ngữ TALEN, như được sử dụng ở đây, là rộng và bao gồm TALEN monome có thể phân cắt ADN sợi kép mà không cần sự trợ giúp từ TALEN khác. Thuật ngữ TALEN cũng được dùng để chỉ một hoặc cả hai thành viên của cặp TALEN mà hợp tác để phân cắt DNA tại cùng một vị trí.

Nhân tố giống bộ kích hoạt phiên mã (TALE) có thể được thao tác di truyền để gắn kết thực tế với bất kỳ trình tự ADN nào, như ở hoặc gần vị trí gen của gen GA oxidaza trong cây. TALE có miền gắn kết ADN trung tâm bao gồm 13-28 monome lặp lại của 33-34 axit amin. Các axit amin của mỗi monome được bảo tồn cao, ngoại trừ các gốc axit amin siêu biến ở vị trí 12 và 13. Hai axit amin biến đổi được gọi là hai gốc biến đổi lặp lại (repeat-variable diresidue-RVD). Các cặp axit amin NI, NG, HD và NN của RVD ưu tiên nhận ra lần lượt adenin, thymin, cytosin và guanin/adenin tương ứng và việc điều biến RVD có thể nhận ra các bazơ của ADN liên tiếp. Mối quan hệ đơn giản này giữa trình tự axit amin và sự nhận biết ADN đã cho phép thao tác di truyền các miền gắn kết ADN cụ thể bằng cách lựa chọn một tổ hợp các đoạn lặp lại có chứa RVD thích hợp.

Bên cạnh miền phân cắt *FokI* kiểu dại, các biến thể của miền phân cắt *FokI* với các đột biến đã được thiết kế để cải thiện tính đặc hiệu và hoạt tính phân cắt. Miền *FokI* hoạt động như một dime, yêu cầu hai cấu trúc với các miền gắn kết ADN duy nhất cho các vị trí trong hệ gen đích với định hướng và khoảng cách phù hợp. Cả số lượng các gốc axit amin giữa miền gắn kết ADN TALEN và miền phân cắt *FokI* và số lượng bazơ giữa hai vị trí gắn kết TALEN riêng lẻ đều là các tham số để đạt được mức độ hoạt động cao. Các miền phân cắt *PvuII, MutH,* và *TevI* là sự thay thế hữu ích cho các biến thể *FokI* và *FokI* để sử dụng với TALE. *PvuII* hoạt động như miền phân cắt đặc hiệu cao khi được ghép đôi với TALE (xem Yank *và đồng tác giả* 2013. *PLoS One*. 8: e82539). *MutH* có khả năng đưa đoạn đứt đặc hiệu sợi vào ADN (xem Gabsalilow *và đồng tác giả* 2013. *Nucleic Acids Research*. 41: e83). *TevI* đưa sự phá vỡ sợi kép vào ADN ở các vị trí đích (xem Beurdeley *và đồng tác giả*, 2013. *Nature Communications*. 4: 1762).

Mối quan hệ giữa trình tự axit amin và sự nhận biết ADN của miền gắn kết TALE cho phép các protein có thể thiết kế được. Các chương trình phần mềm như DNA Works có thể được sử dụng để thiết kế các cấu trúc TALE. Các phương pháp khác để thiết

kế các cấu trúc TALE là đã biết đối với các chuyên gia trong lĩnh vực này. Xem Doyle *và đồng tác giả, Nucleic Acids Research* (2012) 40: W117-122.; Cermak *và đồng tác giả, Nucleic Acids Research* (2011). 39:e82; và tale-nt.cac.cornell.edu/about. Theo một khía cạnh, phương pháp và/hoặc chế phẩm được đề xuất ở đây gồm một hoặc nhiều, hai hoặc nhiều, ba hoặc nhiều, bốn hoặc nhiều, hoặc năm hoặc nhiều TALEN. Theo khía cạnh khác, TALEN được đề xuất ở đây có khả năng tạo DSB đích. Theo một khía cạnh, vectơ gồm polynucleotit mã hóa một hoặc nhiều, hai hoặc nhiều, ba hoặc nhiều, bốn hoặc nhiều hoặc năm hoặc nhiều TALEN được đề xuất cho tế bào bằng các phương pháp biến nạp đã biết trong lĩnh vực này (ví dụ, mà không giới hạn, chuyển nhiễm virut, bắn phá hạt, chuyển nhiễm tế bào nguyên sinh qua trung gian PEG hoặc biến nạp qua trung gian *Agrobacterium*). Xem, ví dụ, patent Mỹ số 2011/0145940, 2011/0301073, và 2013/0117869, được đưa vào đây bằng cách viện dẫn.

Như được sử dụng ở đây, "kỹ thuật chỉnh sửa hệ gen đích" dùng để chỉ phương pháp, quy trình, hoặc kỹ thuật bất kỳ cho phép chỉnh sửa chính xác và/hoặc nhắm đích vị trí cụ thể trong hệ gen của cây (tức là, sự chỉnh sửa là lớn hoặc hoàn toàn không ngẫu nhiên) bằng cách sử dụng nucleaza đặc hiệu vị trí, như meganucleaza, nucleaza ngón tay kẽm (ZFN), endonucleaza được dẫn đường bằng ARN (ví dụ, hệ CRISPR/Cas9), TALE-endonucleaza (TALEN), recombinaza, hoặc transposaza. Như được sử dụng ở đây, "chỉnh sửa" hoặc "chỉnh sửa hệ gen" dùng để chỉ sự tạo ra một đột biến nhắm đích, xóa bỏ, đảo ngược hoặc thay thế ít nhất 1, ít nhất 2, ít nhất 3, ít nhất 4, ít nhất 5, ít nhất 6, ít nhất 7, ít nhất 8, ít nhất 9, ít nhất 10, ít nhất 15, ít nhất 20, ít nhất 25, ít nhất 30, ít nhất 35, ít nhất 40, ít nhất 45, ít nhất 50, ít nhất 75, ít nhất 100, ít nhất 250, ít nhất 500, ít nhất 1000, ít nhất 2500, ít nhất 5000, ít nhất 10.000, hoặc ít nhất 25.000 nucleotit trong trình tự axit nucleic của hệ gen nội sinh của cây. Như được sử dụng ở đây, "chỉnh sửa" hoặc "chỉnh sửa hệ gen" còn gồm sự gắn xen nhắm đích hoặc tích hợp hướng vị trí ít nhất 1, ít nhất 2, ít nhất 3, ít nhất 4, ít nhất 5, ít nhất 6, ít nhất 7, ít nhất 8, ít nhất 9, ít nhất 10, ít nhất 15, ít nhất 20, ít nhất 25, ít nhất 30, ít nhất 35, ít nhất 40, ít nhất 45, ít nhất 50, ít nhất 75, ít nhất 100, ít nhất 250, ít nhất 500, ít nhất 750, ít nhất 1000, ít nhất 1500, ít nhất 2000, ít nhất 2500, ít nhất 3000, ít nhất 4000, ít nhất 5000, ít nhất 10.000, hoặc ít nhất 25.000 nucleotit vào hệ gen nội sinh của cây. "Chỉnh sửa" hoặc "chỉnh sửa hệ gen" ở dạng số ít dùng để chỉ một đột biến nhắm đích, xóa bỏ, đảo ngược, thay thế hoặc gắn xen, trong khi "các chỉnh sửa" hoặc "các chỉnh sửa hệ gen" dùng để chỉ hai hoặc nhiều (các) đột biến nhắm đích, (các) xóa bỏ,

(các) đảo ngược, (các) thay thế và/hoặc (các) gắn xen, với mỗi "chỉnh sửa" được đưa vào bằng kỹ thuật chỉnh sửa hệ gen nhắm đích.

Cho rằng sự ức chế các gen GA20 oxidaza_3, GA20 oxidaza_4, và/hoặc GA20 oxidaza_5 ở ngô tạo ra cây có chiều cao cây và chiều dài gióng thấp hơn ngoài các đặc điểm có lợi khác, đề xuất rằng sự biểu hiện một hoặc nhiều gen này có thể được giảm hoặc loại bỏ thông qua chỉnh sửa hệ gen một hoặc nhiều (các) gen này để tạo ra các đặc điểm có lợi tương tự cho cây ngô. Nói thêm rằng sự biểu hiện cơ định của các cấu trúc ức chế nhắm vào các gen GA20 oxidaza này tạo ra cây ngô có đặc điểm chiều cao thấp có lợi mà không có sự khác dạng ở bắp, và sự biểu hiện trực tiếp trong các mô bắp sinh sản cũng không làm phát sinh sự khác dạng sinh sản, nên đề xuất rằng một hoặc nhiều vị trí gen này có thể được chỉnh sửa để phá vỡ hoặc bất hoạt sự biểu hiện của chúng để tạo ra tác dụng tương tự ở cây ngô. Các phương pháp chỉnh sửa gen nhắm đích có thể được sử dụng để biến đổi trình tự của bộ khởi đầu và/hoặc (các) vùng điều hòa của một hoặc nhiều gen GA20 oxidaza_3, GA20 oxidaza_4, và/hoặc GA20 oxidaza_5 để phá vỡ hoặc bất hoạt sự biểu hiện của (các) gen này, như thông qua việc xóa bỏ, gắn xen, đột biến nhắm đích, hoặc các thay đổi trình tự khác. Thật vậy, đoạn khởi đầu và/hoặc (các) vùng điều hòa hoặc (các) trình tự, hoặc (các) trình tự 5'-UTR, 3'UTR, và/hoặc intron, của một hoặc nhiều gen GA20 oxidaza_3, GA20 oxidaza_4, và/hoặc GA20 oxidaza_5 có thể được xóa bỏ hoặc gây đột biến phần lớn. Theo cách khác, tất cả hoặc một phần của (các) trình tự 5-UTR, 3'UTR, và/hoặc intron mã hóa (exon) của một hoặc nhiều gen GA20 oxidaza_3, GA20 oxidaza_4, và/hoặc GA20 oxidaza_5 có thể được chỉnh sửa, xóa bỏ, đột biến, hoặc biến đổi theo cách khác để phá vỡ hoặc bất hoạt sự biểu hiện hoặc hoạt tính của (các) gen này. Sự biến đổi nhắm đích như vậy đối với vị trí gen GA20 oxidaza_3, GA20 oxidaza_4, và/hoặc GA20 oxidaza_5 có thể đạt được bằng cách sử dụng kỹ thuật chỉnh sửa hệ gen thích hợp bất kỳ đã biết trong lĩnh vực này, như thông qua việc sửa chữa đứt gãy sợi kép (DSB) hoặc đoạn đứt được đưa vào bởi nucleaza đặc hiệu vị trí, chẳng hạn như, nucleaza ngón tay kẽm, meganucleaza tự nhiên hoặc được thao tác di truyền, TALE-endonucleaza, hoặc endonucleaza được dẫn đường bằng ARN (ví dụ, Cas9 hoặc Cpf1). Việc sửa chữa DSB hoặc đoạn đứt này có thể đưa các thao tác xóa bỏ, bổ sung, đột biến tự nhiên hoặc ngẫu nhiên, v.v., vào vị trí đích nơi DSB hoặc đoạn đứt được đưa vào, hoặc sửa chữa vị trí có thể liên quan đến việc sử dụng phân tử khuôn mẫu cho để hướng đến hoặc gây ra sự xóa bỏ, bổ sung, đột biến ưu tiên hoặc đặc hiệu, v.v., vào vị trí đích.

Như được đề xuất ở đây, cây được biến nạp bằng phân tử ADN tái tổ hợp hoặc vectơ biến nạp gồm gen chuyển mã hóa trình tự ADN có thể phiên mã mã hóa phân tử ARN không mã hóa nhắm đích gen GA oxidaza nội sinh để ức chế có thể bao gồm nhiều loại cây một lá mầm hoặc ngũ cốc, như bắp/ngô và các cây một lá mầm hoặc ngũ cốc khác mà có hoa đực và hoa cái riêng biệt (tương tự như ngô) và do đó có thể dễ bị khác dạng ở các cơ quan sinh sản cái, cấu trúc hoặc mô có đột biến đối với con đường GA.

Các chế phẩm và phương pháp này có thể được áp dụng thêm cho các cây ngũ cốc khác mà sẽ có lợi từ việc giảm chiều cao cây và/hoặc tăng khả năng chống đổ. Các cây như vậy có thể được biến nạp bằng các phân tử hoặc cấu trúc ADN tái tổ hợp để ức chế một hoặc nhiều gen GA20 và/hoặc GA3 oxidaza nội sinh trong cây theo các phương pháp và cách tiếp cận được đề xuất ở đây để tạo ra cây ngũ cốc có thể thấp hơn và/hoặc có khả năng chống đổ. Thật vậy, cây ngũ cốc biểu hiện lạc vị trí trình tự ADN có thể phiên mã mã hóa phân tử ARN không mã hóa nhắm đích gen GA oxidaza nội sinh để ức chế có thể có nhiều đặc điểm có lợi, như tầm vóc hoặc chiều cao cây thấp hơn, chiều dài gióng ngắn hơn, đường kính thân/cuống tăng, khả năng chống đổ được cải thiện, ngoài các đặc điểm chịu hạn hán và/hoặc liên quan đến năng suất khác được cải thiện như được đề xuất ở đây, so với cây đối chứng hoặc kiểu dại không có gen chuyển hoặc trình tự ADN có thể phiên mã. Như được mô tả thêm dưới đây, các cây trồng ngũ cốc đã được biến đổi để tăng năng suất và có khả năng chống đổ thông qua các đột biến trong con đường GA, như lúa mì, lúa, kê, lúa mạch và lúa miến, thay vào đó có thể được biến nạp bằng cấu trúc hoặc phân tử ADN tái tổ hợp như được đề xuất ở đây. Không giống như nhiều đột biến con đường GA trong các cây trồng này mà có thể bị thoái hóa, các cấu trúc chuyển gen biểu hiện yếu tố ức chế nhắm vào gen GA oxidaza sinh tổng hợp nội sinh trong các cây trồng đó có thể chiếm ưu thế ngay cả khi là bán hợp tử hoặc xuất hiện trong cây ở dạng bản sao đơn.Do đó, cây có thể được biến nạp bằng cấu trúc hoặc phân tử ADN tái tổ hợp biểu hiện cấu trúc ức chế có thể có khả năng bao gồm nhiều loại cây trồng một lá mầm hoặc ngũ cốc. Có một vị trí chuyển gen trội gây ra kiểu hình bán lùn, chống đổ có thể là lợi thế và được ưu tiên trên alen đột biến lặn cho cùng một kiểu hình do lợi ích trong việc nhân giống và tích hợp đặc điểm.

Theo các phương án của sáng chế, còn đề xuất rằng các gen GA oxidaza ở các cây ngũ cốc khác có sự tương đồng/tương tự trình tự lớn nhất với các gen GA20 oxidaza_3,

GA20 oxidaza_4, GA20 oxidaza_5, GA3 oxidaza_1, và/hoặc GA3 oxidaza_2 ở ngô mà được thể hiện ở đây để tạo ra kiểu hình chiều cao thấp, bán lùn và các đặc điểm có lợi khác khi được ức chế bằng cấu trúc ức chế ADN tái tổ hợp, còn có thể là đích để ức chế để tạo ra cây ngũ cốc chuyển gen có kiểu hình bán lùn và/hoặc chống đổ tương tự. Bảng 3 cung cấp danh sách các gen GA oxidaza từ các cây ngũ cốc khác (lúa miến – *Sorghum bicolor*; lúa – *Oryza sativa*; kê đuôi cáo – *Setaria italica*; lúa mì – *Triticum aestivum*; và lúa mạch – *Hordeum vulgare*) có mức độ tương đồng trình tự cao với một trong các gen GA oxidaza ở ngô mà khi được ức chế sẽ tạo ra kiểu hình chiều cao thấp, bán lùn.

Bảng 3. Dạng tương đồng của gen GA oxidaza ở ngô từ các cây ngũ cốc khác.

Tên gen	Loại ngũ cốc	Dạng tương đồng ở ngô	ADN bổ trợ (SEQ ID NO)	CDS (SEQ ID NO)	Protein (SEQ ID NO)	Hệ gen (SEQ ID NO)
GA20 oxidaza 2	*Sorghum bicolor*	GA20 Ox_3 / GA20 Ox_5	84	85	86	87
giống GA20 oxidaza 2	*Setaria italica*	GA20 Ox_3 / GA20 Ox_5	88	89	90	91
GA20 oxidaza 2	*Oryza sativa*	GA20 Ox_3 / GA20 Ox_5	92	93	94	95
GA20 oxidaza-D2	*Triticum aestivum*	GA20 Ox_3 / GA20 Ox_5	---	96	97	98
Fe2OG dioxygenaza	*Hordeum vulgare*	GA20 Ox_3 / GA20 Ox_5	99	100	101	---
2-ODD có thể	*Sorghum bicolor*	GA20 Ox_4	102	103	104	105
giống flavanon 3-hydroxylaza/ flavonol synthaza	*Setaria italica*	GA20 Ox_4	106	107	108	109

naringenin, 2-oxoglutarat 3-dioxygenaza	*Oryza sativa*	GA20 Ox_4	110	111	112	113
Fe2OG dioxygenaza	*Triticum aestivum*	GA20 Ox_4	114	115	116	117
Fe2OG dioxygenaza	*Hordeum vulgare*	GA20 Ox_4	---	---	118	---
GA3-beta-dioxygenaza 2-2	*Sorghum bicolor*	GA3 Ox_1 / GA3 Ox_2	119	120	121	122
Giống GA3-beta-dioxygenaza 2-2	*Setaria italica*	GA3 Ox_1 / GA3 Ox_2	123	124	125	126
GA3-beta-dioxygenaza 2-3	*Oryza sativa*	GA3 Ox_1 / GA3 Ox_2	127	128	129	130
GA3-beta-hydroxylaza	*Hordeum vulgare*	GA3 Ox_1 / GA3 Ox_2	131	132	133	---
protein GA3ox-D2	*Triticum aestivum*	GA3 Ox_1 / GA3 Ox_2	134	135	136	137

Theo khía cạnh khác của sáng chế, phân tử ADN tái tổ hợp, vectơ hoặc cấu trúc được đề xuất để ức chế gen GA oxidaza nội sinh (hoặc giống GA oxidaza) ở cây ngũ cốc, phân tử ADN tái tổ hợp, vectơ hoặc cấu trúc gồm trình tự ADN có thể phiên mã mã hóa phân tử ARN không mã hóa, trong đó phân tử ARN không mã hóa gồm trình tự mà (i) bổ sung ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% cho ít nhất 15, ít nhất 16, ít nhất 17, ít nhất 18, ít nhất 19, ít nhất 20, ít nhất 21, ít nhất 22, ít nhất 23, ít nhất 24, ít nhất 25, ít nhất 26, hoặc ít nhất 27 nucleotit liên tiếp của bất kỳ một hoặc nhiều SEQ ID NO: 84, 85, 87, 88, 89, 91, 92, 93, 95, 96, 98, 99, 100, 102, 103, 105, 106, 107, 109, 110, 111, 113, 114, 115, 119, 120, 122, 123, 124, 126, 127, 128, 130, 131, 132, 134, 135, và/hoặc 137, và/hoặc (ii) bổ sung ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% cho ít nhất 15, ít nhất 16, ít nhất 17, ít nhất 18, ít nhất 19, ít nhất 20, ít nhất 21, ít nhất 22, ít nhất 23, ít nhất 24, ít nhất 25, ít nhất 26, hoặc ít nhất 27 nucleotit liên tiếp của phân tử mARN mã hóa protein ở cây ngũ cốc mà tương đồng ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít

nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% với bất kỳ một hoặc nhiều SEQ ID NO: 86, 90, 94, 97, 101, 104, 108, 112, 116, 118, 121, 125, 129, 133, và/hoặc 136. Tương tự, phân tử ARN không mã hóa có thể nhắm đích gen GA oxidaza nội sinh (hoặc giống GA oxidaza) ở cây ngũ cốc có tỷ lệ phần trăm tương đồng với (các) gen GA oxidaza có ảnh hưởng đến chiều cao cây ở ngô. Do đó, phân tử ARN không mã hóa được đề xuất thêm nữa gồm trình tự mà bổ sung ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% cho ít nhất 15, ít nhất 16, ít nhất 17, ít nhất 18, ít nhất 19, ít nhất 20, ít nhất 21, ít nhất 22, ít nhất 23, ít nhất 24, ít nhất 25, ít nhất 26, hoặc ít nhất 27 nucleotit liên tiếp của phân tử mARN mã hóa protein nội sinh ở cây ngũ cốc mà tương đồng ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% với bất kỳ một hoặc nhiều SEQ ID NO: 9, 12, 15, 30, và/hoặc 33. Như nêu trên, phân tử ARN không mã hóa có thể nhắm đích exon, intron và/hoặc trình tự UTR của gen GA oxidaza (hoặc giống GA oxidaza).

Được đề xuất nữa là phương pháp đưa vào hoặc biến nạp cây ngũ cốc, bộ phận cây, hoặc tế bào cây bất kỳ trong số các cấu trúc, vectơ, hoặc cấu trúc nêu trên, theo phương pháp bất kỳ trong số các phương pháp được mô tả ở đây, mà có thể được tạo cấu trúc theo cách thích hợp bất kỳ được mô tả ở đây bao gồm xếp chồng hoặc ghép nối khác nhau đối với sự sắp xếp nhắm đích, cũng như các cây ngũ cốc biến đổi, bộ phận cây, mô cây, và tế bào cây được tạo ra từ đó và/hoặc gồm phân tử, vectơ hoặc cấu trúc ADN tái tổ hợp bất kỳ này. Khi phân tử ARN không mã hóa được biểu hiện từ các cấu trúc nêu trên có thể được thiết kế để nhắm đích gen GA oxidaza nội sinh, cây ngũ cốc được biến nạp bằng các phân tử, vectơ hoặc cấu trúc ADN tái tổ hợp này, tốt hơn là tương ứng với các loại nguyên bản của trình tự đích, hoặc các loại, chủng, mầm nguyên sinh, dòng, v.v. có họ hàng gần. Ví dụ, cấu trúc ức chế bổ trợ cho SEQ ID NO: 84 nên được sử dụng để biến nạp cây lúa miến, như cây *Sorghum bicolor*, hoặc các loại, chủng, v.v. của lúa miến có thể có họ hàng, mà có thể được mong đợi là có trình tự gen GA oxidaza (hoặc giống GA oxidaza) tương tự hoặc có họ hàng gần.

Trình tự hệ gen cho mỗi gen được nhận dạng ở trên từ cây ngũ cốc được đề xuất thêm nữa trong bảng 3, mà có thể được sử dụng để nhắm đích các gen đó để chỉnh sửa hệ gen theo kỹ thuật đã biết bất kỳ. Nucleaza đặc hiệu vị trí bất kỳ và phương pháp có thể

được sử dụng như được mô tả ở đây để tạo thành DSB hoặc đứt gãy ở hoặc gần vị trí gen của gen này, mà có thể được sửa chữa một cách không hoàn hảo hoặc thông qua sự tái tổ hợp qua trung gian khuôn mẫu để tạo thành đột biến, v.v., ở, gần hoặc trong gen. Các nucleaza thích hợp có thể được chọn từ nhóm gồm nucleaza ngón tay kẽm (ZFN), meganucleaza, endonucleaza được dẫn đường bằng ARN, TALE-endonucleaza (TALEN), recombinaza, trancsposaza, hoặc hỗn hợp bất kỳ của chúng. Đối với endonucleaza được dẫn đường bằng ARN, vectơ hoặc cấu trúc ADN tái tổ hợp được đề xuất gồm ARN dẫn đường có thể được sử dụng để hướng nucleaza đến vị trí đích. Do đó, ARN dẫn đường để chỉnh sửa gen GA oxidaza (hoặc giống GA-oxidaza) ở cây ngũ cốc có thể gồm trình tự dẫn đường mà tương đồng hoặc bổ sung ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 99% hoặc 100% với ít nhất 10, ít nhất 11, ít nhất 12, ít nhất 13, ít nhất 14, ít nhất 15, ít nhất 16, ít nhất 17, ít nhất 18, ít nhất 19, ít nhất 20, ít nhất 21, ít nhất 22, ít nhất 23, ít nhất 24, ít nhất 25, hoặc nhiều nucleotit liên tiếp của bất kỳ một hoặc nhiều SEQ ID NO: 84, 85, 87, 88, 89, 91, 92, 93, 95, 96, 98, 99, 100, 102, 103, 105, 106, 107, 109, 110, 111, 113, 114, 115, 119, 120, 122, 123, 124, 126, 127, 128, 130, 131, 132, 134, 135, và/hoặc 137. Đối với các nucleaza đặc hiệu vị trí mà không được dẫn đường bởi ARN, như nucleaza ngón tay kẽm (ZFN), meganucleaza, TALE-endonucleaza (TALEN), recombinaza, và/hoặc transposaza, tính đặc hiệu đích hệ gen để chỉnh sửa được xác định bởi cấu trúc protein của nó, đặc biệt là vùng gắn kết ADN của nó. Các nucleaza đặc hiệu vị trí này có thể được chọn, được thiết kế hoặc được thao tác di truyền để gắn kết và cắt vị trí đích mong muốn ở hoặc gần gen bất kỳ trong số các gen GA oxidaza (hoặc giống GA oxidaza) nêu trên trong hệ gen của cây ngũ cốc. Tương tự với sự biến nạp bằng cấu trúc ức chế, cây ngũ cốc được biến nạp bằng ARN dẫn đường cụ thể, hoặc một phân tử ADN tái tổ hợp, vectơ hoặc cấu trúc mã hóa ARN dẫn đường, tốt hơn là loại mà trong đó trình tự hệ gen nhắm đích tồn tại, hoặc loại, chủng, hoặc loại, chủng, mầm nguyên sinh, dòng, v.v. có họ hàng gần, sao cho ARN dẫn đường có thể nhận ra và gắn kết với vị trí cắt đích mong muốn.

Được đề xuất nữa là phương pháp đưa vào hoặc biến nạp cây ngũ cốc, bộ phận cây, hoặc tế bào cây bằng ARN dẫn đường bất kỳ nêu trên, hoặc cấu trúc, vectơ bất kỳ, hoặc cấu trúc mã hóa ARN dẫn đường này, có thể là ngoài nucleaza được dẫn đường bằng ARN, theo phương pháp bất kỳ được mô tả ở đây, cũng như cây ngũ cốc biến đổi, bộ phận cây, mô cây, và tế bào cây được tạo ra từ đó và/hoặc gồm phân tử, vectơ hoặc cấu trúc

ADN tái tổ hợp này và/hoặc gen GA oxidaza (hoặc giống GA oxidaza) đã chỉnh sửa. Cây ngũ cốc biến đổi có gen GA oxidaza (hoặc giống GA oxidaza) đã chỉnh sửa, và/hoặc yếu tố ức chế nhắm đích gen GA oxidaza (hoặc giống GA oxidaza), có thể có một hoặc nhiều đặc điểm có lợi được nêu ở đây, như chiều cao cây thấp hơn, chiều dài gióng ngắn hơn, đường kính thân/cuống tăng, khả năng chống đổ, và/hoặc chịu hạn hán được cải thiện, so với cây đối chứng hoặc kiểu dại không có sự chỉnh sửa hoặc yếu tố ức chế. Ngoài sự chỉnh sửa hệ gen, các đột biến ở gen GA oxidaza (hoặc giống GA oxidaza) có thể được đưa vào bằng các kỹ thuật gây đột biến khác như được mô tả ở đây

Theo khía cạnh khác của sáng chế, (các) cây chuyển gen, (các) tế bào cây, (các) hạt giống, và (các) bộ phận cây được đề xuất gồm sự kiện biến nạp hoặc đoạn xen vào hệ gen của ít nhất một tế bào cây của chúng, trong đó sự kiện biến nạp hoặc đoạn xen gồm trình tự ADN tái tổ hợp, cấu trúc hoặc catxet biểu hiện gồm trình tự ADN có thể phiên mã mã hóa phân tử ARN không mã hóa mà nhắm đích gen GA oxidaza nội sinh để ức chế, trong đó trình tự ADN có thể phiên mã được liên kết hoạt động với đoạn khởi đầu biểu hiện được ở thực vật, như đoạn khởi đầu cơ định, mạch và/hoặc lá. Cây chuyển gen như vậy có thể được tạo ra bằng phương pháp biến nạp thích hợp bất kỳ như nêu trên, để tạo thành cây chuyển gen R_0, mà sau đó có thể được tự lai hoặc được lai với các cây khác để tạo thành hạt giống R_1 và các thế hệ con cháu và hạt giống sau đó thông qua sự lai chéo khác, v.v.. Các phương án của sáng chế còn bao gồm tế bào cây, mô, mảnh cấy, bộ phận cây, v.v., gồm một hoặc nhiều tế bào chuyển gen có sự kiện biến nạp hoặc đoạn xen trong hệ gen của trình tự polynucleotit hoặc ADN tái tổ hợp gồm trình tự ADN có thể phiên mã mã hóa phân tử ARN không mã hóa mà nhắm đích gen GA oxidaza nội sinh để ức chế.

Cây chuyển gen, tế bào cây, hạt giống, và bộ phận cây theo sáng chế có thể là đồng hợp tử hoặc bán hợp tử đối với sự kiện chuyển gen hoặc gắn xen của trình tự ADN có thể phiên mã để ức chế gen GA oxidaza thành hệ gen chứa ít nhất một tế bào cây của chúng, hoặc sự kiện chỉnh sửa hệ gen đích, và cây, tế bào cây, hạt giống, và bộ phận cây theo các phương án này có thể chứa số lượng bản sao bất kỳ của (các) sự kiện chuyển gen, (các) đoạn gắn xen và/hoặc (các) đoạn chỉnh sửa. Liều hoặc lượng biểu hiện của trình tự ADN có thể phiên mã hoặc gen chuyển có thể được thay đổi bởi sự tiếp hợp và/hoặc số lượng bản sao, mà có thể ảnh hưởng đến mức độ hoặc phạm vi thay đổi kiểu hình ở cây chuyển gen, v.v.. Như được nêu trên, cây chuyển gen được đề xuất ở đây có thể bao gồm

nhiều loại cây một lá mầm hoặc ngũ cốc, và cả các cây trồng, như lúa mì, lúa và lúa miến, từng có sản lượng tăng và/hoặc khả năng chống đổ do nỗ lực gây giống trước đó và đột biến của con đường GA ở các cây này. Các ưu điểm của việc sử dụng trình tự ADN có thể phiên mã hoặc gen chuyển để biểu hiện yếu tố ức chế nhắm đích gen GA oxidaza sinh tổng hợp bao gồm không chỉ là khả năng hạn chế biểu hiện theo cách đặc hiệu mô hoặc ưu tiên mô, mà còn cả khả năng trội tiềm năng (ví dụ: tác động tiêu cực trội) của một bản sao đơn hoặc hoặc bán hợp tử của trình tự ADN có thể phiên mã để gây ra các đặc điểm có tầm vóc thấp, nửa lùn hoặc kiểu hình có lợi ở cây trồng. Do đó, các phân tử hoặc cấu trúc ADN tái tổ hợp theo sáng chế có thể được sử dụng để tạo ra các đặc điểm có lợi trong nhiều loại cây trồng một lá mầm hoặc ngũ cốc mà không có các dạng khác chỉ sử dụng một bản sao của sự kiện, đoạn gắn xen hoặc cấu trúc chuyển gen. Không giống như các đột biến hoặc alen được mô tả trước đây trong con đường GA bị thoái hóa và đòi hỏi các cây phải là đồng hợp tử với alen đột biến, các cây được biến nạp với các gen chuyển biến đổi GA và cấu trúc ức chế theo sáng chế có thể cải thiện các đặc điểm, năng suất và nỗ lực nhân giống cây trồng bằng cách tạo điều kiện cho việc sản xuất các loại cây ngũ cốc lai vì chúng chỉ cần một bản sao duy nhất hoặc bán hợp tử của cấu trúc chuyển gen hoặc ức chế.

Theo một vài phương án, một loại ngũ cốc hoặc cây ngô biến đổi hoặc chuyển gen bao gồm một gen chuyển GA oxidaza hoặc trình tự ADN có thể phiên mã để ức chế gen GA oxidaza nội sinh, hoặc gen GA oxidaza được chỉnh sửa hệ gen, có thể được đặc trưng thêm là có một hoặc nhiều đặc điểm có lợi, như tầm vóc thấp hơn hoặc chiều cao cây bán lùn, chiều dài gióng giảm, đường kính thân/cuống tăng, khả năng chống đổ được cải thiện, hiện tượng đứt gãy giảm, rễ sâu hơn, diện tích lá tăng, khép tán sớm hơn, hàm lượng nước ở lá tăng và/hoặc độ dẫn khí khổng cao hơn trong các điều kiện hạn chế nước, giảm hàm lượng anthoxyanin và/hoặc diện tích ở lá dưới điều kiện áp lực bình thường hoặc hạn chế nitơ hoặc nước, cải thiện các đặc điểm liên quan đến năng suất bao gồm cơ quan sinh sản cái hoặc bắp lớn hơn, tăng trọng lượng bắp, chỉ số thu hoạch, năng suất, số hạt hoặc nhân, và/hoặc trọng lượng hạt hoặc nhân, so với cây đối chứng hoặc kiểu dại. Cây ngũ cốc hoặc cây ngô biến đổi gen như vậy có thể còn có khả năng chịu áp lực tăng, như tăng khả năng chịu hạn, sử dụng nitơ, và/hoặc khả năng chịu đựng đối với việc trồng mật độ cao.

Đối với các mục đích của sáng chế, "thực vật" gồm mảnh cấy, bộ phận của cây, cây giống, cây con hoặc toàn bộ cây ở bất kỳ giai đoạn tái sinh hoặc phát triển nào. Như

được sử dụng ở đây, "cây chuyển gen" đề cập đến một cây có hệ gen đã bị thay đổi do sự tích hợp hoặc gắn xen một phân tử, cấu trúc hoặc trình tự ADN tái tổ hợp. Cây chuyển gen bao gồm một cây R_0 được phát triển hoặc tái sinh từ (các) tế bào thực vật được biến nạp ban đầu cũng như các cây chuyển gen con cháu ở các thế hệ sau hoặc lai từ cây chuyển gen R_0. Như được sử dụng ở đây, "bộ phận cây" có thể đề cập đến bất kỳ cơ quan hoặc mô nguyên vẹn của cây, chẳng hạn như mô phân sinh, cơ quan/cấu trúc chồi (ví dụ: lá, thân hoặc đốt), rễ, hoa hoặc cơ quan/cấu trúc hoa (ví dụ: lá bắc, đài hoa, cánh hoa, nhị hoa, lá noãn, bao phấn và noãn), hạt (ví dụ, phôi, nội nhũ và vỏ hạt), quả (ví dụ, bầu nhụy chín), chồi mầm, hoặc các mô thực vật khác (ví dụ, mô mạch, mô da, mô nền và các loại tương tự), hoặc bất kỳ phần nào của chúng. Bộ phận cây theo sáng chế có thể phát triển, không thể phát triển, có thể tái sinh và/hoặc không thể tái sinh. "Chồi mầm" có thể bao gồm bất kỳ bộ phận thực vật nào có thể phát triển thành toàn bộ cây.

Theo các phương án hiện tại, một tế bào thực vật được biến nạp bằng cấu trúc hoặc phân tử gồm trình tự ADN có thể phiên mã để ức chế gen GA oxidaza nội sinh, hoặc bằng cấu trúc được sử dụng để chỉnh sửa hệ gen, có thể bao gồm bất kỳ tế bào thực vật nào có khả năng biến nạp như được hiểu trong lĩnh vực này dựa trên phương pháp biến nạp, chẳng hạn như tế bào mô phân sinh, tế bào phôi, tế bào mô sẹo (callus), v.v.. Như được sử dụng ở đây, "tế bào cây chuyển gen" đơn giản đề cập đến bất kỳ tế bào cây nào được biến nạp bằng phân tử, cấu trúc hoặc trình tự ADN tái tổ hợp được tích hợp ổn định. Tế bào cây chuyển gen có thể bao gồm một tế bào cây được biến nạp ban đầu, một tế bào cây chuyển gen của cây R_0 được tái sinh hoặc phát triển, một tế bào cây chuyển gen được nuôi cấy từ một tế bào cây chuyển gen khác, hoặc một tế bào cây chuyển gen từ bất kỳ cây con hoặc cây con cháu nào của cây chuyển gen R_0, bao gồm (các) tế bào của hạt giống hoặc phôi thực vật, hoặc tế bào thực vật nuôi cấy, tế bào mô sẹo, v.v..

Các phương án của sáng chế còn bao gồm các phương pháp tạo ra hoặc sản xuất cây chuyển gen hoặc biến đổi, chẳng hạn như bằng cách biến nạp, chỉnh sửa hệ gen, lai, v.v., trong đó phương pháp này bao gồm việc đưa phân tử, cấu trúc hoặc trình tự ADN tái tổ hợp gồm gen chuyển GA oxidaza hoặc trình tự ADN có thể phiên mã để ức chế gen GA oxidaza nội sinh vào tế bào cây, hoặc chỉnh sửa vị trí gen của gen GA oxidaza nội sinh, và sau đó tái sinh hoặc phát triển cây chuyển gen hoặc biến đổi từ tế bào cây đã được biến nạp hoặc chỉnh sửa, mà có thể được thực hiện dưới áp lực lựa chọn ủng hộ sự kiện chuyển gen.

Các phương pháp này có thể bao gồm việc biến nạp tế bào cây bằng phân tử, cấu trúc hoặc trình tự ADN tái tổ hợp gồm trình tự ADN có thể phiên mã để ức chế gen GA oxidaza nội sinh và chọn một cây có một hoặc nhiều kiểu hình hoặc đặc điểm được thay đổi, như một hoặc nhiều đặc điểm sau đây ở một hoặc nhiều giai đoạn phát triển: tầm vóc thấp hơn hoặc bán lùn hoặc chiều cao cây, chiều dài gióng ngắn hơn ở một hoặc nhiều (các) gióng, đường kính thân/cuống tăng, khả năng chống đổ được cải thiện, hiện tượng đứt gãy giảm, rễ sâu hơn, diện tích lá tăng, khép tán sớm hơn, hàm lượng nước ở lá tăng và/hoặc độ dẫn khí khổng cao hơn trong các điều kiện hạn chế nước, hàm lượng anthoxyanin và/hoặc diện tích ở lá giảm dưới điều kiện áp lực bình thường hoặc hạn chế nitơ hoặc nước, đặc điểm liên quan đến năng suất được cải thiện bao gồm cơ quan sinh sản cái hoặc bắp lớn hơn, tăng trọng lượng bắp, chỉ số thu hoạch, năng suất, số hạt hoặc nhân, và/hoặc trọng lượng hạt hoặc nhân, khả năng chịu áp lực tăng, như tăng khả năng chịu hạn, sử dụng nitơ, và/hoặc khả năng chịu đựng đối với việc trồng mật độ cao, so với cây đối chứng hoặc kiểu dại.

Theo khía cạnh khác của sáng chế, các phương pháp được đề xuất để trồng (các) cây biến đổi hoặc chuyển gen được đề xuất ở đây với mật độ bình thường/tiêu chuẩn hoặc cao trên cánh đồng. Theo một vài phương án, năng suất của một cây trồng trên một mẫu Anh (hoặc trên một diện tích đất) có thể được tăng lên bằng cách trồng (các) cây biến đổi hoặc chuyển gen theo sáng chế với mật độ cao hơn trên cánh đồng. Như được mô tả ở đây, cây biến đổi hoặc chuyển gen biểu hiện trình tự ADN có thể phiên mã mã hóa một phân tử ARN không mã hóa nhắm đích gen GA oxidaza nội sinh để ức chế hoặc có gen GA oxidaza được chỉnh sửa hệ gen, có thể làm giảm chiều cao của cây, (các) gióng ngắn hơn, tăng đường kính thân/cuống và/hoặc tăng sức khả năng chống đổ. Đề xuất rằng cây biến đổi hoặc chuyển gen có thể chịu được các điều kiện trồng mật độ cao vì sự tăng đường kính thân có thể chống lại sự đổ và chiều cao cây thấp hơn có thể cho phép tăng sự xâm nhập ánh sáng đến các lá thấp hơn trong điều kiện trồng mật độ cao. Do đó, các cây biến đổi hoặc chuyển gen được đề xuất ở đây có thể được trồng với mật độ cao hơn để tăng năng suất trên mỗi mẫu Anh (hoặc diện tích đất) trên cánh đồng. Đối với cây trồng theo hàng, mật độ cao hơn có thể đạt được bằng cách trồng số lượng hạt/cây lớn hơn trên mỗi chiều dài hàng và/hoặc bằng cách giảm khoảng cách giữa các hàng.

Theo một vài phương án, cây biến đổi hoặc chuyển gen có thể được trồng với mật độ trên cánh đồng (số cây trên diện tích đất/cánh đồng) cao hơn ít nhất 5%, 10%, 15%,

20%, 25%, 50%, 75%, 100%, 125%, 150%, 175%, 200%, 225%, hoặc 250% so với mật độ trồng cây bình thường của cây đó theo thực hành nông học tiêu chuẩn. Cây biến đổi hoặc chuyển gen có thể được trồng với mật độ trên cánh đồng là ít nhất 38.000 cây trên một mẫu Anh, ít nhất 40.000 cây trên một mẫu Anh, ít nhất 42.000 cây trên một mẫu Anh, ít nhất 44.000 cây trên một mẫu Anh, ít nhất 45.000 cây trên một mẫu Anh, ít nhất 46.000 cây trên một mẫu Anh, ít nhất 48.000 cây trên một mẫu Anh, 50.000 cây trên một mẫu Anh, ít nhất 52.000 cây trên một mẫu Anh, ít nhất 54.000 trên một mẫu Anh, hoặc ít nhất 56.000 cây trên một mẫu Anh. Làm ví dụ, cây ngô có thể được trồng với mật độ cao hơn, như nằm trong khoảng từ 38.000 cây trên một mẫu Anh đến khoảng 60.000 cây trên một mẫu Anh, hoặc khoảng 40.000 cây trên một mẫu Anh đến khoảng 58.000 cây trên một mẫu Anh, hoặc khoảng 42.000 cây trên một mẫu Anh đến khoảng 58.000 cây trên một mẫu Anh, hoặc khoảng 40.000 cây trên một mẫu Anh đến khoảng 45.000 cây trên một mẫu Anh, hoặc khoảng 45.000 cây trên một mẫu Anh đến khoảng 50.000 cây trên một mẫu Anh, hoặc khoảng 50.000 cây trên một mẫu Anh đến khoảng 58.000 cây trên một mẫu Anh, hoặc khoảng 52.000 cây trên một mẫu Anh đến khoảng 56.000 cây trên một mẫu Anh, hoặc khoảng 38.000 cây trên một mẫu Anh, khoảng 42.000 cây trên một mẫu Anh, khoảng 46.000 cây trên một mẫu Anh, hoặc khoảng 48.000 cây trên một mẫu Anh, khoảng 50.000 cây trên một mẫu Anh, hoặc khoảng 52.000 cây trên một mẫu Anh, hoặc khoảng 54.000 cây trên một mẫu Anh, trái với khoảng mật độ tiêu chuẩn, như khoảng 18.000 cây trên một mẫu Anh đến khoảng 38.000 cây trên một mẫu Anh.

Theo các phương án của sáng chế, (các) cây ngô biến đổi được đề xuất rằng có (i) chiều cao cây nhỏ hơn 2000 mm, nhỏ hơn 1950 mm, nhỏ hơn 1900 mm, nhỏ hơn 1850 mm, nhỏ hơn 1800 mm, nhỏ hơn 1750 mm, nhỏ hơn 1700 mm, nhỏ hơn 1650 mm, nhỏ hơn 1600 mm, nhỏ hơn 1550 mm, nhỏ hơn 1500 mm, nhỏ hơn 1450 mm, nhỏ hơn 1400 mm, nhỏ hơn 1350 mm, nhỏ hơn 1300 mm, nhỏ hơn 1250 mm, nhỏ hơn 1200 mm, nhỏ hơn 1150 mm, nhỏ hơn 1100 mm, nhỏ hơn 1050 mm, hoặc nhỏ hơn 1000 mm, và/hoặc (ii) đường kính thân hoặc cuống trung bình ít nhất 18 mm, ít nhất 18,5 mm, ít nhất 19 mm, ít nhất 19,5 mm, ít nhất 20 mm, ít nhất 20,5 mm, ít nhất 21 mm, ít nhất 21,5 mm, hoặc ít nhất 22 mm. Theo cách khác, (các) cây ngô biến đổi được đề xuất rằng có chiều cao cây nhỏ hơn 2000 mm, nhỏ hơn 1950 mm, nhỏ hơn 1900 mm, nhỏ hơn 1850 mm, nhỏ hơn 1800 mm, nhỏ hơn 1750 mm, nhỏ hơn 1700 mm, nhỏ hơn 1650 mm, nhỏ hơn 1600 mm, nhỏ hơn 1550 mm, nhỏ hơn 1500 mm, nhỏ hơn 1450 mm, nhỏ hơn 1400 mm, nhỏ hơn 1350

mm, nhỏ hơn 1300 mm, nhỏ hơn 1250 mm, nhỏ hơn 1200 mm, nhỏ hơn 1150 mm, nhỏ hơn 1100 mm, nhỏ hơn 1050 mm, hoặc nhỏ hơn 1000 mm, và/hoặc đường kính thân hoặc cuống trung bình lớn hơn 18 mm, lớn hơn 18,5 mm, lớn hơn 19 mm, lớn hơn 19,5 mm, lớn hơn 20 mm, lớn hơn 20,5 mm, lớn hơn 21 mm, lớn hơn 21,5 mm, hoặc lớn hơn 22 mm. Đặc điểm hoặc khoảng chiều cao cây bất kỳ như vậy được tính theo milimét (mm) có thể được chuyển đổi thành một đơn vị đo lường khác dựa trên các chuyển đổi đã biết (ví dụ: một insơ bằng 2,54 cm hoặc 25,4 mm và milimét (mm), xentimét (cm) và mét (m) chỉ khác nhau bởi một hoặc nhiều bậc của mười). Do đó, bất kỳ phép đo nào được đề xuất ở đây đều được mô tả thêm về các đơn vị đo lường tương đương khác theo các chuyển đổi đã biết và đã thiết lập. Tuy nhiên, chiều cao và/hoặc đường kính thân chính xác của cây ngô biến đổi có thể phụ thuộc vào môi trường và nền tảng di truyền. Do đó, sự thay đổi chiều cao của cây và/hoặc đường kính thân của cây ngô biến đổi có thể được mô tả theo sự khác biệt hoặc phần trăm thay đổi tối thiểu so với cây đối chứng. Cây ngô biến đổi còn có thể bao gồm ít nhất một bắp mà gần như không có các mô hoặc cấu trúc sinh đực hoặc các dạng khác.

Theo các phương án của sáng chế, cây ngô biến đổi được đề xuất rằng có chiều cao cây trong giai đoạn phát triển sinh sản và/hoặc sinh dưỡng muộn (ví dụ, ở giai đoạn R3) nằm trong khoảng từ 1000 mm đến 1800mm, từ 1000 mm đến 1700 mm, từ 1050 mm đến 1700 mm, từ 1100 mm đến 1700 mm, từ 1150 mm đến 1700 mm, từ 1200 mm đến 1700 mm, từ 1250 mm đến 1700 mm, từ 1300 mm đến 1700 mm, từ 1350 mm đến 1700 mm, từ 1400 mm đến 1700 mm, từ 1450 mm đến 1700 mm, từ 1000 mm đến 1500 mm, từ 1050 mm đến 1500 mm, từ 1100 mm đến 1500 mm, từ 1150 mm đến 1500 mm, từ 1200 mm đến 1500 mm, từ 1250 mm đến 1500 mm, từ 1300 mm đến 1500 mm, từ 1350 mm đến 1500 mm, từ 1400 mm đến 1500 mm, từ 1450 mm đến 1500 mm, từ 1000 mm đến 1600 mm, từ 1100 mm đến 1600 mm, từ 1200 mm đến 1600 mm, từ 1300 mm đến 1600 mm, từ 1350 mm đến 1600 mm, từ 1400 mm đến 1600 mm, từ 1450 mm đến 1600 mm, từ 1000 mm đến 2000 mm, từ 1200 mm đến 2000 mm, từ 1200 mm đến 1800 mm, từ 1300 mm đến 1700 mm, từ 1400 mm đến 1700 mm, từ 1400 mm đến 1600 mm, từ 1400 mm đến 1700 mm, từ 1400 mm đến 1800 mm, từ 1400 mm đến 1900 mm, từ 1400 mm đến 2000 mm, hoặc từ 1200 mm đến 2500 mm, và/hoặc đường kính thân trung bình là từ 17,5 mm đến 22 mm, từ 18 mm đến 22 mm, từ 18,5 đến 22 mm, từ 19 mm đến 22 mm, từ 19,5 mm đến 22 mm, từ 20 mm đến 22 mm, từ 20,5 mm đến 22 mm, từ 21 mm đến 22 mm, từ

21,5 mm đến 22 mm, từ 17,5 mm đến 21 mm, từ 17,5 mm đến 20 mm, từ 17,5 mm đến 19 mm, từ 17,5 mm đến 18 mm, từ 18 mm đến 21 mm, từ 18 mm đến 20 mm, hoặc từ 18 mm đến 19 mm. Cây ngô biến đổi có thể gần như không có các dạng khác, như cấu trúc hoặc mô sinh sản đực ở một hoặc nhiều bắp của cây ngô biến đổi.

Theo các phương án của sáng chế, cây ngô biến đổi được đề xuất là có (i) chiều cao cây nhỏ hơn ít nhất 5%, ít nhất 10%, ít nhất 15%, ít nhất 20%, ít nhất 25%, ít nhất 30%, ít nhất 35%, ít nhất 40%, ít nhất 45%, ít nhất 50%, ít nhất 55%, ít nhất 60%, ít nhất 65%, ít nhất 70%, hoặc ít nhất 75% chiều cao của cây đối chứng hoặc kiểu dại, và/hoặc (ii) đường kính thân hoặc cuống lớn hơn ít nhất 5%, ít nhất 10%, ít nhất 15%, ít nhất 20%, ít nhất 25%, ít nhất 30%, ít nhất 35%, ít nhất 40%, ít nhất 45%, ít nhất 50%, ít nhất 55%, ít nhất 60%, ít nhất 65%, ít nhất 70%, ít nhất 75%, ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, hoặc ít nhất 100% đường kính thân của cây đối chứng hoặc kiểu dại. Theo các phương án của sáng chế, cây ngô biến đổi có thể có chiều cao cây giảm mà thấp hơn không quá 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, hoặc 60% so với chiều cao của cây đối chứng hoặc kiểu dại, và/hoặc đường kính thân hoặc cuống lớn hơn ít hơn (hoặc không quá) 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, hoặc 100% so với đường kính thân hoặc cuống của cây đối chứng hoặc kiểu dại. Ví dụ, cây biến đổi có thể có (i) chiều cao cây thấp hơn hoặc không quá ít nhất 10%, ít nhất 15%, hoặc ít nhất 20% (tức là, thấp hơn lớn hơn hoặc bằng 10%, 15%, hoặc 20%), nhưng thấp hơn không lớn hơn hoặc quá 50%, so với cây đối chứng hoặc kiểu dại, và/hoặc (ii) đường kính thân hoặc cuống lớn hơn ít nhất 5%, ít nhất 10%, hoặc ít nhất 15%, nhưng lớn hơn không quá 30%, 35%, hoặc 40%, so với cây đối chứng hoặc kiểu dại. Để rõ ràng, các cụm từ "thấp hơn ít nhất 20%" và "thấp hơn lớn hơn hoặc bằng 20%" có thể loại trừ, ví dụ, thấp hơn 10%. Tương tự để rõ ràng, các cụm từ "thấp hơn không quá 50%", "thấp hơn không nhiều hơn 50%" và "thấp hơn không nhiều hơn 50%" có thể loại trừ thấp hơn 60%; thuật ngữ "lớn hơn ít nhất 5%" có thể loại trừ lớn hơn 2%; và các cụm từ "lớn hơn không quá 30%" và "lớn hơn không nhiều hơn 30%" có thể loại trừ lớn hơn 40%.

Theo các phương án của sáng chế, cây ngô biến đổi được đề xuất có chiều cao nhỏ hơn từ 5% đến 75%, từ 5% đến 50%, từ 10% đến 70%, từ 10% đến 65%, từ 10% đến 60%, từ 10% đến 55%, từ 10% đến 50%, từ 10% đến 45%, từ 10% đến 40%, từ 10% đến 35%, từ 10% đến 30%, từ 10% đến 25%, từ 10% đến 20%, từ 10% đến 15%, từ 10% đến

10%, từ 10% đến 75%, từ 25% đến 75%, từ 10% đến 50%, từ 20% đến 50%, từ 25% đến 50%, từ 30% đến 75%, từ 30% đến 50%, từ 25% đến 50%, từ 15% đến 50%, từ 20% đến 50%, từ 25% đến 45%, hoặc từ 30% đến 45% chiều cao của cây đối chứng hoặc kiểu dại, và/hoặc đường kính thân hoặc cuống lớn hơn từ 5% đến 100%, từ 5% đến 95%, từ 5% đến 90%, từ 5% đến 85%, từ 5% đến 80%, từ 5% đến 75%, từ 5% đến 70%, từ 5% đến 65%, từ 5% đến 60%, từ 5% đến 55%, từ 5% đến 50%, từ 5% đến 45%, từ 5% đến 40%, từ 5% đến 35%, từ 5% đến 30%, từ 5% đến 25%, từ 5% đến 20%, từ 5% đến 15%, từ 5% đến 10%, từ 10% đến 100%, từ 10% đến 75%, từ 10% đến 50%, từ 10% đến 40%, từ 10% đến 30%, từ 10% đến 20%, từ 25% đến 75%, từ 25% đến 50%, từ 50% đến 75%, từ 8% đến 20%, hoặc từ 8% đến 15% đường kính thân hoặc cuống của cây đối chứng hoặc kiểu dại.

Theo các phương án của sáng chế, cây ngô biến đổi được đề xuất có chiều dài gióng trung bình (hoặc chiều dài gióng âm-2 và/hoặc chiều dài gióng âm-4 so với vị trí của bắp) nhỏ hơn ít nhất 5%, ít nhất 10%, ít nhất 15%, ít nhất 20%, ít nhất 25%, ít nhất 30%, ít nhất 35%, ít nhất 40%, ít nhất 45%, ít nhất 50%, ít nhất 55%, ít nhất 60%, ít nhất 65%, ít nhất 70%, hoặc ít nhất 75% so với chiều dài gióng trung bình hoặc giống nhau của cây đối chứng hoặc kiểu dại. "Gióng âm-2" của cây ngô dùng để chỉ gióng thứ hai phía dưới bắp của cây, và "gióng âm-4" của cây ngô dùng để chỉ gióng thứ tư phía dưới bắp của cây. Theo nhiều phương án, cây ngô biến đổi được đề xuất có chiều dài gióng trung bình (hoặc chiều dài gióng âm-2 và/hoặc chiều dài gióng âm-4 so với vị trí của bắp) nhỏ hơn từ 5% đến 75%, từ 5% đến 50%, từ 10% đến 70%, từ 10% đến 65%, từ 10% đến 60%, từ 10% đến 55%, từ 10% đến 50%, từ 10% đến 45%, từ 10% đến 40%, từ 10% đến 35%, từ 10% đến 30%, từ 10% đến 25%, từ 10% đến 20%, từ 10% đến 15%, từ 10% đến 10%, từ 10% đến 75%, từ 25% đến 75%, từ 10% đến 50%, từ 20% đến 50%, từ 25% đến 50%, từ 30% đến 75%, từ 30% đến 50%, từ 25% đến 50%, từ 15% đến 50%, từ 20% đến 50%, từ 25% đến 45%, hoặc từ 30% đến 45% so với chiều dài gióng trung bình hoặc giống nhau của cây đối chứng hoặc kiểu dại.

Theo các phương án của sáng chế, cây ngô biến đổi được đề xuất có trọng lượng bắp (riêng lẻ hoặc tính trung bình) lớn hơn ít nhất 5%, ít nhất 10%, ít nhất 15%, ít nhất 20%, ít nhất 25%, ít nhất 30%, ít nhất 35%, ít nhất 40%, ít nhất 45%, ít nhất 50%, ít nhất 55%, ít nhất 60%, ít nhất 65%, ít nhất 70%, ít nhất 75%, ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, hoặc ít nhất 100% trọng lượng bắp của cây đối chứng hoặc kiểu dại. Cây

ngô biến đổi được đề xuất ở đây có thể có trọng lượng bắp lớn hơn từ 5% đến 100%, từ 5% đến 95%, từ 5% đến 90%, từ 5% đến 85%, từ 5% đến 80%, từ 5% đến 75%, từ 5% đến 70%, từ 5% đến 65%, từ 5% đến 60%, từ 5% đến 55%, từ 5% đến 50%, từ 5% đến 45%, từ 5% đến 40%, từ 5% đến 35%, từ 5% đến 30%, từ 5% đến 25%, từ 5% đến 20%, từ 5% đến 15%, từ 5% đến 10%, từ 10% đến 100%, từ 10% đến 75%, từ 10% đến 50%, từ 25% đến 75%, từ 25% đến 50%, hoặc từ 50% đến 75% trọng lượng bắp của cây đối chứng hoặc kiểu dại.

Theo các phương án của sáng chế, cây ngô hoặc ngũ cốc biến đổi được đề xuất là có chỉ số thu hoạch ít nhất 0,57, ít nhất 0,58, ít nhất 0,59, ít nhất 0,60, ít nhất 0,61, ít nhất 0,62, ít nhất 0,63, ít nhất 0,64, hoặc ít nhất 0,65 (hoặc lớn hơn). Cây ngô biến đổi có thể có chỉ số thu hoạch từ 0,57 đến 0,65, từ 0,57 đến 0,64, từ 0,57 đến 0,63, từ 0,57 đến 0,62, từ 0,57 đến 0,61, từ 0,57 đến 0,60, từ 0,57 đến 0,59, từ 0,57 đến 0,58, từ 0,58 đến 0,65, từ 0,59 đến 0,65, hoặc từ 0,60 đến 0,65. Cây ngô biến đổi có thể có chỉ số thu hoạch lớn hơn ít nhất 1%, ít nhất 2%, ít nhất 3%, ít nhất 4%, ít nhất 5%, ít nhất 6%, ít nhất 7%, ít nhất 8%, ít nhất 9%, ít nhất 10%, ít nhất 11%, ít nhất 12%, ít nhất 13%, ít nhất 14%, ít nhất 15%, ít nhất 20%, ít nhất 25%, ít nhất 30%, ít nhất 35%, ít nhất 40%, ít nhất 45%, hoặc ít nhất 50% chỉ số thu hoạch của cây đối chứng hoặc kiểu dại. Cây ngô biến đổi có thể có chỉ số thu hoạch lớn hơn từ 1% đến 45%, từ 1% đến 40%, từ 1% đến 35%, từ 1% đến 30%, từ 1% đến 25%, từ 1% đến 20%, từ 1% đến 15%, từ 1% đến 14%, từ 1% đến 13%, từ 1% đến 12%, từ 1% đến 11%, từ 1% đến 10%, từ 1% đến 9%, từ 1% đến 8%, từ 1% đến 7%, từ 1% đến 6%, từ 1% đến 5%, từ 1% đến 4%, từ 1% đến 3%, từ 1% đến 2%, từ 5% đến 15%, từ 5% đến 20%, từ 5% đến 30%, hoặc từ 5% đến 40% chỉ số thu hoạch của cây đối chứng hoặc kiểu dại.

Theo các phương án của sáng chế, cây ngô hoặc ngũ cốc biến đổi được đề xuất là có sự tăng năng suất thu hoạch ít nhất 1 giạ trên một mẫu Anh, ít nhất 2 giạ trên một mẫu Anh, ít nhất 3 giạ trên một mẫu Anh, ít nhất 4 giạ trên một mẫu Anh, ít nhất 5 giạ trên một mẫu Anh, ít nhất 6 giạ trên một mẫu Anh, ít nhất 7 giạ trên một mẫu Anh, ít nhất 8 giạ trên một mẫu Anh, ít nhất 9 giạ trên một mẫu Anh, hoặc ít nhất 10 giạ trên một mẫu Anh, so với cây đối chứng hoặc kiểu dại. Cây ngô biến đổi có thể có sự tăng năng suất thu hoạch từ 1 đến 10, từ 1 đến 8, từ 2 đến 8, từ 2 đến 6, từ 2 đến 5, từ 2,5 đến 4,5, hoặc từ 3 đến 4 giạ một mẫu Anh. Cây ngô biến đổi có thể có sự tăng năng suất thu hoạch nhiều hơn ít nhất

1%, ít nhất 2%, ít nhất 3%, ít nhất 4%, ít nhất 5%, ít nhất 6%, ít nhất 7%, ít nhất 8%, ít nhất 9%, ít nhất 10%, ít nhất 11%, ít nhất 12%, ít nhất 13%, ít nhất 14%, ít nhất 15%, ít nhất 20%, hoặc ít nhất 25% năng suất thu hoạch của cây đối chứng hoặc kiểu dại. Cây ngô biến đổi có thể có sự tăng năng suất thu hoạch lớn hơn từ 1% đến 25%, từ 1% đến 20%, từ 1% đến 15%, từ 1% đến 14%, từ 1% đến 13%, từ 1% đến 12%, từ 1% đến 11%, từ 1% đến 10%, từ 1% đến 9%, từ 1% đến 8%, từ 1% đến 7%, từ 1% đến 6%, từ 1% đến 5%, từ 1% đến 4%, từ 1% đến 3%, từ 1% đến 2%, từ 5% đến 15%, từ 5% đến 20%, từ 5% đến 25%, từ 2% đến 10%, từ 2% đến 9%, từ 2% đến 8%, từ 2% đến 7%, từ 2% đến 6%, từ 2% đến 5%, hoặc từ 2% đến 4% năng suất thu hoạch của cây đối chứng hoặc kiểu dại.

Theo các phương án của sáng chế, cây ngô hoặc ngũ cốc biến đổi được đề xuất là có tần xuất đổ nhỏ hơn hoặc thấp hơn ít nhất 5%, ít nhất 10%, ít nhất 15%, ít nhất 20%, ít nhất 25%, ít nhất 30%, ít nhất 35%, ít nhất 40%, ít nhất 45%, ít nhất 50%, ít nhất 55%, ít nhất 60%, ít nhất 65%, ít nhất 70%, ít nhất 75%, ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, hoặc 100% so với cây đối chứng hoặc kiểu dại. Cây ngô hoặc ngũ cốc biến đổi có thể có tần xuất đổ nhỏ hơn hoặc thấp hơn từ 5% đến 100%, từ 5% đến 95%, từ 5% đến 90%, từ 5% đến 85%, từ 5% đến 80%, từ 5% đến 75%, từ 5% đến 70%, từ 5% đến 65%, từ 5% đến 60%, từ 5% đến 55%, từ 5% đến 50%, từ 5% đến 45%, từ 5% đến 40%, từ 5% đến 35%, từ 5% đến 30%, từ 5% đến 25%, từ 5% đến 20%, từ 5% đến 15%, từ 5% đến 10%, từ 10% đến 100%, từ 10% đến 75%, từ 10% đến 50%, từ 10% đến 40%, từ 10% đến 30%, từ 10% đến 20%, từ 25% đến 75%, từ 25% đến 50%, hoặc từ 50% đến 75% so với cây đối chứng hoặc kiểu dại. Được đề xuất nữa là quần thể cây ngô hoặc ngũ cốc có khả năng chống đổ tăng và tần xuất đổ giảm. Quần thể cây ngô hoặc ngũ cốc được đề xuất có tần xuất đổ ít hơn hoặc thấp hơn ít nhất 5%, ít nhất 10%, ít nhất 15%, ít nhất 20%, ít nhất 25%, ít nhất 30%, ít nhất 35%, ít nhất 40%, ít nhất 45%, ít nhất 50%, ít nhất 55%, ít nhất 60%, ít nhất 65%, ít nhất 70%, ít nhất 75%, ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, hoặc 100% so với quần thể cây đối chứng hoặc kiểu dại. Quần thể cây ngô biến đổi có thể có tần xuất đổ ít hơn hoặc thấp hơn từ 5% đến 100%, từ 5% đến 95%, từ 5% đến 90%, từ 5% đến 85%, từ 5% đến 80%, từ 5% đến 75%, từ 5% đến 70%, từ 5% đến 65%, từ 5% đến 60%, từ 5% đến 55%, từ 5% đến 50%, từ 5% đến 45%, từ 5% đến 40%, từ 5% đến 35%, từ 5% đến 30%, từ 5% đến 25%, từ 5% đến 20%, từ 5% đến 15%, từ 5% đến 10%, từ 10% đến 100%, từ 10% đến 75%, từ 10% đến 50%, từ 10% đến 40%, từ 10% đến 30%, từ 10% đến 20%, từ 25% đến 75%, từ 25% đến 50%, hoặc từ 50% đến 75% so với

quần thể cây đối chứng hoặc kiểu dại, mà có thể được tính theo giá trị trung bình trên số cây hoặc diện tích cây có mật độ bằng nhau được xác định.

Theo các phương án của sáng chế, cây ngô biến đổi được đề xuất có chiều cao cây giảm hoặc giảm bớt đáng kể (ví dụ, 2000 mm hoặc nhỏ hơn) và đường kính thân tăng đáng kể (ví dụ, 18 mm hoặc lớn hơn), so với cây đối chứng hoặc kiểu dại. Theo các phương án này, việc giảm hoặc giảm bớt chiều cao cây và tăng đường kính thân có thể nằm trong bất kỳ khoảng chiều cao, đường kính hoặc tỷ lệ phần trăm nào được viện dẫn ở đây. Những cây ngô biến đổi như vậy có chiều cao cây giảm và đường kính thân tăng so với cây đối chứng hoặc kiểu dại có thể được biến nạp bằng chuỗi ADN có thể phiên mã mã hóa một phân tử ARN không mã hóa nhắm vào ít nhất một gen GA20 oxidaza và/hoặc ít nhất một gen GA3 oxidaza để ức chế. Cây ngô biến đổi có chiều cao cây giảm đáng kể và/hoặc đường kính thân tăng đáng kể so với cây đối chứng hoặc kiểu dại còn có thể có ít nhất một bắp gần như không có mô hoặc cấu trúc sinh sản đực và/hoặc các dạng khác. Cây ngô biến đổi có chiều cao cây giảm đáng kể và/hoặc đường kính thân tăng so với cây đối chứng hoặc kiểu dại có thể làm giảm hoạt tính của một hoặc nhiều (các) gen GA20 oxidaza và/hoặc GA3 oxidaza ở một hoặc nhiều (các) mô của cây, như một hoặc nhiều (các) mô mạch và/hoặc lá của cây, so với cùng (các) mô của cây đối chứng hoặc kiểu dại. Theo nhiều phương án, cây ngô biến đổi có thể chứa ít nhất một trình tự ADN có thể phiên mã hoặc polynucleotit mã hóa một phân tử ARN không mã hóa được liên kết hoạt động với một đoạn khởi đầu, có thể là đoạn khởi đầu cơ định, đặc hiệu mô hoặc ưu tiên mô, trong đó phân tử ARN không mã hóa nhắm đích ít nhất một gen GA20 oxidaza và/hoặc (các) gen GA3 oxidaza để ức chế như được đề xuất ở đây. Phân tử ARN không mã hóa có thể là phân tử tiền chất miARN, siARN hoặc miARN hoặc siARN. Theo một vài phương án, cây ngô biến đổi có chiều cao cây giảm đáng kể và/hoặc đường kính thân tăng so với cây đối chứng hoặc kiểu dại có thể có thêm chỉ số thu hoạch và/hoặc khả năng chống đổ tăng so với cây đối chứng hoặc kiểu dại.

Cây ngô hoặc cây ngũ cốc biến đổi có chiều cao cây giảm đáng kể và/hoặc đường kính thân tăng đáng kể so với cây đối chứng hoặc kiểu dại có thể gồm đột biến (ví dụ, gắn xen, xóa, thay thế, v.v.) trong gen GA oxidaza được đưa vào thông qua kỹ thuật chỉnh sửa gen hoặc kỹ thuật gây đột biến khác, trong đó biểu hiện của gen GA oxidaza bị giảm hoặc loại bỏ ở một hoặc nhiều mô của cây biến đổi. Những cây ngô biến đổi có chiều cao cây

giảm và/hoặc đường kính thân tăng so với cây đối chứng hoặc kiểu dại có thể có thêm chỉ số thu hoạch và/hoặc khả năng chống đổ tăng so với cây đối chứng hoặc kiểu dại. Những cây ngô biến đổi như vậy có thể gần như không có dạng khác, như các mô hoặc cấu trúc sinh sản đực và/hoặc các dạng khác ở ít nhất một bắp của cây biến đổi. Các kỹ thuật gây đột biến ở cây (không bao gồm chỉnh sửa hệ gen) có thể bao gồm đột biến hóa học (nghĩa là xử lý bằng đột biến hóa học, như azide, hydroxylamin, axit nitrơ, acridin, chất tương tự bazơ nucleotit, hoặc tác nhân kiềm hóa - ví dụ, EMS (etylmetan sulfonat), MNU (N-metyl-N-nitrosourea), v.v.), gây đột biến vật lý (ví dụ: tia gama, tia X, tia cực tím, chùm ion, các dạng phóng xạ khác, v.v.), và gây đột biến gắn xen (ví dụ, gắn xen T-ADN hoặc gen nhảy (transposeon)). Cây hoặc các bộ phận cây khác nhau, mô cây hoặc tế bào cây có thể bị đột biến. Cây được xử lý có thể được sao chép để thu thập hạt giống hoặc tạo ra cây con, và các bộ phận của cây được xử lý, mô cây hoặc tế bào cây có thể được phát triển hoặc tái sinh thành cây hoặc các mô cây khác. Đột biến được tạo ra bằng các kỹ thuật gây đột biến hóa học hoặc vật lý có thể bao gồm đột biến lệch khung đọc, đột biến sai nghĩa hoặc vô nghĩa dẫn đến mất chức năng hoặc biểu hiện của gen đích, như gen GA3 hoặc GA20 oxidaza.

Một phương pháp gây đột biến gen được gọi là "TILLING" (để nhắm đích các tổn thương cục bộ gây ra trong hệ gen), trong đó đột biến được tạo ra ở tế bào cây hoặc mô, tốt nhất là ở hạt, mô sinh sản hoặc dòng phôi của cây, ví dụ sử dụng một tác nhân gây đột biến, chẳng hạn như điều trị bằng EMS. Các cây thu được được trồng và tự thụ tinh, và cây con được sử dụng để tạo ra mẫu ADN. Có thể sử dụng khuếch đại PCR và giải trình tự đối với trình tự axit nucleic của gen GA oxidaza để xác định xem một cây bị đột biến có đột biến ở gen GA oxidaza hay không. Các cây có đột biến ở gen GA oxidaza sau đó có thể được kiểm tra đặc điểm thay đổi, như giảm chiều cao cây. Theo cách khác, cây bị đột biến có thể được kiểm tra một đặc điểm bị thay đổi, như giảm chiều cao cây, sau đó khuếch đại PCR và giải trình tự đối với trình tự axit nucleic của gen GA oxidaza có thể được sử dụng để xác định xem một cây có đặc điểm bị thay đổi cũng có đột biến ở gen GA oxidaza hay không. Ví dụ, xem tài liệu Colbert và đồng tác giả, 2001, *Plant Physiol* 126:480-484; và McCallum và đồng tác giả, 2000, Nature Biotechnology 18:455-457. TILLING có thể được sử dụng để xác định các đột biến làm thay đổi biểu hiện gen hoặc hoạt động của protein được mã hóa bởi gen, mà có thể được sử dụng để đưa vào và chọn lọc một đột biến đích ở gen GA oxidaza của cây ngô hoặc ngũ cốc.

Cây ngô hoặc cây ngũ cốc đã được xử lý đột biến hoặc chỉnh sửa hệ gen có thể được sàng lọc và lựa chọn dựa trên kiểu hình quan sát được (ví dụ, bất kỳ kiểu hình nào được mô tả ở đây, như chiều cao cây thấp hơn, đường kính thân/cuống tăng, v.v.), hoặc sử dụng tác nhân chọn lọc với chất đánh dấu có thể lựa chọn (ví dụ: thuốc diệt cỏ, v.v.), chất đánh dấu có thể sàng lọc, hoặc kỹ thuật phân tử (ví dụ: mức GA thấp hơn, mức protein hoặc bản sao GA oxidaza thấp hơn, sự hiện diện của gen chuyển hoặc trình tự có thể phiên mã, v.v.). Các kỹ thuật sàng lọc và / hoặc chọn lọc như vậy có thể được sử dụng để xác định và chọn các cây có đột biến gen GA oxidaza dẫn đến kiểu hình thực vật mong muốn.

Theo các phương án của sáng chế, quần thể cây ngô hoặc ngũ cốc biến đổi được đề xuất, trong đó quần thể cây ngô hoặc ngũ cốc biến đổi có chiều cao cây trung bình thấp hơn đáng kể, và/hoặc đường kính thân hoặc cuống trung bình nhiều hơn đáng kể, so với quần thể cây đối chứng hoặc kiểu dại. Quần thể cây ngô hoặc ngũ cốc biến đổi có thể có chung tổ tiên với một cây ngô hoặc cây ngũ cốc biến đổi duy nhất và/hoặc nói chung có sự chỉnh sửa, sự kiện hoặc sự gắn xen cấu trúc ức chế GA oxidaza chuyển gen duy nhất. Cây ngô biến đổi trong quần thể cây ngô biến đổi thường có thể chứa ít nhất một bắp mà gần như không có các mô hoặc cấu trúc sinh sản đực và/hoặc các dạng khác. Quần thể cây ngô hoặc ngũ cốc biến đổi có thể có khả năng chống đổ tăng trên trung bình hoặc trên một số cây hoặc diện tích cánh đồng so với quần thể cây đối chứng hoặc kiểu dại. Quần thể cây ngô hoặc ngũ cốc biến đổi có thể có tần xuất đổ ít hơn (hoặc thấp hơn) ít nhất 5%, ít nhất 10%, ít nhất 20%, ít nhất 30%, ít nhất 40%, ít nhất 50%, ít nhất 60%, ít nhất 70% ít nhất 80%, ít nhất 90%, hoặc 100% so với quần thể cây ngô hoặc ngũ cốc đối chứng. Quần thể cây ngô biến đổi có thể có chỉ số thu hoạch ít nhất 0,57 hoặc cao hơn.

Theo các phương án của sáng chế, cây ngô hoặc ngũ cốc biến đổi được đề xuất có hàm lượng gibberellin giảm (ở dạng hoạt động) ở ít nhất là (các) mô thân và mô gióng, như (các) mô thân, gióng, lá và/hoặc mạch, so với cùng (các) mô của cây đối chứng hoặc kiểu dại. Theo nhiều phương án, cây ngô hoặc ngũ cốc biến đổi được đề xuất có chiều cao cây giảm đáng kể và/hoặc đường kính thân tăng đáng kể so với cây đối chứng hoặc kiểu dại, trong đó cây ngô hoặc ngũ cốc biến đổi còn có (các) mức giảm hoặc giảm bớt đáng kể của gibberellin hoạt động hoặc GA hoạt động (ví dụ, một hoặc nhiều GA1, GA3, GA4, và/hoặc GA7) ở một hoặc nhiều (các) mô thân, gióng, lá và/hoặc mạch, so với cùng (các) mô của cây đối chứng hoặc kiểu dại. Ví dụ, mức của một hoặc nhiều GA hoạt động ở (các)

mô thân, gióng, lá và/hoặc mạch của cây ngô hoặc ngũ cốc biến đổi có thể ít hơn hoặc thấp hơn ít nhất 5%, ít nhất 10%, ít nhất 15%, ít nhất 20%, ít nhất 25%, ít nhất 30%, ít nhất 35%, ít nhất 40%, ít nhất 45%, ít nhất 50%, ít nhất 55%, ít nhất 60%, ít nhất 65%, ít nhất 70%, ít nhất 75%, ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, hoặc ít nhất 100% so với ở cùng (các) mô của cây ngô đối chứng hoặc kiểu dại.

Theo một vài phương án, cây ngô hoặc ngũ cốc biến đổi có thể có (các) mức gibberellin (GA) hoạt động (ví dụ, một hoặc nhiều GA1, GA3, GA4, và/hoặc GA7) ở một hoặc nhiều (các) mô thân, gióng, lá và/hoặc mạch ít hơn hoặc (hoặc thấp hơn) từ 5% đến 50%, từ 10% đến 100%, từ 20% đến 100%, từ 30% đến 100%, từ 40% đến 100%, từ 50% đến 100%, từ 60% đến 100%, từ 70% đến 100%, từ 80% đến 100%, từ 80% đến 90%, từ 10% đến 90%, từ 10% đến 80%, từ 10% đến 70%, từ 10% đến 60%, từ 10% đến 50%, từ 10% đến 40%, từ 10% đến 30%, từ 10% đến 20%, từ 50% đến 100%, từ 20% đến 90%, từ 20% đến 80%, từ 20% đến 70%, từ 20% đến 60%, từ 20% đến 50%, từ 20% đến 40%, từ 20% đến 40%, từ 20% đến 30%, từ 30% đến 90%, từ 30% đến 80%, từ 30% đến 70%, từ 30% đến 60%, từ 30% đến 50%, từ 30% đến 40%, từ 40% đến 90% between 40% đến 80%, từ 40% đến 70%, từ 40% đến 60%, từ 40% đến 50%, từ 50% đến 90%, từ 50% đến 80%, từ 50% đến 70%, từ 50% đến 60%, từ 60% đến 90%, từ 60% đến 80%, từ 60% đến 70%, từ 70% đến 90%, hoặc từ 70% đến 80% so với ở cùng (các) mô của cây ngô đối chứng hoặc kiểu dại. Cây ngô hoặc ngũ cốc biến đổi có (các) mức gibberellin (GA) hoạt động giảm ở một hoặc nhiều (các) mô thân, gióng, lá và/hoặc mạch còn có thể gần như không có các dạng khác, như mô hoặc cấu trúc sinh sản đực và/hoặc các dạng khác ở ít nhất một bắp của cây ngô biến đổi.

Theo các phương án của sáng chế, cây ngô hoặc ngũ cốc biến đổi được đề xuất có mức biểu hiện giảm hoặc được loại bỏ đáng kể của một hoặc nhiều GA3 oxidaza và/hoặc (các) bản sao và/hoặc (các) protein gen GA20 oxidaza ở một hoặc nhiều (các) mô, như một hoặc nhiều (các) mô thân, gióng, lá và/hoặc mạch, của cây biến đổi, so với cùng (các) mô của cây đối chứng hoặc kiểu dại. Theo nhiều phương án, cây ngô hoặc ngũ cốc biến đổi được đề xuất gồm chiều cao cây giảm đáng kể và/hoặc đường kính thân tăng đáng kể so với cây đối chứng hoặc kiểu dại, trong đó cây ngô hoặc ngũ cốc biến đổi có mức biểu hiện giảm hoặc được loại bỏ đáng kể của một hoặc nhiều GA20 oxidaza và/hoặc (các) bản sao và/hoặc (các) protein gen GA3 oxidaza ở một hoặc nhiều (các) mô, như một hoặc nhiều

(các) mô thân, gióng, lá và/hoặc mạch, của cây biến đổi, so với cùng (các) mô của cây ngô đối chứng hoặc kiểu dại. Ví dụ, cây ngô hoặc ngũ cốc biến đổi có mức biểu hiện giảm hoặc được loại bỏ đáng kể của (các) bản sao và/hoặc (các) protein gen GA20 oxidaza_3 và/hoặc GA20 oxidaza_5, và/hoặc mức biểu hiện giảm hoặc được loại bỏ đáng kể của (các) bản sao và/hoặc (các) protein gen GA3 oxidaza_1 và/hoặc GA3 oxidaza_2, ở một hoặc nhiều (các) mô thân, gióng, lá và/hoặc mạch của cây biến đổi, so với cùng (các) mô của cây đối chứng hoặc kiểu dại. Ví dụ, mức biểu hiện của một hoặc nhiều (các) bản sao và/hoặc (các) protein gen GA3 oxidaza và/hoặc GA20 oxidaza, hoặc một hoặc nhiều (các) bản sao và/hoặc (các) protein gen GA oxidaza (hoặc giống GA oxidaza), ở một hoặc nhiều (các) mô thân, gióng, lá và/hoặc mạch của cây ngô biến đổi có thể ít hơn hoặc thấp hơn ít nhất 5%, ít nhất 10%, ít nhất 15%, ít nhất 20%, ít nhất 25%, ít nhất 30%, ít nhất 35%, ít nhất 40%, ít nhất 45%, ít nhất 50%, ít nhất 55%, ít nhất 60%, ít nhất 65%, ít nhất 70%, ít nhất 75%, ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, hoặc ít nhất 100% so với ở cùng (các) mô của cây ngô hoặc ngũ cốc đối chứng hoặc kiểu dại.

Theo một vài phương án, cây ngô hoặc ngũ cốc biến đổi có thể có (các) mức của một hoặc nhiều (các) bản sao và/hoặc (các) protein gen GA3 oxidaza và/hoặc GA20 oxidaza, hoặc một hoặc nhiều (các) bản sao và/hoặc (các) protein gen GA oxidaza (hoặc giống GA oxidaza), ở một hoặc nhiều (các) mô thân, gióng, lá và/hoặc mạch ít hơn hoặc thấp hơn từ 5% đến 50%, từ 10% đến 100%, từ 20% đến 100%, từ 30% đến 100%, từ 40% đến 100%, từ 50% đến 100%, từ 60% đến 100%, từ 70% đến 100%, từ 80% đến 100%, từ 80% đến 90%, từ 10% đến 90%, từ 10% đến 80%, từ 10% đến 70%, từ 10% đến 60%, từ 10% đến 50%, từ 10% đến 40%, từ 10% đến 30%, từ 10% đến 20%, từ 50% đến 100%, từ 20% đến 90%, từ 20% đến 80%, từ 20% đến 70%, từ 20% đến 60%, từ 20% đến 50%, từ 20% đến 40%, từ 20% đến 40%, từ 20% đến 30%, từ 30% đến 90%, từ 30% đến 80%, từ 30% đến 70%, từ 30% đến 60%, từ 30% đến 50%, từ 30% đến 40%, từ 40% đến 90%, từ 40% đến 80%, từ 40% đến 70%, từ 40% đến 60%, từ 40% đến 50%, từ 50% đến 90%, từ 50% đến 80%, từ 50% đến 70%, từ 50% đến 60%, từ 60% đến 90%, từ 60% đến 80%, từ 60% đến 70%, từ 70% đến 90%, hoặc từ 70% đến 80% so với ở cùng (các) mô của cây ngô hoặc ngũ cốc đối chứng hoặc kiểu dại. Cây ngô hoặc ngũ cốc biến đổi có mức biểu hiện giảm hoặc được loại bỏ của ít nhất một gen GA20 oxidaza và/hoặc (các) gen GA3 oxidaza ở một hoặc nhiều (các) mô, cũng có thể là gần như không có các dạng khác, như mô hoặc cấu trúc sinh sản đực và/hoặc các dạng khác ở ít nhất một bắp của cây ngô biến đổi.

Theo một vài phương án, các phương pháp được đề xuất gồm làm giảm hoặc loại bỏ sự biểu hiện của ít nhất một gen GA20 oxidaza và/hoặc ít nhất một gen GA3 oxidaza ở cây trồng, như ở một hoặc nhiều mô thân, gióng, mạch và/hoặc lá của cây trồng, trong đó sự biểu hiện của ít nhất một gen GA20 oxidaza và/hoặc ít nhất một (các) gen GA3 oxidaza không bị biến đổi hoặc thay đổi đáng kể ở ít nhất một mô sinh sản của cây, và/hoặc trong đó (các) mức của một hoặc nhiều GA hoạt động không bị biến đổi hoặc thay đổi đáng kể ở ít nhất một mô sinh sản của cây, so với cây đối chứng hoặc kiểu dại. Theo nhiều phương án, (các) mức biểu hiện của ít nhất một gen GA20 oxidaza hoặc GA3 oxidaza được làm giảm hoặc loại bỏ ở ít nhất một mô của cây biến đổi bằng cấu trúc ADN tái tổ hợp gồm trình tự ADN có thể phiên mã mã hóa yếu tố ức chế đối với gen GA20 oxidaza hoặc GA3 oxidaza, như ít nhất một tiền chất miARN hoặc miARN thuần thục mà được xử lý thành miARN thuần thục, trong đó miARN có thể làm giảm hoặc ức chế mức độ biểu hiện của ít nhất một gen GA20 oxidaza hoặc GA3 oxidaza, và trong đó trình tự ADN có thể phiên mã được liên kết hoạt động với đoạn khởi đầu cơ định, đặc hiệu mô hoặc ưu tiên mô.

Các phương pháp và kỹ thuật được đề xuất để sàng lọc và/hoặc xác định các tế bào hoặc thực vật, v.v., cho sự hiện diện của gen chỉnh sửa hoặc gen chuyển đích, và chọn các tế bào hoặc thực vật bao gồm gen chỉnh sửa hoặc gen chuyển đích, có thể dựa trên một hoặc nhiều kiểu hình hoặc đặc điểm, hoặc dựa trên sự hiện diện hoặc vắng mặt của một dấu phân tử hoặc trình tự polynucleotit hoặc protein trong các tế bào hoặc thực vật. Axit nucleic có thể được phân lập và phát hiện bằng các kỹ thuật đã biết trong lĩnh vực này. Ví dụ, axit nucleic có thể được phân lập và phát hiện bằng cách sử dụng, nhưng không giới hạn, công nghệ axit nucleic tái tổ hợp, và/hoặc phản ứng chuỗi polymeraza (polymerase chain reaction-PCR). Kỹ thuật PCR tổng quát được mô tả, ví dụ trong PCR Primer: A Laboratory Manual, Dieffenbach & Dveksler, Eds., Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1995. Các kỹ thuật axit nucleic tái tổ hợp bao gồm, ví dụ, hạn chế tiêu hóa và thắt enzym, có thể được sử dụng để phân lập axit nucleic. Các axit nucleic được phân lập cũng có thể được tổng hợp hóa học, dưới dạng một phân tử axit nucleic đơn hoặc là một loạt các oligonucleotit. Polypeptit có thể được tinh chế từ các nguồn tự nhiên (ví dụ: mẫu sinh học) bằng các phương pháp đã biết như trao đổi ion DEAE, lọc gel, và sắc ký hydroxyapatit. Polypeptit cũng có thể được tinh chế, ví dụ, bằng cách biểu hiện một axit nucleic ở một vectơ biểu hiện. Ngoài ra, một polypeptit tinh khiết có thể thu được bằng cách tổng hợp hóa học. Mức độ tinh khiết của polypeptit có thể được đo bằng cách sử dụng bất kỳ phương

pháp thích hợp nào, ví dụ, sắc ký cột, điện di gel polyacrylamit, hoặc phân tích HPLC. Bất kỳ phương pháp nào đã biết trong lĩnh vực này có thể được sử dụng để sàng lọc, và/hoặc xác định, tế bào, thực vật, v.v., có gen chuyển hoặc sự chỉnh sửa hệ gen trong hệ gen của nó, mà có thể dựa trên hình thức thích hợp bất kỳ trong số kỹ thuật quan sát trực quan, chọn lọc, kỹ thuật phân tử, v.v..

Theo một vài phương án, các phương pháp được đề xuất để phát hiện axit nucleic tái tổ hợp và/hoặc polypeptit ở tế bào cây. Ví dụ, axit nucleic có thể được phát hiện bằng cách sử dụng các đầu dò lai hoặc thông qua việc sản xuất các sản phẩm khuếch đại sử dụng PCR với các đoạn mồi như đã biết trong lĩnh vực này. Sự lai giữa các axit nucleic được thảo luận trong Sambrook *và đồng tác giả* (1989, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd Ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY). Polypeptit có thể được phát hiện bằng cách sử dụng kháng thể. Các kỹ thuật phát hiện polypeptit bằng cách sử dụng kháng thể bao gồm thử nghiệm hấp thụ miễn dịch liên kết enzym (ELISA), thấm tách Tây (Western blots), miễn dịch kết tủa, miễn dịch huỳnh quang, và tương tự. Một kháng thể được đề xuất ở đây có thể là kháng thể đa dòng hoặc kháng thể đơn dòng. Một kháng thể có ái lực liên kết đặc hiệu đối với một polypeptit được đề xuất ở đây có thể được tạo ra bằng các phương pháp đã biết trong lĩnh vực này. Một kháng thể hoặc đầu dò lai có thể được gắn vào một nền rắn, như ống, đĩa hoặc giếng, bằng cách sử dụng các phương pháp đã biết trong lĩnh vực này.

Việc phát hiện (ví dụ, sản phẩm khuếch đại, phức hợp lai, hoặc polypeptit) có thể được thực hiện bằng cách sử dụng các nhãn có thể phát hiện được mà có thể được gắn hoặc liên kết với đầu dò lai hoặc kháng thể. Thuật ngữ "nhãn" được dự định bao gồm việc sử dụng nhãn trực tiếp cũng như nhãn gián tiếp. Nhãn có thể phát hiện bao gồm enzym, nhóm giả, vật liệu huỳnh quang, vật liệu phát quang, vật liệu phát quang sinh học và vật liệu phóng xạ.

Việc sàng lọc và lựa chọn cây chuyển gen hoặc tế bào cây biến đổi, chỉnh sửa có thể thông qua bất kỳ phương pháp nào được biết đến bởi người có kỹ năng trong lĩnh vực sinh học phân tử. Các ví dụ về phương pháp sàng lọc và lựa chọn bao gồm, nhưng không giới hạn ở phân tích Nam (Southern analysis), khuếch đại PCR để phát hiện polynucleotit, thấm tách Bắc (Northern blots), bảo vệ ARNaza, mở rộng đoạn mồi, khuếch đại RT-PCR để phát hiện các bản sao ARN, giải trình tự Sanger, giải trình tự thế hệ tiếp

theo (ví dụ, Illumina®, PacBio®, Ion Torrent™, v.v.) thử nghiệm enzym để phát hiện hoạt tính enzym hoặc ribozym của polypeptit và polynucleotit, và điện di gel protein, thấm tách Tây, kết tủa miễn dịch, và thử nghiệm miễn dịch liên kết enzym để phát hiện polypeptit. Các kỹ thuật khác như lai tại chỗ, nhuộm enzym, và nhuộm miễn dịch cũng có thể được sử dụng để phát hiện sự hiện diện hoặc biểu hiện của polypeptit và/hoặc polynucleotit. Phương pháp để thực hiện tất cả các kỹ thuật được tham chiếu là đã biết trong lĩnh vực này.

Các phương án

Các mục sau đây liệt kê tập hợp con của các phương án làm ví dụ.

Phương án 1. Cấu trúc ADN tái tổ hợp gồm trình tự ADN có thể phiên mã mã hóa phân tử ARN không mã hóa, trong đó phân tử ARN không mã hóa gồm trình tự mà bổ sung ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% cho ít nhất 15, ít nhất 16, ít nhất 17, ít nhất 18, ít nhất 19, ít nhất 20, ít nhất 21, ít nhất 22, ít nhất 23, ít nhất 24, ít nhất 25, ít nhất 26, hoặc ít nhất 27 nucleotit liên tiếp của phân tử mARN mã hóa protein GA20 oxidaza nội sinh ở tế bào cây hoặc cây ngũ cốc, protein GA20 oxidaza nội sinh tương đồng ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% với SEQ ID NO: 9, và trong đó trình tự ADN có thể phiên mã được liên kết hoạt động với đoạn khởi đầu biểu hiện được ở thực vật.

Phương án 2. Cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 1, trong đó phân tử ARN không mã hóa gồm trình tự mà bổ sung ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% cho ít nhất 15, ít nhất 16, ít nhất 17, ít nhất 18, ít nhất 19, ít nhất 20, ít nhất 21, ít nhất 22, ít nhất 23, ít nhất 24, ít nhất 25, ít nhất 26, hoặc ít nhất 27 nucleotit liên tiếp của SEQ ID NO: 7 hoặc SEQ ID NO: 8.

Phương án 3. Cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 1, trong đó phân tử ARN không mã hóa gồm trình tự mà bổ sung ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% cho ít nhất 15, ít nhất 16, ít nhất 17, ít nhất 18, ít nhất 19, ít nhất 20, ít nhất 21, ít nhất 22, ít nhất 23, ít nhất 24, ít nhất 25, ít nhất 26, hoặc ít nhất 27 nucleotit liên tiếp của phân tử mARN mã hóa protein GA20 oxidaza nội sinh ở cây một lá mầm hoặc ngũ cốc hoặc tế bào cây, protein GA20 oxidaza nội sinh

tương đồng ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% với SEQ ID NO: 15.

Phương án 4. Cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 3, trong đó phân tử ARN không mã hóa gồm trình tự mà bổ sung ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% cho ít nhất 15, ít nhất 16, ít nhất 17, ít nhất 18, ít nhất 19, ít nhất 20, ít nhất 21, ít nhất 22, ít nhất 23, ít nhất 24, ít nhất 25, ít nhất 26, hoặc ít nhất 27 nucleotit liên tiếp của SEQ ID NO: 13 hoặc SEQ ID NO: 14.

Phương án 5. Cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 1, trong đó đoạn khởi đầu biểu hiện được ở thực vật là đoạn khởi đầu mạch.

Phương án 6. Cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 5, trong đó đoạn khởi đầu mạch gồm một trong số sau đây: đoạn khởi đầu sucroza synthaza, đoạn khởi đầu vận chuyển sucroza, đoạn khởi đầu Sh1, đoạn khởi đầu của virut đốm vàng ở chi thài lài (CoYMV), đoạn khởi đầu vùng liên gen lớn (large intergenic region-LIR) của geminivirut gây bệnh lùn ở cây lúa mì (wheat dwarf geminivirus-WDV), đoạn khởi đầu protein vỏ (coat protein-CP) của geminivirut sọc lá ngô (maize streak geminivirus-MSV), đoạn khởi đầu giống sọc vàng 1 (yellow stripe 1-YS1) ở lúa, hoặc đoạn khởi đầu sọc vàng 2 (OsYSL2) ở lúa.

Phương án 7. Cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 5, trong đó đoạn khởi đầu mạch gồm trình tự ADN mà tương đồng ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5% hoặc 100% với một hoặc nhiều SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 70, hoặc SEQ ID NO: 71, hoặc phần chức năng của nó.

Phương án 8. Cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 1, trong đó đoạn khởi đầu biểu hiện được ở thực vật là đoạn khởi đầu RTBV.

Phương án 9. Cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 8, trong đó đoạn khởi đầu biểu hiện được ở thực vật gồm trình tự ADN mà tương đồng ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5% hoặc 100% với một hoặc nhiều SEQ ID NO: 65 hoặc SEQ ID NO: 66, hoặc phần chức năng của nó.

Phương án 10. Cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 1, trong đó đoạn khởi đầu biểu hiện được ở thực vật là đoạn khởi đầu của lá.

Phương án 11. Cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 10, trong đó đoạn khởi đầu của lá gồm một trong số sau đây: đoạn khởi đầu RuBisCO, đoạn khởi đầu PPDK, đoạn khởi đầu FDA, đoạn khởi đầu Nadh-Gogat, đoạn khởi đầu gen của protein gắn kết chất diệp lục a/b, đoạn khởi đầu phosphoenolpyruvat carboxylaza (PEPC), hoặc đoạn khởi đầu gen Myb.

Phương án 12. Cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 10, trong đó đoạn khởi đầu của lá gồm trình tự ADN mà tương đồng ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5% hoặc 100% với một hoặc nhiều SEQ ID NO: 72, SEQ ID NO: 73 hoặc SEQ ID NO: 74, hoặc phần chức năng của nó.

Phương án 13. Cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 1, trong đó đoạn khởi đầu biểu hiện được ở thực vật là đoạn khởi đầu cơ định.

Phương án 14. Cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 13, trong đó đoạn khởi đầu cơ định được chọn từ nhóm gồm: đoạn khởi đầu actin, đoạn khởi đầu CaMV 35S hoặc 19S, đoạn khởi đầu ubiquitin thực vật, đoạn khởi đầu Gos2 thực vật, đoạn khởi đầu FMV, đoạn khởi đầu CMV, đoạn khởi đầu MMV, đoạn khởi đầu PCLSV, đoạn khởi đầu Emu, đoạn khởi đầu tubulin, đoạn khởi đầu nopalin synthaza, đoạn khởi đầu octopin synthaza, đoạn khởi đầu mannopin synthaza, hoặc rượu dehydrogenaza ngô, hoặc phần chức năng của nó.

Phương án 15. Cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 13, trong đó đoạn khởi đầu cơ định gồm trình tự ADN mà tương đồng ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5% hoặc 100% với một hoặc nhiều SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 82 hoặc SEQ ID NO: 83, hoặc phần chức năng của nó.

Phương án 16. Cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 1, trong đó phân tử ARN không mã hóa được mã hóa bởi trình tự ADN có thể phiên mã là tiền chất miARN hoặc siARN mà được xử lý hoặc phân cắt ở tế bào thực vật để tạo thành miARN hoặc siARN thuần thục.

Phương án 17. Vectơ biến nạp gồm cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 1.

Phương án 18. Cây ngũ cốc chuyển gen, bộ phận cây hoặc tế bào cây gồm cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 1.

Phương án 19. Cây ngũ cốc chuyển gen theo phương án 18, trong đó cây chuyển gen này có một hoặc nhiều đặc điểm sau đây so với cây đối chứng: chiều cao cây thấp hơn, đường kính thân/cuống tăng, khả năng chống đổ được cải thiện, rễ sâu hơn, diện tích lá tăng, khép tán sớm hơn, độ dẫn khí khổng cao hơn, chiều cao bắp thấp hơn, hàm lượng nước ở lá tăng, khả năng chịu hạn hán được cải thiện, năng suất sử dụng nitơ được cải thiện, diện tích và hàm lượng anthoxyanin ở lá giảm dưới điều kiện áp lực bình thường hoặc hạn chế nitơ hoặc hạn chế nước, trọng lượng bắp tăng, chỉ số thu hoạch tăng, sản lượng tăng, số lượng hạt tăng, trọng lượng hạt tăng, và/hoặc năng suất tăng.

Phương án 20. Cây ngũ cốc chuyển gen theo phương án 18, trong đó cây chuyển gen này có chiều cao cây thấp hơn và/hoặc khả năng chống đổ được cải thiện.

Phương án 21. Cây ngũ cốc chuyển gen theo phương án 18, trong đó chiều cao của cây chuyển gen thấp hơn ít nhất 10%, ít nhất 20%, ít nhất 25%, ít nhất 30%, ít nhất 35%, hoặc ít nhất 40% so với cây đối chứng kiểu dại.

Phương án 22. Cây ngũ cốc chuyển gen theo phương án 18, trong đó đường kính thân hoặc cuống của cây chuyển gen ở một hoặc nhiều gióng thân lớn hơn ít nhất 5%, ít nhất 10%, ít nhất 15%, ít nhất 20%, ít nhất 25%, ít nhất 30%, ít nhất 35%, hoặc ít nhất 40% so với đường kính thân hoặc cuống ở cùng một hoặc nhiều gióng của cây đối chứng kiểu dại.

Phương án 23. Cây ngũ cốc chuyển gen theo phương án 18, trong đó cây ngũ cốc chuyển gen là cây ngô, và trong đó đường kính thân hoặc cuống của cây ngô chuyển gen ở một hoặc nhiều gióng thứ nhất, thứ hai, thứ ba, và/hoặc thứ tư phía dưới bắp lớn hơn ít nhất 5%, ít nhất 10%, ít nhất 15%, ít nhất 20%, ít nhất 25%, ít nhất 30%, ít nhất 35%, hoặc ít nhất 40% so với cùng gióng của cây đối chứng kiểu dại.

Phương án 24. Cây ngũ cốc chuyển gen theo phương án 18, trong đó mức của một hoặc nhiều GA hoạt động ở ít nhất một mô gióng của thân hoặc cuống của cây chuyển gen là thấp hơn so với cùng mô gióng của cây đối chứng kiểu dại.

Phương án 25. Cây ngũ cốc chuyển gen theo phương án 18, trong đó mức của một hoặc nhiều GA hoạt động ở ít nhất một mô gióng của thân hoặc cuống của cây chuyển gen

là thấp hơn ít nhất 5%, ít nhất 10%, ít nhất 15%, ít nhất 20%, ít nhất 25%, ít nhất 30%, ít nhất 35%, hoặc ít nhất 40% so với cùng mô gióng của cây đối chứng kiểu dại.

Phương án 26. Cây ngô chuyển gen, bộ phận cây hoặc tế bào cây gồm cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 1.

Phương án 27. Phương pháp sản xuất cây ngũ cốc chuyển gen, bao gồm: (a) biến nạp ít nhất một tế bào của mảnh cấy bằng cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 1, và (b) tái sinh hoặc phát triển cây ngũ cốc chuyển gen từ mảnh cấy đã biến nạp.

Phương án 28. Phương pháp theo phương án 25, trong đó cây ngũ cốc được biến nạp bằng hạt bắn phá hoặc biến nạp qua trung gian *Agrobacterium*.

Phương án 29. Cấu trúc ADN tái tổ hợp gồm trình tự ADN có thể phiên mã mã hóa phân tử ARN không mã hóa, trong đó phân tử ARN không mã hóa gồm trình tự mà bổ sung ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% cho ít nhất 15, ít nhất 16, ít nhất 17, ít nhất 18, ít nhất 19, ít nhất 20, ít nhất 21, ít nhất 22, ít nhất 23, ít nhất 24, ít nhất 25, ít nhất 26, hoặc ít nhất 27 nucleotit liên tiếp của phân tử mARN mã hóa protein GA20 oxidaza nội sinh ở cây một lá mầm hoặc ngũ cốc hoặc tế bào cây, protein GA20 oxidaza nội sinh tương đồng ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% với SEQ ID NO: 15, và trong đó trình tự ADN có thể phiên mã được liên kết hoạt động với đoạn khởi đầu biểu hiện được ở thực vật.

Phương án 30. Cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 29, trong đó phân tử ARN không mã hóa gồm trình tự mà bổ sung ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% cho ít nhất 15, ít nhất 16, ít nhất 17, ít nhất 18, ít nhất 19, ít nhất 20, ít nhất 21, ít nhất 22, ít nhất 23, ít nhất 24, ít nhất 25, ít nhất 26, hoặc ít nhất 27 nucleotit liên tiếp của SEQ ID NO: 13 hoặc SEQ ID NO: 14.

Phương án 31. Cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 29, trong đó đoạn khởi đầu biểu hiện được ở thực vật là đoạn khởi đầu mạch.

Phương án 32. Cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 31, trong đó đoạn khởi đầu mạch gồm một trong số sau đây: đoạn khởi đầu sucroza synthaza, đoạn khởi đầu vận chuyển sucroza, đoạn khởi đầu Sh1, đoạn khởi đầu của virut đốm vàng ở chi thài lài (CoYMV), đoạn khởi đầu vùng liên gen lớn (large intergenic region-LIR) của geminivirut

gây bệnh lùn ở cây lúa mì (wheat dwarf geminivirus-WDV), đoạn khởi đầu protein vỏ (coat protein-CP) của geminivirut sọc lá ngô (maize streak geminivirus-MSV), đoạn khởi đầu giống sọc vàng 1 (yellow stripe 1-YS1) ở lúa, hoặc đoạn khởi đầu sọc vàng 2 (OsYSL2) ở lúa.

Phương án 33. Cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 31, trong đó đoạn khởi đầu mạch gồm trình tự ADN mà tương đồng ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5% hoặc 100% với một hoặc nhiều SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 70, hoặc SEQ ID NO: 71, hoặc phần chức năng của nó.

Phương án 34. Cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 29, trong đó đoạn khởi đầu biểu hiện được ở thực vật là đoạn khởi đầu RTBV.

Phương án 35. Cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 34, trong đó đoạn khởi đầu biểu hiện được ở thực vật gồm trình tự ADN mà tương đồng ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5% hoặc 100% với một hoặc nhiều SEQ ID NO: 65 hoặc SEQ ID NO: 66, hoặc phần chức năng của nó.

Phương án 36. Cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 29, trong đó đoạn khởi đầu biểu hiện được ở thực vật là đoạn khởi đầu của lá.

Phương án 37. Cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 36, trong đó đoạn khởi đầu của lá gồm một trong số sau đây: đoạn khởi đầu RuBisCO, đoạn khởi đầu PPDK, đoạn khởi đầu FDA, đoạn khởi đầu Nadh-Gogat, đoạn khởi đầu gen của protein gắn kết chất diệp lục a/b, đoạn khởi đầu phosphoenolpyruvat carboxylaza (PEPC), hoặc đoạn khởi đầu gen Myb.

Phương án 38. Cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 36, trong đó đoạn khởi đầu của lá gồm trình tự ADN mà tương đồng ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5% hoặc 100% với một hoặc nhiều SEQ ID NO: 72, SEQ ID NO: 73 hoặc SEQ ID NO: 74, hoặc phần chức năng của nó.

Phương án 39. Cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 29, trong đó đoạn khởi đầu biểu hiện được ở thực vật là đoạn khởi đầu cơ định.

Phương án 40. Cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 39, trong đó đoạn khởi đầu cơ định được chọn từ nhóm gồm: đoạn khởi đầu actin, đoạn khởi đầu CaMV 35S hoặc 19S, đoạn khởi đầu ubiquitin thực vật, đoạn khởi đầu Gos2 thực vật, đoạn khởi đầu FMV, đoạn khởi đầu CMV, đoạn khởi đầu MMV, đoạn khởi đầu PCLSV, đoạn khởi đầu Emu, đoạn khởi đầu tubulin, đoạn khởi đầu nopalin synthaza, đoạn khởi đầu octopin synthaza, đoạn khởi đầu mannopin synthaza, hoặc rượu dehydrogenaza ngô, hoặc phần chức năng của nó.

Phương án 41. Cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 39, trong đó đoạn khởi đầu cơ định gồm trình tự ADN mà tương đồng ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5% hoặc 100% với một hoặc nhiều SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 82 hoặc SEQ ID NO: 83, hoặc phần chức năng của nó.

Phương án 42. Cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 29, trong đó phân tử ARN không mã hóa được mã hóa bởi trình tự ADN có thể phiên mã là tiền chất miARN hoặc siARN mà được xử lý hoặc phân cắt ở tế bào thực vật để tạo thành miARN hoặc siARN thuần thục.

Phương án 43. Vectơ biến nạp gồm cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 29.

Phương án 44. Cây ngũ cốc chuyển gen, bộ phận cây hoặc tế bào cây gồm cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 29.

Phương án 45. Cây ngũ cốc chuyển gen theo phương án 44, trong đó cây chuyển gen này có một hoặc nhiều đặc điểm sau đây so với cây đối chứng: chiều cao cây thấp hơn, đường kính thân/cuống tăng, khả năng chống đổ được cải thiện, rễ sâu hơn, diện tích lá tăng, khép tán sớm hơn, độ dẫn khí khổng cao hơn, chiều cao bắp thấp hơn, hàm lượng nước ở lá tăng, khả năng chịu hạn hán được cải thiện, năng suất sử dụng nitơ được cải thiện, diện tích và hàm lượng anthoxyanin ở lá giảm dưới điều kiện áp lực bình thường hoặc hạn chế nitơ hoặc hạn chế nước, trọng lượng bắp tăng, chỉ số thu hoạch tăng, sản lượng tăng, số lượng hạt tăng, trọng lượng hạt tăng, và/hoặc năng suất tăng.

Phương án 46. Cây ngũ cốc chuyển gen theo phương án 44, trong đó cây chuyển gen này có chiều cao cây thấp hơn và/hoặc khả năng chống đổ được cải thiện.

Phương án 47. Cây ngũ cốc chuyển gen theo phương án 44, trong đó chiều cao của cây chuyển gen thấp hơn ít nhất 10%, ít nhất 20%, ít nhất 25%, ít nhất 30%, ít nhất 35%, hoặc ít nhất 40% so với cây đối chứng kiểu dại.

Phương án 48. Cây ngũ cốc chuyển gen theo phương án 44, trong đó đường kính thân hoặc cuống của cây chuyển gen ở một hoặc nhiều gióng thân lớn hơn ít nhất 5%, ít nhất 10%, ít nhất 15%, ít nhất 20%, ít nhất 25%, ít nhất 30%, ít nhất 35%, hoặc ít nhất 40% so với đường kính thân hoặc cuống ở cùng một hoặc nhiều gióng của cây đối chứng kiểu dại.

Phương án 49. Cây ngũ cốc chuyển gen theo phương án 44, trong đó cây ngũ cốc chuyển gen là cây ngô, và trong đó đường kính thân hoặc cuống của cây ngô chuyển gen ở một hoặc nhiều gióng thứ nhất, thứ hai, thứ ba, và/hoặc thứ tư phía dưới bắp lớn hơn ít nhất 5%, ít nhất 10%, ít nhất 15%, ít nhất 20%, ít nhất 25%, ít nhất 30%, ít nhất 35%, hoặc ít nhất 40% so với cùng gióng của cây đối chứng kiểu dại.

Phương án 50. Cây ngũ cốc chuyển gen theo phương án 44, trong đó mức của một hoặc nhiều GA hoạt động ở ít nhất một mô gióng của thân hoặc cuống của cây chuyển gen là thấp hơn so với cùng mô gióng của cây đối chứng kiểu dại.

Phương án 51. Cây ngũ cốc chuyển gen theo phương án 44, trong đó mức của một hoặc nhiều GA hoạt động ở ít nhất một mô gióng của thân hoặc cuống của cây chuyển gen là thấp hơn ít nhất 5%, ít nhất 10%, ít nhất 15%, ít nhất 20%, ít nhất 25%, ít nhất 30%, ít nhất 35%, hoặc ít nhất 40% so với cùng mô gióng của cây đối chứng kiểu dại.

Phương án 52. Cây ngô chuyển gen, bộ phận cây hoặc tế bào cây gồm cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 29.

Phương án 53. Phương pháp sản xuất cây ngũ cốc chuyển gen, bao gồm: (a) biến nạp ít nhất một tế bào của mảnh cấy bằng cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 29, và (b) tái sinh hoặc phát triển cây ngũ cốc chuyển gen từ mảnh cấy đã biến nạp.

Phương án 54. Phương pháp theo phương án 29, trong đó cây ngũ cốc được biến nạp bằng hạt bắn phá hoặc biến nạp qua trung gian *Agrobacterium*.

Phương án 55. Cấu trúc ADN tái tổ hợp gồm trình tự ADN có thể phiên mã mã hóa phân tử ARN không mã hóa, trong đó phân tử ARN không mã hóa gồm trình tự mà bổ sung ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% cho ít nhất 15, ít nhất 16, ít nhất 17, ít nhất 18, ít nhất 19, ít nhất 20, ít

nhất 21, ít nhất 22, ít nhất 23, ít nhất 24, ít nhất 25, ít nhất 26, hoặc ít nhất 27 nucleotit liên tiếp của phân tử mARN mã hóa protein GA3 oxidaza nội sinh ở cây một lá mầm hoặc ngũ cốc hoặc tế bào cây, protein GA3 oxidaza nội sinh tương đồng ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% với SEQ ID NO: 30 hoặc 33, và trong đó trình tự ADN có thể phiên mã được liên kết hoạt động với đoạn khởi đầu biểu hiện được ở thực vật.

Phương án 56. Cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 55, trong đó phân tử ARN không mã hóa gồm trình tự mà bổ sung ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% cho ít nhất 15, ít nhất 16, ít nhất 17, ít nhất 18, ít nhất 19, ít nhất 20, ít nhất 21, ít nhất 22, ít nhất 23, ít nhất 24, ít nhất 25, ít nhất 26, hoặc ít nhất 27 nucleotit liên tiếp của SEQ ID NO: 28, 29, 31 hoặc 32.

Phương án 57. Cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 55, trong đó đoạn khởi đầu biểu hiện được ở thực vật là đoạn khởi đầu mạch.

Phương án 58. Cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 57, trong đó đoạn khởi đầu mạch gồm một trong số sau đây: đoạn khởi đầu sucroza synthaza, đoạn khởi đầu vận chuyển sucroza, đoạn khởi đầu Sh1, đoạn khởi đầu của virut đốm vàng ở chi thài lài (CoYMV), đoạn khởi đầu vùng liên gen lớn (large intergenic region-LIR) của geminivirut gây bệnh lùn ở cây lúa mì (wheat dwarf geminivirus-WDV), đoạn khởi đầu protein vỏ (coat protein-CP) của geminivirut sọc lá ngô (maize streak geminivirus-MSV), đoạn khởi đầu giống sọc vàng 1 (yellow stripe 1-YS1) ở lúa, hoặc đoạn khởi đầu sọc vàng 2 (OsYSL2) ở lúa.

Phương án 59. Cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 57, trong đó đoạn khởi đầu mạch gồm trình tự ADN mà tương đồng ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5% hoặc 100% với một hoặc nhiều SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 70, hoặc SEQ ID NO: 71, hoặc phần chức năng của nó.

Phương án 60. Cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 55, trong đó đoạn khởi đầu biểu hiện được ở thực vật là đoạn khởi đầu RTBV.

Phương án 61. Cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 60, trong đó đoạn khởi đầu biểu hiện được ở thực vật gồm trình tự ADN mà tương đồng ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít

nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5% hoặc 100% với một hoặc nhiều SEQ ID NO: 65 hoặc SEQ ID NO: 66, hoặc phần chức năng của nó.

Phương án 62. Cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 55, trong đó đoạn khởi đầu biểu hiện được ở thực vật là đoạn khởi đầu của lá.

Phương án 63. Cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 62, trong đó đoạn khởi đầu của lá gồm một trong số sau đây: đoạn khởi đầu RuBisCO, đoạn khởi đầu PPDK, đoạn khởi đầu FDA, đoạn khởi đầu Nadh-Gogat, đoạn khởi đầu gen của protein gắn kết chất diệp lục a/b, đoạn khởi đầu phosphoenolpyruvat carboxylaza (PEPC), hoặc đoạn khởi đầu gen Myb.

Phương án 64. Cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 62, trong đó đoạn khởi đầu của lá gồm trình tự ADN mà tương đồng ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5% hoặc 100% với một hoặc nhiều SEQ ID NO: 72, SEQ ID NO: 73 hoặc SEQ ID NO: 74, hoặc phần chức năng của nó.

Phương án 65. Cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 55, trong đó đoạn khởi đầu biểu hiện được ở thực vật là đoạn khởi đầu cơ định.

Phương án 66. Cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 65, trong đó đoạn khởi đầu cơ định được chọn từ nhóm gồm: đoạn khởi đầu actin, đoạn khởi đầu CaMV 35S hoặc 19S, đoạn khởi đầu ubiquitin thực vật, đoạn khởi đầu Gos2 thực vật, đoạn khởi đầu FMV, đoạn khởi đầu CMV, đoạn khởi đầu MMV, đoạn khởi đầu PCLSV, đoạn khởi đầu Emu, đoạn khởi đầu tubulin, đoạn khởi đầu nopalin synthaza, đoạn khởi đầu octopin synthaza, đoạn khởi đầu mannopin synthaza, hoặc rượu dehydrogenaza ngô, hoặc phần chức năng của nó.

Phương án 67. Cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 65, trong đó đoạn khởi đầu cơ định gồm trình tự ADN mà tương đồng ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5% hoặc 100% với một hoặc nhiều SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 82 hoặc SEQ ID NO: 83, hoặc phần chức năng của nó.

Phương án 68. Cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 55, trong đó phân tử ARN không mã hóa được mã hóa bởi trình tự ADN có thể phiên mã là tiền chất miARN hoặc siARN mà được xử lý hoặc phân cắt ở tế bào thực vật để tạo thành miARN hoặc siARN thuần thục.

Phương án 69. Vectơ biến nạp gồm cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 55.

Phương án 70. Cây ngũ cốc chuyển gen, bộ phận cây hoặc tế bào cây gồm cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 55.

Phương án 71. Cây ngũ cốc chuyển gen theo phương án 70, trong đó cây chuyển gen này có một hoặc nhiều đặc điểm sau đây so với cây đối chứng: chiều cao cây thấp hơn, đường kính thân/cuống tăng, khả năng chống đổ được cải thiện, rễ sâu hơn, diện tích lá tăng, khép tán sớm hơn, độ dẫn khí khổng cao hơn, chiều cao bắp thấp hơn, hàm lượng nước ở lá tăng, khả năng chịu hạn hán được cải thiện, năng suất sử dụng nitơ được cải thiện, diện tích và hàm lượng anthoxyanin ở lá giảm dưới điều kiện áp lực bình thường hoặc hạn chế nitơ hoặc hạn chế nước, trọng lượng bắp tăng, chỉ số thu hoạch tăng, sản lượng tăng, số lượng hạt tăng, trọng lượng hạt tăng, và/hoặc năng suất tăng.

Phương án 72. Cây ngũ cốc chuyển gen theo phương án 70, trong đó cây chuyển gen này có chiều cao cây thấp hơn và/hoặc khả năng chống đổ được cải thiện.

Phương án 73. Cây ngũ cốc chuyển gen theo phương án 70, trong đó chiều cao của cây chuyển gen thấp hơn ít nhất 10%, ít nhất 20%, ít nhất 25%, ít nhất 30%, ít nhất 35%, hoặc ít nhất 40% so với cây đối chứng kiểu dại.

Phương án 74. Cây ngũ cốc chuyển gen theo phương án 70, trong đó đường kính thân hoặc cuống của cây chuyển gen ở một hoặc nhiều gióng thân lớn hơn ít nhất 5%, ít nhất 10%, ít nhất 15%, ít nhất 20%, ít nhất 25%, ít nhất 30%, ít nhất 35%, hoặc ít nhất 40% so với đường kính thân hoặc cuống ở cùng một hoặc nhiều gióng của cây đối chứng kiểu dại.

Phương án 75. Cây ngũ cốc chuyển gen theo phương án 70, trong đó cây ngũ cốc chuyển gen là cây ngô, và trong đó đường kính thân hoặc cuống của cây ngô chuyển gen ở một hoặc nhiều gióng thứ nhất, thứ hai, thứ ba, và/hoặc thứ tư phía dưới bắp lớn hơn ít nhất 5%, ít nhất 10%, ít nhất 15%, ít nhất 20%, ít nhất 25%, ít nhất 30%, ít nhất 35%, hoặc ít nhất 40% so với cùng gióng của cây đối chứng kiểu dại.

Phương án 76. Cây ngũ cốc chuyển gen theo phương án 70, trong đó mức của một hoặc nhiều GA hoạt động ở ít nhất một mô gióng của thân hoặc cuống của cây chuyển gen là thấp hơn so với cùng mô gióng của cây đối chứng kiểu dại.

Phương án 77. Cây ngũ cốc chuyển gen theo phương án 70, trong đó mức của một hoặc nhiều GA hoạt động ở ít nhất một mô gióng của thân hoặc cuống của cây chuyển gen là thấp hơn ít nhất 5%, ít nhất 10%, ít nhất 15%, ít nhất 20%, ít nhất 25%, ít nhất 30%, ít nhất 35%, hoặc ít nhất 40% so với cùng mô gióng của cây đối chứng kiểu dại.

Phương án 78. Cây ngô chuyển gen, bộ phận cây hoặc tế bào cây gồm cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 55.

Phương án 79. Phương pháp sản xuất cây ngũ cốc chuyển gen, bao gồm: (a) biến nạp ít nhất một tế bào của mảnh cấy bằng cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 55, và (b) tái sinh hoặc phát triển cây ngũ cốc chuyển gen từ mảnh cấy đã biến nạp.

Phương án 80. Phương pháp theo phương án 79, trong đó cây ngũ cốc được biến nạp bằng hạt bắn phá hoặc biến nạp qua trung gian *Agrobacterium*.

Phương án 81. Cấu trúc ADN tái tổ hợp gồm trình tự ADN có thể phiên mã mã hóa phân tử ARN không mã hóa, trong đó phân tử ARN không mã hóa gồm trình tự mà bổ sung ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% cho ít nhất 15, ít nhất 16, ít nhất 17, ít nhất 18, ít nhất 19, ít nhất 20, ít nhất 21, ít nhất 22, ít nhất 23, ít nhất 24, ít nhất 25, ít nhất 26, hoặc ít nhất 27 nucleotit liên tiếp của phân tử mARN mã hóa protein GA20 oxidaza nội sinh ở cây một lá mầm hoặc ngũ cốc hoặc tế bào cây, protein GA20 oxidaza nội sinh tương đồng ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% với SEQ ID NO: 12, và trong đó trình tự ADN có thể phiên mã được liên kết hoạt động với đoạn khởi đầu biểu hiện được ở thực vật.

Phương án 82. Cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 81, trong đó phân tử ARN không mã hóa gồm trình tự mà bổ sung ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% cho ít nhất 15, ít nhất 16, ít nhất 17, ít nhất 18, ít nhất 19, ít nhất 20, ít nhất 21, ít nhất 22, ít nhất 23, ít nhất 24, ít nhất 25, ít nhất 26, hoặc ít nhất 27 nucleotit liên tiếp của SEQ ID NO: 10 hoặc 11.

Phương án 83. Cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 81, trong đó đoạn khởi đầu biểu hiện được ở thực vật là đoạn khởi đầu mạch.

Phương án 84. Cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 83, trong đó đoạn khởi đầu mạch gồm một trong số sau đây: đoạn khởi đầu sucroza synthaza, đoạn khởi đầu vận chuyển sucroza, đoạn khởi đầu Sh1, đoạn khởi đầu của virut đốm vàng ở chi thài lài (CoYMV), đoạn khởi đầu vùng liên gen lớn (large intergenic region-LIR) của geminivirut gây bệnh lùn ở cây lúa mì (wheat dwarf geminivirus-WDV), đoạn khởi đầu protein vỏ (coat protein-CP) của geminivirut sọc lá ngô (maize streak geminivirus-MSV), đoạn khởi đầu giống sọc vàng 1 (yellow stripe 1-YS1) ở lúa, hoặc đoạn khởi đầu sọc vàng 2 (OsYSL2) ở lúa.

Phương án 85. Cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 83, trong đó đoạn khởi đầu mạch gồm trình tự ADN mà tương đồng ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5% hoặc 100% với một hoặc nhiều SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 70, hoặc SEQ ID NO: 71, hoặc phần chức năng của nó.

Phương án 86. Cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 81, trong đó đoạn khởi đầu biểu hiện được ở thực vật là đoạn khởi đầu RTBV.

Phương án 87. Cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 86, trong đó đoạn khởi đầu biểu hiện được ở thực vật gồm trình tự ADN mà tương đồng ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5% hoặc 100% với một hoặc nhiều SEQ ID NO: 65 hoặc SEQ ID NO: 66, hoặc phần chức năng của nó.

Phương án 88. Cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 81, trong đó đoạn khởi đầu biểu hiện được ở thực vật là đoạn khởi đầu của lá.

Phương án 89. Cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 88, trong đó đoạn khởi đầu của lá gồm một trong số sau đây: đoạn khởi đầu RuBisCO, đoạn khởi đầu PPDK, đoạn khởi đầu FDA, đoạn khởi đầu Nadh-Gogat, đoạn khởi đầu gen của protein gắn kết chất diệp lục a/b, đoạn khởi đầu phosphoenolpyruvat carboxylaza (PEPC), hoặc đoạn khởi đầu gen Myb.

Phương án 90. Cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 88, trong đó đoạn khởi đầu của lá gồm trình tự ADN mà tương đồng ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5% hoặc 100% với một hoặc nhiều SEQ ID NO: 72, SEQ ID NO: 73 hoặc SEQ ID NO: 74, hoặc phần chức năng của nó.

Phương án 91. Cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 81, trong đó đoạn khởi đầu biểu hiện được ở thực vật là đoạn khởi đầu cơ định.

Phương án 92. Cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 91, trong đó đoạn khởi đầu cơ định được chọn từ nhóm gồm: đoạn khởi đầu actin, đoạn khởi đầu CaMV 35S hoặc 19S, đoạn khởi đầu ubiquitin thực vật, đoạn khởi đầu Gos2 thực vật, đoạn khởi đầu FMV, đoạn khởi đầu CMV, đoạn khởi đầu MMV, đoạn khởi đầu PCLSV, đoạn khởi đầu Emu, đoạn khởi đầu tubulin, đoạn khởi đầu nopalin synthaza, đoạn khởi đầu octopin synthaza, đoạn khởi đầu mannopin synthaza, hoặc rượu dehydrogenaza ngô, hoặc phần chức năng của nó.

Phương án 93. Cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 91, trong đó đoạn khởi đầu cơ định gồm trình tự ADN mà tương đồng ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5% hoặc 100% với một hoặc nhiều SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 82 hoặc SEQ ID NO: 83, hoặc phần chức năng của nó.

Phương án 94. Cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 81, trong đó phân tử ARN không mã hóa được mã hóa bởi trình tự ADN có thể phiên mã là tiền chất miARN hoặc siARN mà được xử lý hoặc phân cắt ở tế bào thực vật để tạo thành miARN hoặc siARN thuần thục.

Phương án 95. Vectơ biến nạp gồm cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 81.

Phương án 96. Cây ngũ cốc chuyển gen, bộ phận cây hoặc tế bào cây gồm cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 81.

Phương án 97. Cây ngũ cốc chuyển gen theo phương án 96, trong đó cây chuyển gen này có một hoặc nhiều đặc điểm sau đây so với cây đối chứng: chiều cao cây thấp hơn, đường kính thân/cuống tăng, khả năng chống đổ được cải thiện, rễ sâu hơn, diện tích lá tăng, khép tán sớm hơn, độ dẫn khí khổng cao hơn, chiều cao bắp thấp hơn, hàm lượng

nước ở lá tăng, khả năng chịu hạn hán được cải thiện, năng suất sử dụng nitơ được cải thiện, diện tích và hàm lượng anthoxyanin ở lá giảm dưới điều kiện áp lực bình thường hoặc hạn chế nitơ hoặc hạn chế nước, trọng lượng bắp tăng, chỉ số thu hoạch tăng, sản lượng tăng, số lượng hạt tăng, trọng lượng hạt tăng, và/hoặc năng suất tăng.

Phương án 98. Cây ngũ cốc chuyển gen theo phương án 96, trong đó cây chuyển gen này có chiều cao cây thấp hơn và/hoặc khả năng chống đổ được cải thiện.

Phương án 99. Cây ngũ cốc chuyển gen theo phương án 96, trong đó chiều cao của cây chuyển gen thấp hơn ít nhất 10%, ít nhất 20%, ít nhất 25%, ít nhất 30%, ít nhất 35%, hoặc ít nhất 40% so với cây đối chứng kiểu dại.

Phương án 100. Cây ngũ cốc chuyển gen theo phương án 96, trong đó đường kính thân hoặc cuống của cây chuyển gen ở một hoặc nhiều gióng thân lớn hơn ít nhất 5%, ít nhất 10%, ít nhất 15%, ít nhất 20%, ít nhất 25%, ít nhất 30%, ít nhất 35%, hoặc ít nhất 40% so với đường kính thân hoặc cuống ở cùng một hoặc nhiều gióng của cây đối chứng kiểu dại.

Phương án 101. Cây ngũ cốc chuyển gen theo phương án 96, trong đó cây ngũ cốc chuyển gen là cây ngô, và trong đó đường kính thân hoặc cuống của cây ngô chuyển gen ở một hoặc nhiều gióng thứ nhất, thứ hai, thứ ba, và/hoặc thứ tư phía dưới bắp lớn hơn ít nhất 5%, ít nhất 10%, ít nhất 15%, ít nhất 20%, ít nhất 25%, ít nhất 30%, ít nhất 35%, hoặc ít nhất 40% so với cùng gióng của cây đối chứng kiểu dại.

Phương án 102. Cây ngũ cốc chuyển gen theo phương án 96, trong đó mức của một hoặc nhiều GA hoạt động ở ít nhất một mô gióng của thân hoặc cuống của cây chuyển gen là thấp hơn so với cùng mô gióng của cây đối chứng kiểu dại.

Phương án 103. Cây ngũ cốc chuyển gen theo phương án 96, trong đó mức của một hoặc nhiều GA hoạt động ở ít nhất một mô gióng của thân hoặc cuống của cây chuyển gen là thấp hơn ít nhất 5%, ít nhất 10%, ít nhất 15%, ít nhất 20%, ít nhất 25%, ít nhất 30%, ít nhất 35%, hoặc ít nhất 40% so với cùng mô gióng của cây đối chứng kiểu dại.

Phương án 104. Cây ngô chuyển gen, bộ phận cây hoặc tế bào cây gồm cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 81.

Phương án 105. Phương pháp sản xuất cây ngũ cốc chuyển gen, bao gồm: (a) biến nạp ít nhất một tế bào của mảnh cấy bằng cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 81, và (b) tái sinh hoặc phát triển cây ngũ cốc chuyển gen từ mảnh cấy đã biến nạp.

Phương án 106. Phương pháp theo phương án 105, trong đó cây ngũ cốc được biến nạp bằng hạt bắn phá hoặc biến nạp qua trung gian *Agrobacterium*.

Phương án 107. Cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 1, 29, 55 hoặc 81, trong đó phân tử ARN không mã hóa gồm trình tự mà bổ sung ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% cho ít nhất 15, ít nhất 16, ít nhất 17, ít nhất 18, ít nhất 19, ít nhất 20, ít nhất 21, ít nhất 22, ít nhất 23, ít nhất 24, ít nhất 25, ít nhất 26, hoặc ít nhất 27 nucleotit liên tiếp của phân tử mARN mã hóa protein GA oxidaza nội sinh ở cây một lá mầm hoặc ngũ cốc hoặc tế bào cây, protein GA oxidaza nội sinh tương đồng ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% với một hoặc nhiều SEQ ID NO: 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24, 27, 30 và 33.

Phương án 108. Cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 107, trong đó phân tử ARN không mã hóa gồm trình tự mà bổ sung ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% cho ít nhất 15, ít nhất 16, ít nhất 17, ít nhất 18, ít nhất 19, ít nhất 20, ít nhất 21, ít nhất 22, ít nhất 23, ít nhất 24, ít nhất 25, ít nhất 26, hoặc ít nhất 27 nucleotit liên tiếp của một hoặc nhiều SEQ ID NO: 1, 2, 4, 5, 7, 8, 10, 11, 13, 14, 16, 17, 19, 20, 22, 23, 25, 26, 28, 29, 31, và 32.

Phương án 109. Cấu trúc ADN tái tổ hợp gồm trình tự ADN có thể phiên mã mã hóa phân tử ARN không mã hóa, trong đó phân tử ARN không mã hóa gồm trình tự mà bổ sung ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% cho ít nhất 15, ít nhất 16, ít nhất 17, ít nhất 18, ít nhất 19, ít nhất 20, ít nhất 21, ít nhất 22, ít nhất 23, ít nhất 24, ít nhất 25, ít nhất 26, hoặc ít nhất 27 nucleotit liên tiếp của phân tử mARN mã hóa protein nội sinh ở cây một lá mầm hoặc ngũ cốc hoặc tế bào cây, protein nội sinh tương đồng ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% với SEQ ID NO: 86, 90, 94, 97, 101, 104, 108, 112, 116, 118, 121, 125, 129, 133, hoặc 136, và trong đó trình tự ADN có thể phiên mã được liên kết hoạt động với đoạn khởi đầu biểu hiện được ở thực vật.

Phương án 110. Cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 109, trong đó phân tử ARN không mã hóa gồm trình tự mà bổ sung ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% cho ít nhất 15, ít nhất 16, ít nhất 17, ít

nhất 18, ít nhất 19, ít nhất 20, ít nhất 21, ít nhất 22, ít nhất 23, ít nhất 24, ít nhất 25, ít nhất 26, hoặc ít nhất 27 nucleotit liên tiếp của SEQ ID NO: 84, 85, 87, 88, 89, 91, 92, 93, 95, 96, 98, 99, 100, 102, 103, 105, 106, 107, 109, 110, 111, 113, 114, 115, 119, 120, 122, 123, 124, 126, 127, 128, 130, 131, 132, 134, 135, hoặc 137.

Phương án 111. Cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 109, trong đó đoạn khởi đầu biểu hiện được ở thực vật là đoạn khởi đầu mạch.

Phương án 112. Cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 109, trong đó đoạn khởi đầu biểu hiện được ở thực vật là đoạn khởi đầu RTBV.

Phương án 113. Cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 109, trong đó đoạn khởi đầu biểu hiện được ở thực vật là đoạn khởi đầu của lá.

Phương án 114. Cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 109, trong đó đoạn khởi đầu biểu hiện được ở thực vật là đoạn khởi đầu cơ định.

Phương án 115. Vectơ biến nạp gồm cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 81.

Phương án 116. Cây ngũ cốc chuyển gen, bộ phận cây hoặc tế bào cây gồm cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 109.

Phương án 117. Cây ngũ cốc chuyển gen theo phương án 116, trong đó cây chuyển gen này có chiều cao cây thấp hơn và/hoặc khả năng chống đổ được cải thiện.

Phương án 118. Cây ngũ cốc chuyển gen theo phương án 116, trong đó mức của một hoặc nhiều GA hoạt động ở ít nhất một mô gióng của thân hoặc cuống của cây chuyển gen là thấp hơn so với cùng mô gióng của cây đối chứng kiểu dại.

Phương án 119. Phương pháp sản xuất cây ngũ cốc chuyển gen, bao gồm: (a) biến nạp ít nhất một tế bào của mảnh cấy bằng cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 116, và (b) tái sinh hoặc phát triển cây ngũ cốc chuyển gen từ mảnh cấy đã biến nạp.

Phương án 120. Phương pháp theo phương án 119, trong đó cây ngũ cốc được biến nạp bằng hạt bắn phá hoặc biến nạp qua trung gian *Agrobacterium*.

Phương án 121. Phương pháp làm giảm mức của ít nhất một phân tử GA hoạt động ở thân hoặc cuống của cây ngô hoặc ngũ cốc bao gồm: ức chế một hoặc nhiều gen GA3 oxidaza hoặc GA20 oxidaza bằng cấu trúc ADN tái tổ hợp ở một hoặc nhiều mô của cây ngô hoặc ngũ cốc chuyển gen.

Phương án 122. Phương pháp theo phương án 121, trong đó cấu trúc ADN tái tổ hợp này mã hóa phân tử ARN không mã hóa mà nhắm đích một hoặc nhiều gen GA3 hoặc GA20 oxidaza để ức chế, trong đó trình tự ADN có thể phiên mã được liên kết hoạt động với đoạn khởi đầu biểu hiện được ở thực vật.

Phương án 123. Phương pháp theo phương án 122, trong đó đoạn khởi đầu biểu hiện được ở thực vật là đoạn khởi đầu mạch.

Phương án 124. Phương pháp theo phương án 122, trong đó đoạn khởi đầu biểu hiện được ở thực vật là đoạn khởi đầu RTBV.

Phương án 125. Phương pháp theo phương án 122, trong đó đoạn khởi đầu biểu hiện được ở thực vật là đoạn khởi đầu cơ định.

Phương án 126. Phương pháp theo phương án 122, trong đó đoạn khởi đầu biểu hiện được ở thực vật là đoạn khởi đầu của lá.

Phương án 127. Phương pháp theo phương án 121, trong đó cây ngô hoặc ngũ cốc chuyển gen là cây ngô.

Phương án 128. Cây ngô hoặc ngũ cốc chuyển gen gồm cấu trúc ADN tái tổ hợp, trong đó cấu trúc ADN tái tổ hợp này gồm trình tự ADN có thể phiên mã mã hóa phân tử ARN không mã hóa mà nhắm đích ít nhất một gen GA20 hoặc GA3 oxidaza nội sinh để ức chế, trình tự ADN có thể phiên mã được liên kết hoạt động với đoạn khởi đầu biểu hiện được ở thực vật, và trong đó cây một lá mầm hoặc ngũ cốc chuyển gen có chiều cao cây thấp hơn so với cây đối chứng kiểu dại.

Phương án 129. Cây ngô hoặc ngũ cốc chuyển gen theo phương án 128, trong đó cây chuyển gen này có một hoặc nhiều các đặc điểm bổ trợ sau đây so với cây đối chứng: đường kính thân/cuống tăng, khả năng chống đổ được cải thiện, rễ sâu hơn, diện tích lá tăng, khép tán sớm hơn, độ dẫn khí khổng cao hơn, chiều cao bắp thấp hơn, hàm lượng nước ở lá tăng, khả năng chịu hạn hán được cải thiện, năng suất sử dụng nitơ được cải thiện, diện tích và hàm lượng anthoxyanin ở lá giảm dưới điều kiện áp lực bình thường hoặc hạn chế nitơ hoặc nước, trọng lượng bắp tăng, chỉ số thu hoạch tăng, sản lượng tăng, số lượng hạt tăng, trọng lượng hạt tăng, và năng suất tăng.

Phương án 130. Cây ngô hoặc ngũ cốc chuyển gen theo phương án 128, trong đó chiều cao của cây chuyển gen thấp hơn ít nhất 10%, ít nhất 20%, ít nhất 25%, ít nhất 30%, ít nhất 35%, hoặc ít nhất 40% so với cây đối chứng.

Phương án 131. Cây ngô hoặc ngũ cốc chuyển gen theo phương án 128, trong đó đường kính thân hoặc cuống của cây chuyển gen ở một hoặc nhiều gióng thân lớn hơn ít nhất 5%, ít nhất 10%, ít nhất 15%, ít nhất 20%, ít nhất 25%, ít nhất 30%, ít nhất 35%, hoặc ít nhất 40% so với cây đối chứng.

Phương án 132. Cây ngô hoặc ngũ cốc chuyển gen theo phương án 128, trong đó mức của một hoặc nhiều GA hoạt động ở ít nhất một mô gióng của thân hoặc cuống của cây chuyển gen là thấp hơn so với cùng mô gióng của cây đối chứng.

Phương án 133. Cây ngô hoặc ngũ cốc chuyển gen theo phương án 128, trong đó mức của một hoặc nhiều GA hoạt động ở ít nhất một mô gióng của thân hoặc cuống của cây chuyển gen là thấp hơn ít nhất 5%, ít nhất 10%, ít nhất 15%, ít nhất 20%, ít nhất 25%, ít nhất 30%, ít nhất 35%, hoặc ít nhất 40% so với cùng mô gióng của cây đối chứng.

Phương án 134. Cây ngô hoặc ngũ cốc chuyển gen theo phương án 128, trong đó cây chuyển gen không có các dạng khác có nghĩa bất kỳ ở ít nhất một bắp hoặc bộ phận cái.

Phương án 135. Cây ngô hoặc ngũ cốc chuyển gen theo phương án 128, trong đó cây ngũ cốc chuyển gen là cây ngô, và trong đó phân tử ARN không mã hóa nhắm đích (các) gen GA20 oxidaza_3 và/hoặc GA20 oxidaza_5 nội sinh để ức chế.

Phương án 136. Cây ngô hoặc ngũ cốc chuyển gen theo phương án 128, trong đó đoạn khởi đầu biểu hiện được ở thực vật là đoạn khởi đầu mạch.

Phương án 137. Cây ngô hoặc ngũ cốc chuyển gen theo phương án 128, trong đó đoạn khởi đầu biểu hiện được ở thực vật là đoạn khởi đầu RTBV.

Phương án 138. Cây ngô hoặc ngũ cốc chuyển gen theo phương án 128, trong đó đoạn khởi đầu biểu hiện được ở thực vật là đoạn khởi đầu cơ định.

Phương án 139. Cây ngô hoặc ngũ cốc chuyển gen theo phương án 128, trong đó đoạn khởi đầu biểu hiện được ở thực vật là đoạn khởi đầu của lá.

Phương án 140. Cây ngô hoặc ngũ cốc chuyển gen theo phương án 128, trong đó cây chuyển gen này có một hoặc nhiều các đặc điểm bổ trợ sau đây so với cây đối chứng:

đường kính thân/cuống tăng, khả năng chống đổ được cải thiện, rễ sâu hơn, diện tích lá tăng, khép tán sớm hơn, độ dẫn khí khổng cao hơn, chiều cao bắp thấp hơn, hàm lượng nước ở lá tăng, khả năng chịu hạn hán được cải thiện, năng suất sử dụng nitơ được cải thiện, diện tích và hàm lượng anthoxyanin ở lá giảm dưới điều kiện áp lực bình thường hoặc hạn chế nitơ hoặc nước, trọng lượng bắp tăng, chỉ số thu hoạch tăng, sản lượng tăng, số lượng hạt tăng, trọng lượng hạt tăng, và năng suất tăng.

Phương án 141. Cây ngũ cốc gồm đột biến ở hoặc gần gen GA oxidaza nội sinh được đưa vào bằng kỹ thuật gây đột biến, trong đó mức độ biểu hiện của gen GA oxidaza nội sinh được làm giảm hoặc loại bỏ ở cây ngũ cốc, và trong đó cây ngũ cốc có chiều cao cây thấp hơn so với cây đối chứng kiểu dại.

Phương án 142. Cây ngũ cốc theo phương án 141, trong đó cây ngũ cốc gồm đột biến này có một hoặc nhiều các đặc điểm bổ trợ sau đây so với cây đối chứng: đường kính thân/cuống tăng, khả năng chống đổ được cải thiện, rễ sâu hơn, diện tích lá tăng, khép tán sớm hơn, độ dẫn khí khổng cao hơn, chiều cao bắp thấp hơn, hàm lượng nước ở lá tăng, khả năng chịu hạn hán được cải thiện, năng suất sử dụng nitơ được cải thiện, diện tích và hàm lượng anthoxyanin ở lá giảm dưới điều kiện áp lực bình thường hoặc hạn chế nitơ hoặc nước, trọng lượng bắp tăng, chỉ số thu hoạch tăng, sản lượng tăng, số lượng hạt tăng, trọng lượng hạt tăng, và năng suất tăng.

Phương án 143. Cây ngũ cốc theo phương án 141, trong đó chiều cao của cây ngũ cốc thấp hơn ít nhất 10%, ít nhất 20%, ít nhất 25%, ít nhất 30%, ít nhất 35%, hoặc ít nhất 40% so với cây đối chứng.

Phương án 144. Cây ngũ cốc theo phương án 141, trong đó đường kính thân hoặc cuống của cây ngũ cốc ở một hoặc nhiều gióng thân lớn hơn ít nhất 5%, ít nhất 10%, ít nhất 15%, ít nhất 20%, ít nhất 25%, ít nhất 30%, ít nhất 35%, hoặc ít nhất 40% so với cây đối chứng.

Phương án 145. Cây ngũ cốc theo phương án 141, trong đó mức của một hoặc nhiều GA hoạt động ở ít nhất một mô gióng của thân hoặc cuống của cây ngũ cốc là thấp hơn so với cùng mô gióng của cây đối chứng.

Phương án 146. Cây ngũ cốc theo phương án 141, trong đó mức của một hoặc nhiều GA hoạt động ở ít nhất một mô gióng của thân hoặc cuống của cây ngũ cốc là thấp hơn ít

nhất 5%, ít nhất 10%, ít nhất 15%, ít nhất 20%, ít nhất 25%, ít nhất 30%, ít nhất 35%, hoặc ít nhất 40% so với cùng mô giống của cây đối chứng.

Phương án 147. Cây ngũ cốc theo phương án 141, trong đó cây ngũ cốc không có các dạng khác có nghĩa bất kỳ ở ít nhất một bắp hoặc bộ phận cái.

Phương án 148. Cây ngũ cốc theo phương án 141, trong đó cây ngũ cốc là cây ngô.

Phương án 149. Cây ngô hoặc ngũ cốc gồm sự chỉnh sửa hệ gen được đưa vào bằng kỹ thuật chỉnh sửa hệ gen nhắm đích ở hoặc gần vị trí gen của gen GA oxidaza nội sinh, trong đó mức độ biểu hiện của gen GA oxidaza nội sinh được làm giảm hoặc loại bỏ so với cây đối chứng, và trong đó cây ngũ cốc đã được chỉnh sửa có chiều cao cây thấp hơn so với cây đối chứng.

Phương án 150. Cây ngô hoặc ngũ cốc đã được chỉnh sửa theo phương án 149, trong đó cây được chỉnh sửa có một hoặc nhiều các đặc điểm bổ trợ sau đây so với cây đối chứng: đường kính thân/cuống tăng, khả năng chống đổ được cải thiện, rễ sâu hơn, diện tích lá tăng, khép tán sớm hơn, độ dẫn khí khổng cao hơn, chiều cao bắp thấp hơn, hàm lượng nước ở lá tăng, khả năng chịu hạn hán được cải thiện, năng suất sử dụng nitơ được cải thiện, diện tích và hàm lượng anthoxyanin ở lá giảm dưới điều kiện áp lực bình thường hoặc hạn chế nitơ hoặc nước, trọng lượng bắp tăng, chỉ số thu hoạch tăng, sản lượng tăng, số lượng hạt tăng, trọng lượng hạt tăng, và năng suất tăng.

Phương án 151. Cây ngô hoặc ngũ cốc đã được chỉnh sửa theo phương án 149, trong đó chiều cao của cây được chỉnh sửa thấp hơn ít nhất 10%, ít nhất 20%, ít nhất 25%, ít nhất 30%, ít nhất 35%, hoặc ít nhất 40% so với cây đối chứng.

Phương án 152. Cây ngô hoặc ngũ cốc đã được chỉnh sửa theo phương án 149, trong đó đường kính thân hoặc cuống của cây được chỉnh sửa ở một hoặc nhiều giống thân lớn hơn ít nhất 5%, ít nhất 10%, ít nhất 15%, ít nhất 20%, ít nhất 25%, ít nhất 30%, ít nhất 35%, hoặc ít nhất 40% so với cây đối chứng.

Phương án 153. Cây ngô hoặc ngũ cốc đã được chỉnh sửa theo phương án 149, trong đó mức của một hoặc nhiều GA hoạt động ở ít nhất một mô giống của thân hoặc cuống của cây được chỉnh sửa là thấp hơn so với cùng mô giống của cây đối chứng.

Phương án 154. Cây ngô hoặc ngũ cốc đã được chỉnh sửa theo phương án 149, trong đó mức của một hoặc nhiều GA hoạt động ở ít nhất một mô giống của thân hoặc cuống của

cây được chỉnh sửa là thấp hơn ít nhất 5%, ít nhất 10%, ít nhất 15%, ít nhất 20%, ít nhất 25%, ít nhất 30%, ít nhất 35%, hoặc ít nhất 40% so với cùng mô giống của cây đối chứng.

Phương án 155. Cây ngô hoặc ngũ cốc đã được chỉnh sửa theo phương án 149, trong đó cây được chỉnh sửa không có các dạng khác có nghĩa bất kỳ ở ít nhất một bắp hoặc bộ phận cái.

Phương án 156. Cây ngô hoặc ngũ cốc đã được chỉnh sửa theo phương án 149, trong đó sự chỉnh sửa hệ gen được đưa vào bằng cách sử dụng meganucleaza, nucleaza ngón tay kẽm (ZFN), endonucleaza được dẫn đường bằng ARN, TALE-endonucleaza (TALEN), recombinaza, hoặc transposaza.

Phương án 157. Cây ngô hoặc ngũ cốc đã được chỉnh sửa theo phương án 149, trong đó sự chỉnh sửa hệ gen gồm thay thế, bỏ đoạn, gắn xen, hoặc đảo đoạn của một hoặc nhiều nucleotit liên quan đến trình tự của gen GA oxidaza nội sinh ở cây đối chứng.

Phương án 158. Chế phẩm gồm ARN dẫn đường, trong đó ARN dẫn đường gồm trình tự dẫn đường mà tương đồng hoặc bổ sung ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 99%, hoặc 100% với ít nhất 10, ít nhất 11, ít nhất 12, ít nhất 13, ít nhất 14, ít nhất 15, ít nhất 16, ít nhất 17, ít nhất 18, ít nhất 19, ít nhất 20, ít nhất 21, ít nhất 22, ít nhất 23, ít nhất 24, hoặc ít nhất 25 nucleotit liên tiếp của trình tự ADN đích ở hoặc gần vị trí gen của gen GA oxidaza nội sinh của cây ngũ cốc.

Phương án 159. Chế phẩm theo phương án 158, trong đó phân tử ARN dẫn đường gồm trình tự dẫn đường mà bổ sung ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 99% hoặc 100% cho ít nhất 10, ít nhất 11, ít nhất 12, ít nhất 13, ít nhất 14, ít nhất 15, ít nhất 16, ít nhất 17, ít nhất 18, ít nhất 19, ít nhất 20, ít nhất 21, ít nhất 22, ít nhất 23, ít nhất 24, hoặc ít nhất 25 nucleotit liên tiếp của SEQ ID NO: 34, 35 hoặc 38, hoặc trình tự bổ sung của nó.

Phương án 160. Chế phẩm theo phương án 158, trong đó phân tử ARN dẫn đường gồm trình tự dẫn đường mà bổ sung ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 99% hoặc 100% cho ít nhất 10, ít nhất 11, ít nhất 12, ít nhất 13, ít nhất 14, ít nhất 15, ít nhất 16, ít nhất 17, ít nhất 18, ít nhất 19, ít nhất 20, ít nhất 21, ít nhất 22, ít nhất 23, ít nhất 24, hoặc ít nhất 25 nucleotit liên tiếp của SEQ ID NO: 87, 91, 95, 98, 105, 109, 113, 117, 122, 126, 130 hoặc 137, hoặc trình tự bổ sung của nó.

Phương án 161. Chế phẩm theo phương án 158, còn gồm endonucleaza được dẫn đường bằng ARN.

Phương án 162. Chế phẩm theo phương án 161, trong đó endonucleaza được dẫn đường bằng ARN với sự có mặt của phân tử ARN dẫn đường gây ra sự phá vỡ hoặc đứt gãy sợi kép ở hoặc gần trình tự ADN đích ở hệ gen của cây ngũ cốc.

Phương án 163. Chế phẩm theo phương án 161, trong đó endonucleaza được dẫn đường bằng ARN được chọn từ nhóm gồm Cas1, Cas1B, Cas2, Cas3, Cas4, Cas5, Cas6, Cas7, Cas8, Cas9, Cas10, Csy1, Csy2, Csy3, Cse1, Cse2, Csc1, Csc2, Csa5, Csn1, Csn2, Csm2, Csm3, Csm4, Csm5, Csm6, Cmr1, Cmr3, Cmr4, Cmr5, Cmr6, Csb1, Csb2, Csb3, Csx17, Csx14, Csx10, Csx16, CsaX, Csx3, Csx1, Csx12, Csx15, Csf1, Csf2, Csf3, Csf4, Cpf1, CasX, CasY, Argonaut, và thể tương đồng bất kỳ hoặc phiên bản biến đổi của nó có hoạt tính của endonucleaza được dẫn đường bằng ARN.

Phương án 164. Chế phẩm theo phương án 158, còn gồm khuôn mẫu ADN cho tái tổ hợp gồm ít nhất một trình tự tương đồng hoặc nhánh tương đồng, trong đó ít nhất một trình tự tương đồng hoặc nhánh tương đồng bổ sung ít nhất 70%, ít nhất 75%, ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 99% hoặc 100% cho ít nhất 20, ít nhất 25, ít nhất 30, ít nhất 35, ít nhất 40, ít nhất 45, ít nhất 50, ít nhất 60, ít nhất 70, ít nhất 80, ít nhất 90, ít nhất 100, ít nhất 150, ít nhất 200, ít nhất 250, ít nhất 500, ít nhất 1000, ít nhất 2500, hoặc ít nhất 5000 nucleotit liên tiếp của trình tự ADN đích, trong đó trình tự ADN đích là trình tự hệ gen ở hoặc gần vị trí gen của gen GA oxidaza nội sinh của cây ngô hoặc ngũ cốc.

Phương án 165. Cấu trúc ADN tái tổ hợp gồm trình tự ADN có thể phiên mã mã hóa phân tử ARN dẫn đường không mã hóa, trong đó phân tử ARN dẫn đường gồm trình tự dẫn đường mà bổ sung ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 99% hoặc 100% cho ít nhất 10, ít nhất 11, ít nhất 12, ít nhất 13, ít nhất 14, ít nhất 15, ít nhất 16, ít nhất 17, ít nhất 18, ít nhất 19, ít nhất 20, ít nhất 21, ít nhất 22, ít nhất 23, ít nhất 24, hoặc ít nhất 25 nucleotit liên tiếp của trình tự ADN đích ở hoặc gần vị trí gen của gen GA oxidaza nội sinh của cây ngô hoặc ngũ cốc.

Phương án 166. Cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 165, trong đó ARN dẫn đường gồm trình tự dẫn đường mà bổ sung ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 99% hoặc

100% cho ít nhất 10, ít nhất 11, ít nhất 12, ít nhất 13, ít nhất 14, ít nhất 15, ít nhất 16, ít nhất 17, ít nhất 18, ít nhất 19, ít nhất 20, ít nhất 21, ít nhất 22, ít nhất 23, ít nhất 24, hoặc ít nhất 25 nucleotit liên tiếp của SEQ ID NO: 34, 35 hoặc 38, hoặc trình tự bổ sung của nó.

Phương án 167. Cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 165, trong đó phân tử ARN dẫn đường gồm trình tự dẫn đường mà bổ sung ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 99% hoặc 100% cho ít nhất 10, ít nhất 11, ít nhất 12, ít nhất 13, ít nhất 14, ít nhất 15, ít nhất 16, ít nhất 17, ít nhất 18, ít nhất 19, ít nhất 20, ít nhất 21, ít nhất 22, ít nhất 23, ít nhất 24, hoặc ít nhất 25 nucleotit liên tiếp của SEQ ID NO: 87, 91, 95, 98, 105, 109, 113, 117, 122, 126, 130 hoặc 137, hoặc trình tự bổ sung của nó.

Phương án 168. Cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 165, trong đó trình tự ADN có thể phiên mã được liên kết hoạt động với đoạn khởi đầu biểu hiện được ở thực vật.

Phương án 169. Cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 165, trong đó phân tử ARN dẫn đường là ARN CRISPR (crARN) hoặc ARN dẫn đường chuỗi đơn (sgARN).

Phương án 170. Cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 165, trong đó ARN dẫn đường gồm trình tự bổ sung cho trình tự môtip liền kề tiền vùng đệm (protospacer adjacent motif-PAM) có mặt trong hệ gen của cây ngũ cốc ngay sát trình tự ADN đích ở hoặc gần vị trí gen của gen GA oxidaza nội sinh.

Phương án 171. Cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 165, trong đó trình tự PAM gồm trình tự 5'-NGG-3' chính tắc.

Phương án 172. Cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 165, trong đó gen GA oxidaza nội sinh mã hóa protein mà tương đồng ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% với SEQ ID NO: 9, 12 hoặc 15.

Phương án 173. Phân tử ADN gồm cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 165.

Phương án 174. Vectơ biến nạp gồm cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 165.

Phương án 175. Tế bào vi khuẩn gồm cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 165.

Phương án 176. Cây ngô hoặc ngũ cốc, bộ phận cây hoặc tế bào cây gồm cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 165.

Phương án 177. Chế phẩm gồm cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 165.

Phương án 178. Chế phẩm theo phương án 177, còn gồm endonucleaza được dẫn đường bằng ARN.

Phương án 179. Chế phẩm theo phương án 177, trong đó endonucleaza được dẫn đường bằng ARN được chọn từ nhóm gồm Cas1, Cas1B, Cas2, Cas3, Cas4, Cas5, Cas6, Cas7, Cas8, Cas9, Cas10, Csy1, Csy2, Csy3, Cse1, Cse2, Csc1, Csc2, Csa5, Csn2, Csm2, Csm3, Csm4, Csm5, Csm6, Cmr1, Cmr3, Cmr4, Cmr5, Cmr6, Csb1, Csb2, Csb3, Csx17, Csx14, Csx10, Csx16, CsaX, Csx3, Csx1, Csx15, Csf1, Csf2, Csf3, Csf4, Cpf1, Argonaut, và thể tương đồng hoặc phiên bản biến đổi của nó có hoạt tính của endonucleaza được dẫn đường bằng ARN.

Phương án 180. Chế phẩm theo phương án 177, còn gồm cấu trúc ADN tái tổ hợp thứ hai gồm trình tự ADN có thể phiên mã thứ hai mã hóa endonucleaza được dẫn đường bằng ARN.

Phương án 181. Chế phẩm theo phương án 177, gồm vectơ hoặc phân tử ADN gồm cấu trúc ADN tái tổ hợp này và cấu trúc ADN tái tổ hợp thứ hai.

Phương án 182. Chế phẩm theo phương án 177, gồm vectơ hoặc phân tử ADN thứ nhất và vectơ hoặc phân tử ADN thứ hai, trong đó vectơ hoặc phân tử ADN thứ nhất gồm cấu trúc ADN tái tổ hợp mã hóa phân tử ARN dẫn đường, và vectơ hoặc phân tử ADN thứ hai gồm cấu trúc ADN tái tổ hợp thứ hai mã hóa endonucleaza được dẫn đường bằng ARN.

Phương án 183. Chế phẩm theo phương án 177, còn gồm khuôn mẫu ADN cho tái tổ hợp gồm ít nhất một trình tự tương đồng hoặc nhánh tương đồng, trong đó ít nhất một trình tự tương đồng hoặc nhánh tương đồng bổ sung ít nhất 70%, ít nhất 75%, ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 99% hoặc 100% cho ít nhất 20, ít nhất 25, ít nhất 30, ít nhất 35, ít nhất 40, ít nhất 45, ít nhất 50, ít nhất 60, ít nhất 70, ít nhất 80, ít nhất 90, ít nhất 100, ít nhất 150, ít nhất 200, ít nhất 250, ít nhất 500, ít nhất 1000, ít nhất 2500, hoặc ít nhất 5000 nucleotit liên tiếp của trình tự ADN đích, trong đó trình tự ADN đích là trình tự hệ gen ở hoặc gần vị trí gen của gen GA oxidaza nội sinh của cây ngô hoặc ngũ cốc.

Phương án 184. Khuôn mẫu ADN cho tái tổ hợp gồm ít nhất một trình tự tương đồng, trong đó ít nhất một trình tự tương đồng bổ sung ít nhất 70%, ít nhất 75%, ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 99% hoặc 100% cho

ít nhất 20, ít nhất 25, ít nhất 30, ít nhất 35, ít nhất 40, ít nhất 45, ít nhất 50, ít nhất 60, ít nhất 70, ít nhất 80, ít nhất 90, ít nhất 100, ít nhất 150, ít nhất 200, ít nhất 250, ít nhất 500, ít nhất 1000, ít nhất 2500, hoặc ít nhất 5000 nucleotit liên tiếp của trình tự ADN đích, trong đó trình tự ADN đích là trình tự hệ gen ở hoặc gần vị trí gen của gen GA oxidaza nội sinh của cây ngô hoặc ngũ cốc.

Phương án 185. Khuôn mẫu ADN cho tái tổ hợp theo phương án 184, trong đó ít nhất một trình tự tương đồng gồm ít nhất một đột biến liên quan đến sợi bổ trợ của trình tự ADN đích ở hoặc gần vị trí gen của gen GA oxidaza nội sinh.

Phương án 186. Khuôn mẫu ADN cho tái tổ hợp theo phương án 185, trong đó ít nhất một đột biến gồm thay thế, bỏ đoạn, gắn xen, hoặc đảo đoạn của một hoặc nhiều nucleotit liên quan đến sợi bổ trợ của trình tự ADN đích.

Phương án 187. Khuôn mẫu ADN cho tái tổ hợp theo phương án 184, trong đó ít nhất một trình tự tương đồng là tương đồng hoặc bổ sung ít nhất 70%, ít nhất 75%, ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 99% hoặc 100% với ít nhất 20, ít nhất 25, ít nhất 30, ít nhất 35, ít nhất 40, ít nhất 45, ít nhất 50, ít nhất 60, ít nhất 70, ít nhất 80, ít nhất 90, ít nhất 100, ít nhất 150, ít nhất 200, ít nhất 250, ít nhất 500, ít nhất 1000, ít nhất 2500, hoặc ít nhất 5000 nucleotit liên tiếp của SEQ ID NO: 34, 35 hoặc 38, hoặc trình tự bổ sung của nó.

Phương án 188. Khuôn mẫu ADN cho tái tổ hợp theo phương án 184, trong đó ít nhất một trình tự tương đồng là tương đồng hoặc bổ sung ít nhất 70%, ít nhất 75%, ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 99% hoặc 100% với ít nhất 20, ít nhất 25, ít nhất 30, ít nhất 35, ít nhất 40, ít nhất 45, ít nhất 50, ít nhất 60, ít nhất 70, ít nhất 80, ít nhất 90, ít nhất 100, ít nhất 150, ít nhất 200, ít nhất 250, ít nhất 500, ít nhất 1000, ít nhất 2500, hoặc ít nhất 5000 nucleotit liên tiếp của SEQ ID NO: 87, 91, 95, 98, 105, 109, 113, 117, 122, 126, 130 hoặc 137, hoặc trình tự bổ sung của nó.

Phương án 189. Khuôn mẫu ADN cho tái tổ hợp gồm hai nhánh tương đồng bao gồm nhánh tương đồng thứ nhất và nhánh tương đồng thứ hai, trong đó nhánh tương đồng thứ nhất gồm trình tự bổ sung ít nhất 70%, ít nhất 75%, ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 99% hoặc 100% cho ít nhất 20, ít nhất 25, ít nhất 30, ít nhất 35, ít nhất 40, ít nhất 45, ít nhất 50, ít nhất 60, ít nhất 70, ít nhất 80, ít nhất

90, ít nhất 100, ít nhất 150, ít nhất 200, ít nhất 250, ít nhất 500, ít nhất 1000, ít nhất 2500, hoặc ít nhất 5000 nucleotit liên tiếp của trình tự ADN biên thứ nhất, trong đó nhánh tương đồng thứ hai gồm trình tự bổ sung ít nhất 70%, ít nhất 75%, ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 99% hoặc 100% cho ít nhất 20, ít nhất 25, ít nhất 30, ít nhất 35, ít nhất 40, ít nhất 45, ít nhất 50, ít nhất 60, ít nhất 70, ít nhất 80, ít nhất 90, ít nhất 100, ít nhất 150, ít nhất 200, ít nhất 250, ít nhất 500, ít nhất 1000, ít nhất 2500, hoặc ít nhất 5000 nucleotit liên tiếp của trình tự ADN biên thứ hai, và trong đó trình tự ADN biên thứ nhất và trình tự ADN biên thứ hai là các trình tự hệ gen ở hoặc gần vị trí gen của gen GA oxidaza nội sinh của cây ngô hoặc ngũ cốc.

Phương án 190. Khuôn mẫu ADN cho tái tổ hợp theo phương án 189, còn gồm trình tự gắn xen được định vị giữa nhánh tương đồng thứ nhất và nhánh tương đồng thứ hai.

Phương án 191. Khuôn mẫu ADN cho tái tổ hợp theo phương án 189, trong đó trình tự gắn xen gồm ít nhất 1, ít nhất 2, ít nhất 3, ít nhất 4, ít nhất 5, ít nhất 6, ít nhất 7, ít nhất 8, ít nhất 9, ít nhất 10, ít nhất 20, ít nhất 30, ít nhất 40, ít nhất 50, ít nhất 60, ít nhất 70, ít nhất 80, ít nhất 90, ít nhất 100, ít nhất 200, ít nhất 300, ít nhất 400, ít nhất 500, ít nhất 750, ít nhất 1000, ít nhất 2500, hoặc ít nhất 5000 nucleotit.

Phương án 192. Khuôn mẫu ADN cho tái tổ hợp theo phương án 189, trong đó mỗi nhánh tương đồng là tương đồng hoặc bổ sung ít nhất 70%, ít nhất 75%, ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 99% hoặc 100% với ít nhất 20, ít nhất 25, ít nhất 30, ít nhất 35, ít nhất 40, ít nhất 45, ít nhất 50, ít nhất 60, ít nhất 70, ít nhất 80, ít nhất 90, ít nhất 100, ít nhất 150, ít nhất 200, ít nhất 250, ít nhất 500, ít nhất 1000, ít nhất 2500, hoặc ít nhất 5000 nucleotit liên tiếp của SEQ ID NO: 34, 35 hoặc 38, hoặc trình tự bổ sung của nó.

Phương án 193. Khuôn mẫu ADN cho tái tổ hợp theo phương án 189, trong đó mỗi nhánh tương đồng là tương đồng hoặc bổ sung ít nhất 70%, ít nhất 75%, ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 99% hoặc 100% với ít nhất 20, ít nhất 25, ít nhất 30, ít nhất 35, ít nhất 40, ít nhất 45, ít nhất 50, ít nhất 60, ít nhất 70, ít nhất 80, ít nhất 90, ít nhất 100, ít nhất 150, ít nhất 200, ít nhất 250, ít nhất 500, ít nhất 1000, ít nhất 2500, hoặc ít nhất 5000 nucleotit liên tiếp của SEQ ID NO: 87, 91, 95, 98, 105, 109, 113, 117, 122, 126, 130 hoặc 137, hoặc trình tự bổ sung của nó.

Phương án 203. Nucleaza ngón tay kẽm được thao tác di truyền theo phương án 202, trong đó vùng phân cắt là vùng *FokI* nucleaza.

Phương án 204. Nucleaza đặc hiệu vị trí được thao tác di truyền theo phương án 199, trong đó nucleaza đặc hiệu vị trí là nucleaza giống nhân tố kích hoạt phiên mã (TALEN) gồm vùng gắn kết ADN và vùng phân cắt.

Phương án 205. TALEN được thao tác di truyền theo phương án 204, trong đó vùng phân cắt được chọn từ nhóm gồm vùng *PvuII* nucleaza, vùng *MutH* nucleaza, vùng *TevI* nucleaza, vùng *FokI* nucleaza, vùng *AlwI* nucleaza, vùng *MlyI* nucleaza, vùng *SbfI* nucleaza, vùng *SdaI* nucleaza, vùng *StsI* nucleaza, vùng *CleDORF* nucleaza, vùng *Clo051* nucleaza, và vùng *Pept071* nucleaza.

Phương án 206. Nucleaza đặc hiệu vị trí được thao tác di truyền theo phương án 199, trong đó vị trí đích được gắn kết bởi nucleaza đặc hiệu vị trí là tương đồng hoặc bổ sung ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 99% hoặc 100% với ít nhất 20, ít nhất 25, ít nhất 30, ít nhất 35, ít nhất 40, ít nhất 45, ít nhất 50, ít nhất 60, ít nhất 70, ít nhất 80, ít nhất 90, ít nhất 100, ít nhất 150, ít nhất 200, ít nhất 250, ít nhất 500, ít nhất 1000, ít nhất 2500, hoặc ít nhất 5000 nucleotit liên tiếp của SEQ ID NO: 34, 35 hoặc 38, hoặc trình tự bổ sung của nó.

Phương án 207. Nucleaza đặc hiệu vị trí được thao tác di truyền theo phương án 199, trong đó vị trí đích được gắn kết bởi nucleaza đặc hiệu vị trí là tương đồng hoặc bổ sung ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 99% hoặc 100% với ít nhất 20, ít nhất 25, ít nhất 30, ít nhất 35, ít nhất 40, ít nhất 45, ít nhất 50, ít nhất 60, ít nhất 70, ít nhất 80, ít nhất 90, ít nhất 100, ít nhất 150, ít nhất 200, ít nhất 250, ít nhất 500, ít nhất 1000, ít nhất 2500, hoặc ít nhất 5000 nucleotit liên tiếp của SEQ ID NO: 87, 91, 95, 98, 105, 109, 113, 117, 122, 126, 130 hoặc 137, hoặc trình tự bổ sung của nó.

Phương án 208. Cấu trúc ADN tái tổ hợp gồm gen chuyển mã hóa nucleaza đặc hiệu vị trí, trong đó nucleaza đặc hiệu vị trí gắn kết với vị trí đích ở hoặc gần vị trí gen của gen GA oxidaza nội sinh của cây một lá mầm hoặc ngũ cốc và gây ra sự phá vỡ hoặc đứt gãy sợi kép ở vị trí đích.

Phương án 209. Cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 208, trong đó gen chuyển được liên kết hoạt động với đoạn khởi đầu biểu hiện được ở thực vật.

Phương án 194. Khuôn mẫu ADN cho tái tổ hợp theo phương án 189, trong đó một hoặc nhiều nucleotit có mặt trong hệ gen của cây một lá mầm hoặc ngũ cốc giữa trình tự ADN biên thứ nhất và trình tự ADN biên thứ hai không có trong phân tử khuôn mẫu ADN cho tái tổ hợp giữa nhánh tương đồng thứ nhất và nhánh tương đồng thứ hai.

Phương án 195. Khuôn mẫu ADN cho tái tổ hợp theo phương án 194, trong đó ít nhất 1, ít nhất 2, ít nhất 3, ít nhất 4, ít nhất 5, ít nhất 6, ít nhất 7, ít nhất 8, ít nhất 9, ít nhất 10, ít nhất 20, ít nhất 30, ít nhất 40, ít nhất 50, ít nhất 60, ít nhất 70, ít nhất 80, ít nhất 90, ít nhất 100, ít nhất 200, ít nhất 300, ít nhất 400, ít nhất 500, ít nhất 750, ít nhất 1000, ít nhất 2500, hoặc ít nhất 5000 nucleotit có mặt trong hệ gen của cây một lá mầm hoặc ngũ cốc giữa trình tự ADN biên thứ nhất và thứ hai không có trong phân tử khuôn mẫu ADN cho tái tổ hợp giữa nhánh tương đồng thứ nhất và thứ hai.

Phương án 196. Vectơ hoặc phân tử ADN gồm khuôn mẫu ADN cho tái tổ hợp theo phương án 189.

Phương án 197. Tế bào chủ hoặc vi khuẩn gồm khuôn mẫu ADN cho tái tổ hợp theo phương án 189.

Phương án 198. Cây ngô hoặc ngũ cốc, bộ phận cây hoặc tế bào cây gồm cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 189.

Phương án 199. Nucleaza đặc hiệu vị trí được thao tác di truyền mà gắn kết với vị trí đích ở hoặc gần vị trí gen của gen GA oxidaza nội sinh của cây ngô hoặc ngũ cốc và gây ra sự phá vỡ hoặc đứt gãy sợi kép ở vị trí đích.

Phương án 200. Nucleaza đặc hiệu vị trí được thao tác di truyền theo phương án 199, trong đó nucleaza đặc hiệu vị trí là meganucleaza hoặc endonucleaza tìm nhà.

Phương án 201. Nucleaza đặc hiệu vị trí được thao tác di truyền theo phương án 200, trong đó endonucleaza tìm nhà hoặc meganucleaza được thao tác di truyền gồm enzym nền hoặc khung được chọn từ nhóm gồm *I-CreI*, *I-CeuI*, *I-MsoI*, *I-SceI*, *I-AniI*, và *I-DmoI*.

Phương án 202. Nucleaza đặc hiệu vị trí được thao tác di truyền theo phương án 199, trong đó nucleaza đặc hiệu vị trí là nucleaza ngón tay kẽm (ZFN) gồm vùng gắn kết ADN và vùng phân cắt.

Phương án 210. Cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 208, trong đó nucleaza đặc hiệu vị trí là meganucleaza hoặc endonucleaza tìm nhà, nucleaza ngón tay kẽm, hoặc nucleaza giống nhân tố kích hoạt phiên mã (TALEN).

Phương án 211. Vectơ hoặc phân tử ADN gồm cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 208.

Phương án 212. Tế bào chủ hoặc vi khuẩn gồm cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 208.

Phương án 213. Cây ngô hoặc ngũ cốc, bộ phận cây hoặc tế bào cây gồm cấu trúc ADN tái tổ hợp theo phương án 208.

Phương án 214. Khuôn mẫu ADN cho tái tổ hợp gồm ít nhất một nhánh tương đồng và trình tự gắn xen, trong đó ít nhất một nhánh tương đồng bổ sung ít nhất 70%, ít nhất 75%, ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 99% hoặc 100% cho ít nhất 20, ít nhất 25, ít nhất 30, ít nhất 35, ít nhất 40, ít nhất 45, ít nhất 50, ít nhất 60, ít nhất 70, ít nhất 80, ít nhất 90, ít nhất 100, ít nhất 150, ít nhất 200, ít nhất 250, ít nhất 500, ít nhất 1000, ít nhất 2500, hoặc ít nhất 5000 nucleotit liên tiếp của trình tự ADN hệ gen của cây ngô hoặc ngũ cốc, và trong đó trình tự gắn xen gồm cấu trúc ADN tái tổ hợp gồm trình tự ADN có thể phiên mã mã hóa phân tử ARN không mã hóa, trong đó phân tử ARN không mã hóa nhắm đích để ức chế một hoặc nhiều gen GA20 hoặc GA3 oxidaza nội sinh ở cây một lá mầm hoặc ngũ cốc hoặc tế bào cây, và trong đó trình tự ADN có thể phiên mã được liên kết hoạt động với đoạn khởi đầu biểu hiện được ở thực vật.

Phương án 215. Khuôn mẫu ADN cho tái tổ hợp theo phương án 214, trong đó ít nhất một nhánh tương đồng gồm hai nhánh tương đồng bao gồm nhánh tương đồng thứ nhất và nhánh tương đồng thứ hai, trong đó nhánh tương đồng thứ nhất gồm trình tự bổ sung ít nhất 70%, ít nhất 75%, ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 99% hoặc 100% cho ít nhất 20, ít nhất 25, ít nhất 30, ít nhất 35, ít nhất 40, ít nhất 45, ít nhất 50, ít nhất 60, ít nhất 70, ít nhất 80, ít nhất 90, ít nhất 100, ít nhất 150, ít nhất 200, ít nhất 250, ít nhất 500, ít nhất 1000, ít nhất 2500, hoặc ít nhất 5000 nucleotit liên tiếp của trình tự ADN biên thứ nhất, và nhánh tương đồng thứ hai gồm trình tự bổ sung ít nhất 70%, ít nhất 75%, ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 99% hoặc 100% cho ít nhất 20, ít nhất 25, ít nhất 30, ít nhất 35, ít nhất

40, ít nhất 45, ít nhất 50, ít nhất 60, ít nhất 70, ít nhất 80, ít nhất 90, ít nhất 100, ít nhất 150, ít nhất 200, ít nhất 250, ít nhất 500, ít nhất 1000, ít nhất 2500, hoặc ít nhất 5000 nucleotit liên tiếp của trình tự ADN biên thứ hai, trong đó trình tự ADN biên thứ nhất và trình tự ADN biên thứ hai là các trình tự hệ gen ở hoặc gần cùng vị trí gen của cây một lá mầm hoặc ngũ cốc, và trong đó trình tự gắn xen được định vị giữa nhánh tương đồng thứ nhất và nhánh tương đồng thứ hai và gồm cấu trúc ADN tái tổ hợp gồm trình tự ADN có thể phiên mã mã hóa phân tử ARN không mã hóa.

Phương án 216. Khuôn mẫu ADN cho tái tổ hợp theo phương án 215, trong đó trình tự ADN có thể phiên mã được liên kết hoạt động với đoạn khởi đầu biểu hiện được ở thực vật.

Phương án 217. Khuôn mẫu ADN cho tái tổ hợp theo phương án 215, trong đó phân tử ARN không mã hóa gồm trình tự mà bổ sung ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% cho ít nhất 15, ít nhất 16, ít nhất 17, ít nhất 18, ít nhất 19, ít nhất 20, ít nhất 21, ít nhất 22, ít nhất 23, ít nhất 24, ít nhất 25, ít nhất 26, hoặc ít nhất 27 nucleotit liên tiếp của phân tử mARN mã hóa protein GA oxidaza mà tương đồng ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% với SEQ ID NO: 9, 12, 15, 30 hoặc 33.

Phương án 218. Khuôn mẫu ADN cho tái tổ hợp theo phương án 215, trong đó phân tử ARN không mã hóa gồm trình tự mà bổ sung ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% cho ít nhất 15, ít nhất 16, ít nhất 17, ít nhất 18, ít nhất 19, ít nhất 20, ít nhất 21, ít nhất 22, ít nhất 23, ít nhất 24, ít nhất 25, ít nhất 26, hoặc ít nhất 27 nucleotit liên tiếp của phân tử mARN mã hóa protein GA oxidaza mà tương đồng ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, hoặc 100% với SEQ ID NO: 86, 90, 94, 97, 101, 104, 108, 112, 116, 118, 121, 125, 129, 133, hoặc 136.

Phương án 219. Chế phẩm gồm khuôn mẫu ADN cho tái tổ hợp theo phương án 214.

Phương án 220. Tế bào chủ hoặc vi khuẩn gồm khuôn mẫu ADN cho tái tổ hợp theo phương án 214.

Phương án 221. Cây ngô hoặc ngũ cốc chuyển gen, bộ phận cây hoặc tế bào cây gồm trình tự gắn xen của khuôn mẫu ADN cho tái tổ hợp theo phương án 214.

Phương án 222. Cây ngô hoặc ngũ cốc chuyển gen theo phương án 214, trong đó cây chuyển gen này có một hoặc nhiều đặc điểm sau đây so với cây đối chứng: chiều cao cây thấp hơn, đường kính thân/cuống tăng, khả năng chống đổ được cải thiện, rễ sâu hơn, diện tích lá tăng, khép tán sớm hơn, độ dẫn khí khổng cao hơn, chiều cao bắp thấp hơn, hàm lượng nước ở lá tăng, khả năng chịu hạn hán được cải thiện, năng suất sử dụng nitơ được cải thiện, diện tích và hàm lượng anthoxyanin ở lá giảm dưới điều kiện áp lực bình thường hoặc hạn chế nitơ hoặc nước, trọng lượng bắp tăng, chỉ số thu hoạch tăng, sản lượng tăng, số lượng hạt tăng, trọng lượng hạt tăng, và/hoặc năng suất tăng.

Phương án 223. Cây ngô hoặc ngũ cốc chuyển gen theo phương án 222, trong đó cây chuyển gen này có chiều cao cây thấp hơn và/hoặc khả năng chống đổ được cải thiện.

Phương án 224. Cây ngô hoặc ngũ cốc chuyển gen theo phương án 222, trong đó chiều cao của cây chuyển gen thấp hơn ít nhất 10%, ít nhất 20%, ít nhất 25%, ít nhất 30%, ít nhất 35%, hoặc ít nhất 40% so với cây đối chứng.

Phương án 225. Cây ngô hoặc ngũ cốc chuyển gen theo phương án 222, trong đó mức của một hoặc nhiều GA hoạt động ở ít nhất một mô gióng của thân hoặc cuống của cây chuyển gen là thấp hơn so với cùng mô gióng của cây đối chứng.

Phương án 226. Phương pháp sản xuất cây ngô hoặc ngũ cốc chuyển gen, bao gồm: (a) biến nạp ít nhất một tế bào của mảnh cấy bằng khuôn mẫu ADN cho tái tổ hợp theo phương án 215, và (b) tái sinh hoặc phát triển cây ngô hoặc ngũ cốc chuyển gen từ mảnh cấy đã biến nạp, trong đó cây ngô hoặc ngũ cốc chuyển gen gồm trình tự gắn xen của khuôn mẫu ADN cho tái tổ hợp.

Phương án 227. Phương pháp theo phương án 226, trong đó cây một lá mầm hoặc ngũ cốc được biến nạp bằng hạt bắn phá hoặc biến nạp qua trung gian *Agrobacterium*.

Phương án 228. Phương pháp sản xuất cây ngô hoặc ngũ cốc có sự chỉnh sửa hệ gen ở hoặc gần gen GA oxidaza nội sinh, bao gồm: (a) đưa vào ít nhất một tế bào của mảnh cấy của cây ngô hoặc ngũ cốc nucleaza đặc hiệu vị trí hoặc một phân tử ADN tái tổ hợp gồm gen chuyển mã hóa nucleaza đặc hiệu vị trí, trong đó nucleaza đặc hiệu vị trí gắn kết với vị trí đích ở hoặc gần vị trí gen của gen GA oxidaza nội sinh và gây ra sự phá vỡ hoặc đứt gãy sợi kép ở vị trí đích, và (b) tái sinh hoặc phát triển cây ngô hoặc ngũ cốc đã được chỉnh

sửa từ ít nhất một tế bào mảnh cấy gồm sự chỉnh sửa hệ gen ở hoặc gần gen GA oxidaza nội sinh của cây ngô hoặc ngũ cốc đã được chỉnh sửa.

Phương án 229. Phương pháp theo phương án 228, trong đó bước đưa vào (a) còn gồm đưa khuôn mẫu cho ADN gồm ít nhất một trình tự tương đồng hoặc nhánh tương đồng vào, trong đó ít nhất một trình tự tương đồng hoặc nhánh tương đồng bổ sung ít nhất 70%, ít nhất 75%, ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 99% hoặc 100% cho ít nhất 20, ít nhất 25, ít nhất 30, ít nhất 35, ít nhất 40, ít nhất 45, ít nhất 50, ít nhất 60, ít nhất 70, ít nhất 80, ít nhất 90, ít nhất 100, ít nhất 150, ít nhất 200, ít nhất 250, ít nhất 500, ít nhất 1000, ít nhất 2500, hoặc ít nhất 5000 nucleotit liên tiếp của trình tự ADN đích, trong đó trình tự ADN đích là trình tự hệ gen ở hoặc gần vị trí gen của gen GA oxidaza nội sinh của cây ngô hoặc ngũ cốc.

Phương án 230. Phương pháp theo phương án 228, còn bao gồm: (c) chọn lọc cây ngô hoặc ngũ cốc đã được chỉnh sửa.

Phương án 231. Phương pháp theo phương án 230, trong đó bước chọn lọc (c) gồm xác định nếu vị trí gen của gen GA oxidaza nội sinh được chỉnh sửa bằng cách sử dụng thử nghiệm phân tử.

Phương án 232. Phương pháp theo phương án 230, trong đó bước chọn lọc (c) gồm xác định nếu gen GA oxidaza nội sinh được chỉnh sửa bằng cách quan sát kiểu hình của cây.

Phương án 233. Phương pháp theo phương án 231, trong đó kiểu hình của cây là sự giảm chiều cao cây so với cây đối chứng.

Phương án 234. Phương pháp theo phương án 228, trong đó bước đưa vào (a) tạo ra ít nhất một đột biến ở hoặc gần vị trí gen của gen GA oxidaza nội sinh, và trong đó đột biến này gồm thay thế, bỏ đoạn, gắn xen, hoặc đảo đoạn của một hoặc nhiều nucleotit liên quan đến trình tự ADN hệ gen của cây đối chứng.

Phương án 235. Cây ngô biến đổi có chiều cao cây nhỏ hơn 2000 mm, nhỏ hơn 1950 mm, nhỏ hơn 1900 mm, nhỏ hơn 1850 mm, nhỏ hơn 1800 mm, nhỏ hơn 1750 mm, nhỏ hơn 1700 mm, nhỏ hơn 1650 mm, nhỏ hơn 1600 mm, nhỏ hơn 1550 mm, nhỏ hơn 1500 mm, nhỏ hơn 1450 mm, nhỏ hơn 1400 mm, nhỏ hơn 1350 mm, nhỏ hơn 1300 mm, nhỏ hơn 1250 mm, nhỏ hơn 1200 mm, nhỏ hơn 1150 mm, nhỏ hơn 1100 mm, nhỏ hơn 1050 mm, hoặc nhỏ hơn 1000 mm, và (i) đường kính thân hoặc cuống trung bình lớn hơn 18

mm, lớn hơn 18,5 mm, lớn hơn 19 mm, lớn hơn 19,5 mm, lớn hơn 20 mm, lớn hơn 20,5 mm, lớn hơn 21 mm, lớn hơn 21,5 mm, hoặc lớn hơn 22 mm, (ii) khả năng chống đổ được cải thiện so với cây đối chứng kiểu dại, hoặc (iii) khả năng chịu hạn hán được cải thiện so với cây đối chứng kiểu dại.

Phương án 236. Cây ngô biến đổi theo phương án 235, trong đó cây ngô có một hoặc nhiều đặc điểm sau đây so với cây đối chứng kiểu dại: đường kính thân/cuống tăng, khả năng chống đổ được cải thiện, rễ sâu hơn, diện tích lá tăng, khép tán sớm hơn, độ dẫn khí khổng cao hơn, chiều cao bắp thấp hơn, hàm lượng nước ở lá tăng, khả năng chịu hạn hán được cải thiện, năng suất sử dụng nitơ được cải thiện, diện tích và hàm lượng anthoxyanin ở lá giảm dưới điều kiện áp lực bình thường hoặc hạn chế nitơ hoặc nước, trọng lượng bắp tăng, chỉ số thu hoạch tăng, sản lượng tăng, số lượng hạt tăng, trọng lượng hạt tăng, và/hoặc năng suất tăng.

Phương án 237. Cây ngô biến đổi theo phương án 235, trong đó mức của một hoặc nhiều GA hoạt động ở ít nhất một mô gióng của thân hoặc cuống của cây ngô là thấp hơn so với cùng mô gióng của cây đối chứng kiểu dại.

Phương án 238. Cây ngũ cốc biến đổi có chiều cao cây giảm so với cây đối chứng kiểu dại, và (i) đường kính thân hoặc cuống tăng so với cây đối chứng kiểu dại, (ii) khả năng chống đổ được cải thiện so với cây đối chứng kiểu dại, hoặc (iii) khả năng chịu hạn hán được cải thiện so với cây đối chứng kiểu dại.

Phương án 239. Cây ngũ cốc biến đổi theo phương án 238, trong đó mức của một hoặc nhiều GA hoạt động ở thân hoặc cuống của cây ngũ cốc là thấp hơn so với ở cây đối chứng kiểu dại.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ 1. Chiều cao cây giảm ở các dòng ngô thuần qua các sự kiện biến nạp đối với yếu tố ức chế GA20 oxidaza.

Dòng cây ngô thuần được biến nạp bằng quá trình biến nạp qua trung gian *Agrobacterium* bằng vectơ biến nạp có cấu trúc biểu hiện gồm trình tự ADN có thể phiên mã với trình tự (SEQ ID NO: 39) mã hóa trình tự đích (SEQ ID NO: 40) của miARN dưới sự kiểm soát của đoạn khởi đầu virut tungro dạng thẳng ở lúa (RTBV) (SEQ ID NO: 65) mà được biết là gây ra sự biểu hiện ở các mô mạch của cây. miARN được mã hóa bởi cấu

trúc gồm trình tự ARN nhắm đích các gen GA20 oxidaza_3 và GA20 oxidaza_5 ở cây ngô để ức chế. Một vài sự kiện biến nạp được tạo ra bằng cấu trúc này, và các dạng biến nạp này được thử nghiệm trong nhà kính để xác định nếu chúng có chiều cao cây giảm so với các cây đối chứng kiểu dại không chuyển gen. Như có thể được thấy trên FIG. 1, sự giảm đáng kể về chiều cao cây được quan sát một cách thường xuyên ở các cây chuyển gen biểu hiện cấu trúc ức chế qua một vài sự kiện biến nạp (xem các sự kiện 1-8) so với cây đối chứng kiểu dại (wild type-WT). Chiều cao cây đối với mỗi sự kiện biến nạp được tính toán là giá trị trung bình trong số khoảng 10 cây đối với mỗi sự kiện và được so sánh với chiều cao trung bình đối với các cây đối chứng. Sai số chuẩn được tính toán đối với mỗi sự kiện và các cây đối chứng, mà được thể hiện ở dạng thanh sai số trên FIG. 1. Ngoài ra, sự phát triển bắp ở mỗi trong số dạng biến nạp này có vẻ là bình thường.

Như có thể được thấy từ các kết quả của thử nghiệm này, chiều cao trung bình ở các cây biểu hiện các gen GA20 oxidaza_3 và GA20 oxidaza_5 nhắm đích miARN để ức chế có chiều cao cây giảm một cách đều đặn tới 35% so với các cây đối chứng qua nhiều sự kiện. Số liệu này củng cố cho kết luận rằng hiệu quả được thấy với cấu trúc ức chế này không phải do sự chèn cấu trúc vào một vị trí gen bất kỳ trong hệ gen của cây.

Số liệu này còn cho thấy rằng sự biểu hiện của cấu trúc ức chế GA20 oxidaza này bằng cách sử dụng đoạn khởi đầu mạch RTBV là hữu hiệu trong việc gây ra kiểu hình chiều cao của cây. Ngoài ra, số liệu ban đầu ở các cây ngô R0 biểu hiện cơ định cùng một cấu trúc ức chế GA20 oxidaza dưới sự kiểm soát của các đoạn khởi đầu cơ định khác nhau còn tạo ra các cây chiều cao thấp (xem Ví dụ 15 dưới đây). Do đó, sự biểu hiện của cấu trúc GA20 oxidaza đích có thể là hữu hiệu trong việc làm giảm chiều cao cây và tạo ra các đặc điểm liên quan đến năng suất và chống đổ có lợi được mô tả ở đây cho thấy rằng các mô hình biểu hiên khác nhau bao gồm biểu hiện cơ định và mạch tạo ra kiểu hình chiều cao cây tương tự mà không có các dạng khác rõ ràng ở bắp.

Ví dụ 2. Chiều cao cây giảm ở các cây ngô lai biểu hiện yếu tố ức chế GA20 oxidaza.

Các cây ngô lai mang cấu trúc ức chế GA20 oxidaza được mô tả trong Ví dụ 1 cũng thể hiện chiều cao cây giảm so với cây đối chứng kiểu dại khi được trồng trong các điều kiện cánh đồng. Chiều cao cây trung bình của các cây ngô lai chuyển gen biểu hiện yếu tố ức chế GA20 oxidaza trong 10 lô nhỏ được tính toán và được so sánh với chiều cao cây trung bình của các cây ngô lai đối chứng kiểu dại (không chuyển gen) trong 32 lô nhỏ.

Mỗi lô nhỏ cho đối chứng chuyển gen và không chuyển gen gồm khoảng 6 cây, mặc dù số cây thực tế trên mỗi lô có thể thay đổi tùy thuộc vào số cây nảy mầm và phát triển thành các cây có bắp. Như có thể được thấy trên FIG. 2A, sự giảm đáng kể về chiều cao cây trung bình được quan sát ở các cây lai chuyển gen biểu hiện cấu trúc ức chế (lai SUP-GA20ox), so với các cây ngô lai kiểu dại (đối chứng). Sai số chuẩn được tính toán đối với cây đối chứng và cây lai chuyển gen, mà được thể hiện ở dạng thanh sai số trên FIG. 2A. Hình ảnh về cây lai đối chứng (bên trái) bên cạnh cây lai chuyển gen biểu hiện yếu tố ức chế GA20 oxidaza (bên phải) còn được thể hiện trên FIG. 2B.

Trong thử nghiệm này, chiều cao cây trung bình của các cây ngô lai được trồng trên cánh đồng biểu hiện các gen GA20 oxidaza_3 và GA20 oxidaza_5 nhắm đích miARN được giảm khoảng 40% so với các cây lai đối chứng kiểu dại. Số liệu này thể hiện rằng kiểu hình chiều cao cây có mặt ở các cây ngô lai ngoài các dòng thuần. Tuy nhiên, toàn bộ sinh khối trong thử nghiệm này có vẻ trung tính ở các cây ngô bán lùn so với các đối chứng.

Ví dụ 3. Đường kính thân tăng ở các cây ngô lai biểu hiện yếu tố ức chế GA20 oxidaza.

Các cây ngô lai mang cấu trúc ức chế GA20 oxidaza được mô tả trong Ví dụ 1 cũng thể hiện đường kính thân tăng so với cây đối chứng kiểu dại khi được trồng trong các điều kiện cánh đồng. Đường kính thân được xác định trên gióng thứ hai bên dưới bắp đầu tiên. Đường kính thân trung bình của các cây ngô lai chuyển gen biểu hiện yếu tố ức chế GA20 oxidaza trong 8 lô nhỏ được tính toán và được so sánh với đường kính thân trung bình của các cây ngô lai đối chứng kiểu dại (không chuyển gen) trong 8 lô nhỏ. Mỗi lô nhỏ gồm khoảng 6 cây. Như có thể được thấy trên FIG. 3A, sự tăng đáng kể về đường kính thân trung bình được quan sát ở các cây lai chuyển gen biểu hiện cấu trúc ức chế (lai SUP-GA20ox), so với các cây ngô lai kiểu dại (đối chứng). Sai số chuẩn được tính toán đối với cây đối chứng và cây lai chuyển gen, mà được thể hiện ở dạng thanh sai số trên FIG. 3A. Hình ảnh mặt cắt của thân từ cây lai đối chứng (đối chứng; bên trái) được thể hiện bên cạnh mặt cắt của thân từ cây lai chuyển gen biểu hiện yếu tố ức chế GA20 oxidaza (SUP_GA20ox; bên phải) cũng được thể hiện trên FIG. 3B.

Trong thử nghiệm này, đường kính thân trung bình của các cây ngô lai được trồng trên cánh đồng biểu hiện các gen GA20 oxidaza_3 và GA20 oxidaza_5 nhắm đích miARN được tăng khoảng 13% so với các cây lai đối chứng kiểu dại. Số liệu này thể hiện

rằng các cây ngô lai biểu hiện miARN GA20 oxidaza có thể có thân mập hơn, ngoài kiểu hình chiều cao cây giảm.

Ví dụ 4. Các cây ngô lai biểu hiện yếu tố ức chế GA20 oxidaza có sự tăng trọng lượng bắp tươi.

Các cây ngô lai mang cấu trúc ức chế GA20 oxidaza được mô tả trong Ví dụ 1 cũng thể hiện sự tăng trọng lượng bắp tươi so với cây đối chứng kiểu dại khi được trồng trong các điều kiện cánh đồng. Trọng lượng bắp tươi trên mỗi lô các cây ngô lai chuyển gen biểu hiện yếu tố ức chế GA20 oxidaza trong 24 lô nhỏ được tính toán và được so sánh với trọng lượng bắp tươi trung bình của các cây ngô lai đối chứng (không chuyển gen) trong 8 lô nhỏ. Một lần nữa, mỗi lô nhỏ gồm khoảng 6 cây. Như có thể được thấy trên FIG. 4, sự tăng trọng lượng bắp tươi trung bình trên mỗi lô được quan sát ở các cây lai chuyển gen biểu hiện cấu trúc ức chế (lai SUP-GA20ox), so với các cây ngô lai kiểu dại (đối chứng), và sự phát triển bắp và hạt dường như bình thường. Chênh lệch chuẩn đối với thử nghiệm này được tính toán đối với cây đối chứng và cây lai chuyển gen, mà được thể hiện ở dạng thanh sai số trên FIG. 4. Như thể hiện trên FIG. 5, thu được kết quả tương tự ở vị trí thử nghiệm khác trên cánh đồng mà cũng bị thiệt hại do gió.

Trong thử nghiệm này, trọng lượng bắp tươi trung bình của các cây ngô lai được trồng trên cánh đồng biểu hiện các gen GA20 oxidaza_3 và GA20 oxidaza_5 nhắm đích miARN được tăng so với các cây lai đối chứng kiểu dại, cho thấy rằng các cây chuyển gen này còn có thể có đặc điểm liên quan đến năng suất được cải thiện. Tuy nhiên, các kết quả này dựa trên số liệu quan sát được mà không phải sự so sánh thống kê quy mô lớn với các đối chứng, và hiệu suất năng suất nên được kiểm tra trong điều kiện mẫu rộng.

Ví dụ 5. Các cây ngô lai biểu hiện yếu tố ức chế GA20 oxidaza thể hiện khả năng chống đổ tăng.

Tại một địa điểm thử nghiệm trên cánh đồng, thiệt hại do gió đối với các cây ngô lai trước khi ra hoa đã chứng minh khả năng chống đổ tăng lên với các cây biểu hiện cấu trúc ức chế GA20 oxidaza được mô tả trong Ví dụ 1, so với các cây lai đối chứng kiểu dại. Trong khi các cây lai đối chứng kiểu dại (không chuyển gen) bị đổ do sự kiện gió lớn này, thì các cây ngô lai chuyển gen biểu hiện yếu tố ức chế GA20 oxidaza ở một khu vực lân cận trên cánh đồng chống lại thiệt hại gây đổ. Để đánh giá tác động của khả năng chống

đổ của cây ngô lai biểu hiện cấu trúc ức chế GA20 oxidaza, trọng lượng bắp tươi trung bình trên mỗi lô của cây ngô lai chuyển gen ức chế GA20 oxidaza qua hai địa điểm thử nghiệm trên cánh đồng gặp phải thiệt hại gây đổ, được so sánh với trọng lượng bắp tươi trung bình của các cây lai đối chứng kiểu dại. Số liệu thu được từ hai thử nghiệm này cho thấy cây lai đối chứng có trọng lượng bắp tươi trung bình được giảm lần lượt 57% và 81%, ở hai thử nghiệm, so với cây lai biểu hiện cấu trúc ức chế GA20 oxidaza.

Quan sát bằng mắt cho thấy cây ngô lai ức chế GA20 oxidaza chuyển gen có khả năng chống đổ tăng hơn so với cây đối chứng không chuyển gen, cùng với sự gia tăng trọng lượng bắp tươi trung bình trong các thử nghiệm này với các cây ức chế GA20 oxidaza chuyển gen, cho thấy khả năng chống đổ tăng có thể hiểu thành sự tăng trọng lượng bắp tươi trung bình. Do đó, khả năng chống đổ tăng ở các cây ức chế GA20 oxidaza có thể làm tăng thêm tiềm năng năng suất/sự ổn định của những cây ngô chuyển gen này bằng cách chống lại tác động gây đổ trong các sự kiện thời tiết khắc nghiệt.

Ví dụ 6. Các cây ngô lai biểu hiện yếu tố ức chế GA20 oxidaza có sự tăng chỉ số thu hoạch.

Các cây ngô lai mang cấu trúc ức chế GA20 oxidaza được mô tả trong Ví dụ 1 còn thể hiện sự tăng chỉ số thu hoạch so với cây đối chứng kiểu dại khi được trồng trong các điều kiện cánh đồng. Chỉ số thu hoạch của các cây ngô lai chuyển gen biểu hiện yếu tố ức chế GA20 oxidaza được xác định từ các cây được trồng trong 8 lô nhỏ và so sánh với các cây ngô lai đối chứng không chuyển gen. Mỗi lô nhỏ gồm khoảng 6 cây. Như có thể được thấy trên FIG. 6, sự tăng đáng kể về chỉ số thu hoạch được quan sát ở các cây lai chuyển gen biểu hiện cấu trúc ức chế (lai SUP-GA20ox), so với các cây ngô lai kiểu dại (đối chứng). Sai số chuẩn được tính toán đối với cây đối chứng và cây lai chuyển gen, mà được thể hiện ở dạng thanh sai số trên FIG. 6.

Trong thử nghiệm này, chỉ số thu hoạch của các cây ngô lai được trồng trên cánh đồng biểu hiện các gen GA20 oxidaza_3 và GA20 oxidaza_5 nhắm đích miARN được tăng khoảng 11% so với các cây lai đối chứng kiểu dại. Việc tăng chỉ số thu hoạch này còn có liên quan đến việc giảm trọng lượng rơm so với các cây đối chứng kiểu dại, nhưng không có sự khác biệt về tổng trọng lượng sinh khối khô được quan sát thấy ở các cây chuyển gen.

Ví dụ 7. Các cây ngô lai biểu hiện yếu tố ức chế GA20 oxidaza có sự tăng ước tính năng suất hạt trung bình

Ước tính năng suất hạt trung bình cho các cây ngô lai biểu hiện yếu tố ức chế GA20 oxidaza (được xác định trong ví dụ 1) được tính toán từ 16 lô nhỏ trên cánh đồng (với khoảng 6 cây trên mỗi lô). Ước tính năng suất hạt trung bình được tính toán cho các cây ngô lai chuyển gen ức chế GA20 oxidaza này đã tăng khoảng 15% so với các cây ngô lai đối chứng (FIG. 7). Ước tính năng suất hạt là một số đo cung cấp ước tính chung về năng suất dự kiến dựa trên các số đo về đặc điểm của bắp. Ước tính năng suất hạt thu được từ bắp thu hoạch bằng tay trên các lô nhỏ, và đơn vị là kg/ha (thay vì bu/ac). Ước tính năng suất hạt (kg/ha) được tính theo công thức (số hạt trên một đơn vị diện tích (hạt/ m^2) x Trọng lượng hạt đơn (mg) x 15,5% / 100).

Ví dụ 8. Các cây ngô lai biểu hiện yếu tố ức chế GA20 oxidaza có sự tăng điểm số sản lượng trung bình.

Các cây ngô lai biểu hiện yếu tố ức chế GA20 oxidaza (được xác định trong ví dụ 1) cũng được thể hiện trong một thí nghiệm lô nhỏ để có năng suất tăng và các bắp thứ cấp so với các cây lai đối chứng không chuyển gen. Điểm số sản lượng được xác định từ 10 lô nhỏ của cây ngô lai chuyển gen trên cánh đồng (với khoảng 6 cây trên mỗi lô). Như thể hiện trên FIG. 8, điểm số sản lượng trung bình của cây ngô lai chuyển gen ức chế GA 20 oxidaza là 3, trong khi điểm số sản lượng trung bình của cây đối chứng là 1. Để xác định điểm số sản lượng, các cây đã được thử nghiệm về sự phát triển của bắp thứ cấp ở giai đoạn phát triển R1. Các cây được đánh giá theo thang điểm sau: 1 = Ít hoặc không hình thành bắp thứ cấp; 2 = Râu nổi bật trên bắp thứ cấp; 3 = Bắp thứ cấp phát triển nổi lên từ vỏ lá bao ngoài bắp; và 4 = Phát triển bắp thứ cấp tốt tương tự như bắp chính. Thu hoạch cuối vụ tiếp tục chỉ ra ít nhất một số bắp thứ cấp được tạo ra với hạt phát triển bình thường.

Ví dụ 9. Năng suất trên diện tích rộng và các thử nghiệm các đặc điểm trên cánh đồng với các cây ngô lai được biến nạp bằng cấu trúc ức chế GA20 oxidaza.

Cấu trúc ức chế GA20 oxidaza được mô tả trong Ví dụ 1 được biến nạp thành dòng ngô lai thương mại cái, và một số sự kiện biến nạp đã được tạo ra. Các cây biến nạp được trồng và tự lai tạo với số lượng hạt đủ lớn, và sau đó được lai với các dòng ngô lai thương mại đực khác nhau để tạo ra cây ngô lai. Mỗi dòng lai đực khác biệt được sử dụng

để tạo ra con lai đực-cái được gọi là dòng thử nghiệm. Các cây ngô lai với các dòng thử nghiệm khác nhau sau đó được trồng trên một diện tích rộng trên cánh đồng theo thực hành nông học tiêu chuẩn (standard agronomic practice-SAP). Mật độ trồng theo SAP là 34.000 cây trên một mẫu Anh với khoảng cách hàng 30".

Đối với các thử nghiệm năng suất, bốn sự kiện biến nạp khác biểu hiện cấu trúc ức chế GA20 oxidaza đã được lai với 2 dòng thử nghiệm thương mại khác nhau. Các cây ngô lai sau đó đã được thử nghiệm tại 16 vị trí địa lý trên khắp 6 tiểu bang Trung Tây Hoa Kỳ. Năng suất của các cây ngô lai chuyển gen trên các địa điểm này đã được tính toán và so sánh với năng suất của các cây ngô lai đối chứng không chuyển gen. Bảng 4 cung cấp sự khác biệt về năng suất tính theo giạ/mẫu Anh giữa các cây ngô lai chuyển gen cho mỗi sự kiện so với đối chứng không chuyển gen. Một số âm cho thấy năng suất giảm. Sự khác biệt về năng suất với giá trị p thống kê nhỏ hơn 0,2 được chỉ ra trong Bảng 4 với phông chữ in đậm và in nghiêng. Ký hiệu này cũng được sử dụng để biểu thị ý nghĩa thống kê cho các bảng còn lại trong các ví dụ này, trừ khi có ghi chú khác. Như thể hiện trong Bảng 4 dưới tiêu đề SAP, năng suất tăng đáng kể đã được quan sát thấy ở các cây ngô lai chuyển gen biểu hiện cấu trúc ức chế (cây chuyển gen) trong điều kiện SAP, so với các cây ngô lai kiểu dại (đối chứng). Sự gia tăng đáng kể năng suất đã được quan sát qua 4 sự kiện chuyển gen và 2 dòng thử nghiệm.

Một thử nghiệm năng suất trên diện tích rộng có thể so sánh đã được tiến hành trong điều kiện trồng mật độ cao (high density-HD) với 42.000 cây trên một mẫu Anh và khoảng cách hang 30", và so với mật độ thực hành nông học tiêu chuẩn (SAP). Sự khác biệt về năng suất trong điều kiện HD được cung cấp trong Bảng 4 dưới tiêu đề HD. Kết quả hỗn hợp thu được trong các điều kiện mật độ cao này với năng suất thay đổi giữa các sự kiện và dòng thử nghiệm. Tuy nhiên, sự gia tăng năng suất đã được quan sát cho hai sự kiện với một trong hai dòng thử nghiệm, và khả năng vẫn là năng suất cao hơn trên một số lượng lớn hơn các mầm nguyên sinh trong các điều kiện mật độ cao khác nhau.

Bảng 4. Sự chệnh lệch năng suất trên diện tích rộng giữa cây chuyển gen và đối chứng, trong điều kiện SAP và HD

	SAP			HD		
	Dòng thử nghiệm-1	**Dòng thử nghiệm-2**	**Qua các dòng thử nghiệm**	**Dòng thử nghiệm-1**	**Dòng thử nghiệm-2**	**Qua các dòng thử nghiệm**

Qua các sự kiện	3,7	3,9	4	3,5	*-10,7*	-3,9
Sự kiện-1	*7,5*	2,7	*5,1*	*7,5*	-4,3	1,3
Sự kiện-2	3,2	*7,0*	*5,6*	-5,1	*-14,9*	*-10,3*
Sự kiện-3	2,3	1,8	2	*7,6*	*-9*	-0,7
Sự kiện-4	1,7	4,6	3,4	3,1	*-14,2*	*-6,1*

Các thử nghiệm đặc điểm cũng được tiến hành trên cánh đồng để đo lường một số đặc điểm phát triển và sinh sản. Các thử nghiệm này được thực hiện trong mật độ bình thường (SAP) như mô tả ở trên và điều kiện trồng mật độ cực cao (ultra high density-UHD) là 54.000 cây trên một mẫu Anh với khoảng cách hàng 20". Các thử nghiệm được tiến hành trên các cây ngô lai với 7 sự kiện biến nạp và 3 dòng thử nghiệm, và dữ liệu cho mỗi dòng thử nghiệm được tập hợp trong 7 sự kiện.

Bảng 5 tóm tắt các kết quả thử nghiệm đặc điểm ở cây ngô lai. Phép đo là một sự khác biệt phần trăm, hoặc sự khác biệt về số ngày hoặc số lượng lá, giữa các cây chuyển gen và đối chứng. Khi thích hợp, giai đoạn phát triển, chẳng hạn như R3, v.v., mà tại đó phép đo được thực hiện, được biểu thị trong ngoặc đơn dưới cột "Tên đặc điểm". Sự rụng phấn được xác định bằng số ngày từ khi nảy mầm đến khi 50% số cây rụng phấn hoa. Sự xuất hiện của râu được xác định bằng số ngày từ khi nảy mầm đến khi 50% số cây có râu. Khoảng thời gian phấn hoa-râu là một thước đo số ngày từ khi 50% số cây rụng phấn đến có râu. Độ bền của thân cây là thước đo lực mà đoạn thân bị gãy ngang, bằng cách sử dụng dụng cụ ngắt cuống. Chỉ số diện tích lá (Leaf area index-LAI) là một đại lượng không thứ nguyên mà đặc trưng cho phạm vi của tán cây, được định nghĩa là diện tích lá xanh một mặt trên một đơn vị diện tích mặt đất trong không gian tán lá rộng.

Bảng 5. Sự chênh lệch đặc điểm giữa cây chuyển gen và cây đối chứng trong điều kiện SAP và UHD.

		SAP 30"			**UHD 20"**		
Số đo	**Tên đặc điểm**	Dòng thử nghiệm-1	Dòng thử nghiệm-2	Dòng thử nghiệm-3	Dòng thử nghiệm-1	Dòng thử nghiệm-2	Dòng thử nghiệm-3
% Delta	Chiều cao cây (R3)	*-46*	*-47,7*	*-45,2*	*-38,3*	*-42,3*	*-41,6*
	Chiều cao cây dưới 6 ft	*Có*	*Có*	*Có*	*Có*	*Có*	*Có*

	Chiều cao bắp (R3)	*-35,3*	*-39,8*	*-38,8*	*-48,3*	*-51,4*	*-48,4*
	Chiều cao bắp trên 18 insơ	*Có*	*Có*	*Có*	*Có*	*Có*	*Có*
% Delta	Chiều dài gióng (bắp âm 2) (R3)	*-34,2*	*-34,7*	*-34*	*-44,9*	*-36,4*	*-42,3*
	Chiều dài gióng (bắp âm 4) (R3)	*-54,2*	*-49,4*	*-54,9*	*-60,1*	*-55,7*	*-59,4*
	Đường kính thân (2 đốt dưới bắp) (R3)	4,4	5,8	4,5	*37,7*	*43,1*	*35,5*
	Đường kính thân (4 đốt dưới bắp) (R3)	3,9	-1,6	1	*16,3*	*15,6*	*16,5*
	Độ bền thân đốt thứ 2 dưới bắp (R5)	10,2	0,1	0,7	*50,1*	*115*	*N/A*
	Độ bền thân đốt thứ 4 dưới bắp (R5)	-13,6	*-22,3*	-11,5	*13,3*	*78,4*	*N/A*
Số ngày	Khoảng cách phấn hoa-râu	*-0,88*	*-1*	*-0,5*	*0*	*-0,33*	*-0,07*
	Rụng phấn	*1,5*	*0,75*	*0,13*	*-0,21*	*0,31*	*-0,91*
	Xuất hiện râu	*0,63*	-0,25	*-0,38*	*-0,26*	*-0,06*	*-1,03*
Số hiệu	Lá xanh # (R4)	*-1,4*	*-1,4*	*-1,7*	*-1,7*	*-1,4*	*-1,4*
	Lá xanh # (R5)	*-1,8*	*-1,7*	*-1,6*	*-2,1*	*-1*	*-1,7*
	Lá xanh # (7 ngày sau R5)	-0,5	*-0,4*	-0,3	*-1,1*	-0,3	*-0,6*
	Lá xanh # (14 ngày sau R5)	*-0,2*	-0,4	-0,2	*-0,7*	-0,3	*-0,3*
% Delta	Chỉ số diện tích lá (V6)	*30,8*	*33,9*	*51,5*	*-33,2*	*-14,8*	-16,6
	Chỉ số diện tích lá (V8)	*20,1*	-1,4	15,4	*37,5*	*29,7*	*32,5*
	Chỉ số diện tích lá (V10)	10,7	2	8,5	*25,9*	*27,9*	-7,7
	Chỉ số diện tích lá (V12)	2,3	-5,4	3,6	*20,2*	*19*	*15,7*

Như được thể hiện trong bảng 5, sự giảm đáng kể chiều cao cây, chiều cao bắp, và chiều dài gióng đã được quan sát thấy ở các cây chuyển gen so với đối chứng. Các cây chuyển gen liên tục thể hiện chiều cao cây dưới 6 feet và chiều cao bắp trên 18 insơ, cho phép thu hoạch bằng cách kết hợp mà không cần sửa đổi máy móc. Trong thí nghiệm

này, đường kính thân cây tăng lên được quan sát đặc biệt trong điều kiện trồng mật độ cao hơn.

Bảng 6 tóm tắt các kết quả thử nghiệm đặc điểm bắp đối với ngô lai. Các thử nghiệm được tiến hành trên các cây ngô lai với 7 sự kiện biến nạp và 3 dòng thử nghiệm, và dữ liệu cho mỗi dòng thử nghiệm được tập hợp trong 7 sự kiện. Các phép đo là sự khác biệt phần trăm delta giữa các cây chuyển gen và đối chứng. Khi thích hợp, giai đoạn phát triển, chẳng hạn như R3, v.v., tại đó phép đo được thực hiện, được biểu thị trong ngoặc đơn dưới cột "Tên đặc điểm". Diện tích bắp là số đo kích thước trung bình của bắp về mặt diện tích từ góc nhìn 2 chiều được chụp bằng cách chụp ảnh bắp, bao gồm cả hạt và khoảng trống. Đường kính bắp là số đo trung bình đường kính bắp trong lô được đo bằng trục "rộng" tối đa của bắp trên phần rộng nhất của nó. Chiều dài bắp là số đo trung bình của chiều dài bắp trong lô đo từ đầu bắp theo đường thẳng đến gốc bắp. Phần trăm khoảng trống đầu bắp là số đo trung bình lô của phần trăm diện tích khoảng trống ở khu vực 30% trên cùng của bắp, từ góc nhìn 2 chiều được chụp bằng cách chụp ảnh bắp, bao gồm cả hạt và khoảng trống. Khoảng trống bắp đo trung bình lô của phần trăm diện tích khoảng trống trên bắp, từ góc nhìn 2 chiều, được đo bằng cách chụp ảnh bắp, bao gồm cả hạt và khoảng trống. Ước tính năng suất hạt được xác định trong ví dụ 7. Hạt trên một đơn vị diện tích được đo bằng trung bình lô của số hạt trên một đơn vị diện tích cánh đồng. Bắp được tập hợp từ một chiều dài hàng đã đặt, thường là một mét, được bóc vỏ và kết hợp để đếm hạt, và số lượng này sau đó được chuyển đổi thành tổng số hạt trên một đơn vị diện tích cánh đồng. Trọng lượng hạt duy nhất đo trung bình lô của trọng lượng trên mỗi hạt. Nó được tính bằng tỷ lệ (trọng lượng hạt mẫu được điều chỉnh theo độ ẩm 15,5%)/(số hạt mẫu). Hạt trên mỗi bắp là số đo trung bình lô của số hạt trên mỗi bắp. Nó được tính bằng (tổng trọng lượng hạt / (trọng lượng hạt đơn * tổng số bắp), trong đó tổng trọng lượng hạt nhân và tổng số lượng bắp được đo từ các mẫu bắp trên diện tích từ 0,19 đến 10 mét vuông.

Bảng 6. Sự chênh lệch về đặc điểm bắp giữa cây chuyển gen và cây đối chứng, trong điều kiện SAP và UHD.

	SAP 30"			UHD 20"		
Tên đặc điểm	Dòng thử nghiệm-1	Dòng thử nghiệm-2	Dòng thử nghiệm-3	Dòng thử nghiệm-1	Dòng thử nghiệm-2	Dòng thử nghiệm-3
Diện tích bắp (R6) (cm^2)	***5,5***	***11,6***	***4,8***	***14,9***	***16,9***	***8,8***
Đường kính bắp (R6) (mm)	***-2,2***	-0,7	***-2,5***	-1,7	1,3	-1,8
Chiều dài bắp (R6) (cm)	***7,3***	***12,5***	***7,4***	***15,4***	***14,3***	***11,1***
Phần trăm khoảng trống đỉnh bắp (R6) (%)	-9,1	-1,1	7,7	-5,8	24	11,1
Khoảng trống của bắp (R6) (%)	-3,3	1,9	9,5	-6,7	10	16,4
Ước tính năng suất hạt (R6) (kg/hecta)	2,8	-4,6	-5,0	0,2	19,2	0,9
Hạt trên mỗi (R6) đơn vị diện tích (hạt/m^2)	-0,7	-9,8	-6,7	***11,6***	***34,4***	9
Hạt trên mỗi bắp (R6) (đếm)	-3,2	0,5	-3,5	***19,1***	***35,2***	6,5
Trọng lượng hạt đơn (R6) (mg)	1,8	5,1	1,1	***-10,5***	***-12,3***	-7,5

Như thể hiện trong Bảng 6, có sự gia tăng đáng kể về diện tích bắp và chiều dài bắp được quan sát trong các thí nghiệm này đối với các cây chuyển gen so với đối chứng. Đường kính bắp cũng giảm đáng kể. Trong thí nghiệm này, ước tính năng suất hạt chủ yếu là trung tính giữa cây chuyển gen và đối chứng.

Số liệu bổ sung được thu thập trên cánh đồng với mật độ tiêu chuẩn qua 8 sự kiện được lai với một dòng thử nghiệm cho thấy việc giảm chiều cao cây, chiều cao bắp và chiều dài gióng, và tăng chỉ số thu hoạch và đường kính thân cây, so với đối chứng (số liệu không được thể hiện). Chiều cao của cây được đo từ mặt đất đến lá có lưỡi nhỏ cao nhất ở giai đoạn R3. Chiều cao bắp được đo từ mặt đất đến đốt bắp ở giai đoạn R3. Đường kính cuống được đo ở giữa gióng cuống 2 đốt bên dưới bắp, trừ khi có chỉ định khác. Những số liệu này đã chứng minh sự xâm nhập cao của chiều cao và đặc điểm thân cây qua các sự kiện, mặc dù sự gia tăng về sản lượng (hoặc số lượng bắp thứ cấp) không đáng kể hoặc không được phát hiện trong các nghiên cứu này.

Trong một thí nghiệm riêng biệt, sự phát triển chiều cao cây được đo từ giai đoạn V11 đến R1 và hơn thế nữa. FIG. 9 thể hiện sự chênh lệch về chiều cao cây giữa cây chuyển gen và đối chứng trong khung thời gian này. Vẽ trên hình là các đường chấm cho chiều cao 5 feet và 6 feet để tham khảo.

Ví dụ 10. Cây chuyển gen biểu hiện các đặc điểm tăng cường trong điều kiện áp lực về nitơ và nước trong điều kiện môi trường được kiểm soát.

Ví dụ này minh họa đáp ứng áp lực về nước và nitơ được tăng cường của cây ngô biến đổi gen có cấu trúc ức chế GA20 oxidaza được mô tả trong ví dụ 1 so với đối chứng, trong nhà kính tự động (AGH) hoặc cánh đồng như đã nêu. Thiết bị và phương pháp phân tích kiểu hình tự động của các cây trong AGH được bộc lộ, ví dụ, trong công bố sáng chế Mỹ số 2011/0135161, được đưa vào đây bằng cách viện dẫn.

Trong môi trường AGH, cây ngô đã được thử nghiệm trong năm điều kiện khác nhau bao gồm không áp lực, thiếu hụt nitơ nhẹ và trung bình, và các điều kiện áp lực thiếu nước nhẹ và trung bình. Cây ngô được trồng trong điều kiện đặc hiệu áp lực được nêu trong Bảng 7.

Bảng 7. Mô tả năm điều kiện tăng trưởng AGH.

Điều kiện	Hàm lượng nước theo thể tích (Volumetric Water Content-VWC)	Nồng độ nitơ
Không áp lực	50%	8mM
Thiếu nước: nhẹ	40%	8mM
Thiếu nước: trung bình	35%	8mM
Thiếu nitơ: nhẹ	50%	6mM
Thiếu nitơ trung bình	50%	4mM

Thiếu nước được định nghĩa là hàm lượng nước thể tích cụ thể (VWC) thấp hơn so với VWC của cây không bị áp lực. Ví dụ, một cây không bị áp lực có thể được duy trì ở mức 50% VWC và VWC cho thử nghiệm thiếu nước có thể được xác định trong khoảng từ 35% đến 40% VWC. Dữ liệu được thu thập bằng cách sử dụng ánh sáng nhìn thấy và hình ảnh siêu phổ cũng như đo trực tiếp trọng lượng chậu và lượng nước và chất dinh

dưỡng được dùng cho từng cây trên cơ sở hàng ngày. Thiếu hụt nitơ được xác định (một phần) là nồng độ của nitơ cụ thể tính theo mM thấp hơn nồng độ nitơ của cây không bị áp lực. Ví dụ, một cây không bị áp lực có thể được duy trì ở mức 8 mM nitơ, trong khi nồng độ nitơ được áp dụng trong thử nghiệm thiếu nitơ có thể được duy trì ở nồng độ từ 4 đến 6 mM.

Lên đến mười thông số được đo cho mỗi thử nghiệm. Các phép đo dựa trên hình ảnh màu ánh sáng nhìn thấy được là: chiều cao cây, sinh khối và diện tích tán. Chiều cao cây (PlntH) đề cập đến khoảng cách từ đỉnh chậu đến điểm cao nhất của cây có nguồn gốc từ hình ảnh bên (mm). Sinh khối (Bmass) được định nghĩa là trọng lượng cành non tươi (g) ước tính của cây thu được từ các hình ảnh thu được từ nhiều góc nhìn. Diện tích tán (Cnop) được định nghĩa là diện tích lá như nhìn thấy trong hình ảnh từ trên xuống (mm^2). Điểm và diện tích anthoxyanin, điểm diệp lục và nồng độ, và điểm hàm lượng nước được đo bằng hình ảnh siêu phổ. Điểm số anthoxyanin (AntS) là ước tính của anthoxyanin trong thân thu được từ hình ảnh siêu phổ từ trên xuống. Diện tích anthoxyanin (AntA) là một ước tính của anthocyanin trong thân cây thu được từ hình ảnh siêu âm nhìn một bên. Điểm diệp lục (ClrpS) và nồng độ diệp lục (ClrpC) là cả hai phép đo diệp lục trong tán lá thu được từ hình ảnh siêu phổ từ trên xuống, trong đó điểm diệp lục được đo bằng đơn vị tương đối, và nồng độ diệp lục được đo bằng đơn vị phần triệu (ppm). Hàm lượng nước trên lá (FlrWtrCt) là một phép đo nước trong tán lá thu được từ hình ảnh siêu phổ từ trên xuống. Hiệu quả sử dụng nước (WUE) được lấy từ số gam sinh khối thực vật trên một lít nước được thêm vào. Nước được dùng (WtrAp) là phép đo trực tiếp nước được thêm vào chậu (chậu không có lỗ) trong quá trình thí nghiệm. Những thử nghiệm sinh lý này đã được thiết lập để các cây chuyển gen được thử nghiệm được so sánh với đối chứng. Cây chuyển gen của hai sự kiện biến nạp đã được đo so với đối chứng. Tất cả các dữ liệu là phần trăm chênh lệch delta của cây chuyển gen so với đối chứng. Điểm dữ liệu với giá trị p thống kê <0,1 được hiển thị bằng phông chữ in nghiêng đậm. Các điểm dữ liệu khác có giá trị p> 0,1.

Bảng 8 tóm tắt kết quả thử nghiệm đặc điểm AGH được đo ở 21 ngày kể từ khi trồng trong giai đoạn sinh dưỡng, trong khi Bảng 9 tóm tắt kết quả thử nghiệm đặc điểm AGH được đo ở 55 ngày kể từ khi trồng trong giai đoạn sinh sản, ở cây chuyển gen có một trong hai sự kiện của cấu trúc ức chế GA20 oxidaza được mô tả trong ví dụ 1 so với các cây đối chứng.

Bảng 8. Cây trồng chuyển gen so với cây đối chứng trong nhà kính trong điều kiện bình thường và áp lực, 21 ngày kể từ khi trồng.

	Sự kiện-1					Sự kiện-2				
	Không áp lực	Thiếu nitơ		Thiếu nước		Không áp lực	Thiếu nitơ		Thiếu nước	
Tên đặc điểm		Nhẹ	Trung bình	Nhẹ	Trung bình		Nhẹ	Trung bình	Nhẹ	Trung bình
Chiều cao cây	*-17,6*	*-20,1*	*-19*	*-21,2*	*-20,8*	*-16,1*	*-19,9*	*-21,6*	*-22,4*	*-21,3*
Sinh khối	-0,06	*-8,9*	*5,61*	*-7,48*	*8,47*	-0,32	*-8,11*	-1,77	*-6,45*	-1,48
Diện tích tán	0,79	*-7,6*	*11,4*	1,45	*16,9*	0,36	*-4,84*	*5,62*	4,38	2,75
Hàm lượng nước ở lá	*18,6*	*23*	*16,3*	*55*	10,1	*8,9*	*30,9*	*15,5*	*55,9*	*21,4*
Diện tích anthoxyanin	*-38,9*	*-28,9*	*-35,4*	*-41*	*-55,5*	*-42,3*	*-39,7*	*-35,4*	*-46*	*-26*
Điểm anthoxyanin	-10,21	-14,5	-2,9	*129,5*	2,4	*78,1*	4,5	3,3	*119,6*	-2,5
Nồng độ chất diệp lục	1,2	0,68	0,04	*-5,84*	3,27	*-8,56*	-2,03	-3,46	-4,14	2,05

Bảng 9. Cây trồng chuyển gen so với cây đối chứng trong nhà kính trong điều kiện bình thường và áp lực, 55 ngày kể từ khi trồng.

	Sự kiện-1					Sự kiện-2				
	Không áp lực	Thiếu nitơ		Thiếu nước		Không áp lực	Thiếu nitơ		Thiếu nước	
Tên đặc điểm		Nhẹ	Trung bình	Nhẹ	Trung bình		Nhẹ	Trung bình	Nhẹ	Trung bình
Chiều cao cây	*-31,9*	*N/A*	*N/A*	*-40,7*	*-25,4*	*-33,3*	*N/A*	*N/A*	*-41,3*	*-29,6*
Sinh khối	*-26,1*	*N/A*	*N/A*	*-25,2*	*-5,5*	*-26,1*	*N/A*	*N/A*	*-26,8*	*-13,7*
Trọng lượng bắp	*60,7*	*28,7*	*36*	10,7	*203,3*	*75,7*	*40,4*	*33,5*	*23,2*	*109,9*
Trọng lượng rơm	*-12,9*	*-12,1*	*-15,8*	*-13,7*	0	*-12,1*	*-11,9*	*-22,9*	*-11,4*	*-6,8*

Chỉ số thu hoạch	*74,6*	*42,5*	*60,4*	*25,9*	*192*		*90,7*	*54,1*	*65*	*35,3*	*120,5*
Nước được dùng	*-8*	*N/A*	*N/A*	*-16,8*	*3,4*		*-11,3*	*N/A*	*N/A*	*-16,3*	-2,3
WUE	*-19,2*	*N/A*	*N/A*	*-10,1*	*-8,5*		*-16,5*	*N/A*	*N/A*	*-12,5*	*-11,3*

Như thể hiện trong Bảng 8, so với đối chứng, cây chuyển gen biểu hiện một số đặc điểm tăng cường liên quan đến khả năng chịu áp lực và duy trì các đặc điểm tích cực khác trong điều kiện áp lực. Chiều cao cây giảm đáng kể trong tất cả các lần xử lý và không bị ảnh hưởng bởi điều kiện áp lực. Sinh khối và diện tích tán là trung tính trong điều kiện không áp lực nhưng tăng trong điều kiện áp lực nghiêm trọng hơn. Hàm lượng nước trong lá tăng đáng kể trong điều kiện không áp lực và áp lực, cho thấy cây chuyển gen giữ lại nhiều nước hơn trong các mô lá. Diện tích anthoxyanin giảm đáng kể trong điều kiện không áp lực và áp lực, cho thấy không có sự thiếu hụt nitơ trong cây chuyển gen.

Như thể hiện trong Bảng 9, so với đối chứng, cây chuyển gen biểu hiện giảm đáng kể các vùng đặc điểm của Nước áp dụng, WUE, sinh khối và trọng lượng rơm, cho thấy cây chuyển gen đã cải thiện hiệu quả sử dụng nước, với cây có sinh khối thấp hơn cần ít nước hơn. Chỉ số thu hoạch tăng đáng kể trong điều kiện không áp lực và áp lực.

Ví dụ 11. Cây chuyển gen biểu hiện tăng khả năng chịu hạn, độ dẫn của khí khổng và tốc độ mọc rễ phía trước ở các giai đoạn sinh sản ở cả mật độ tiêu chuẩn và mật độ cao trên cánh đồng.

Các quan sát trực tiếp được thực hiện bằng cách giảm sự cuộn lá ở cây ngô chuyển gen có cấu trúc ức chế GA20 oxidaza từ Ví dụ 1 trong điều kiện khô hạn trên cánh đồng so với cây đối chứng. Sự cuộn lá ngô xảy ra khi tiềm năng nước của lá giảm xuống dưới ngưỡng khoảng -1,1 MPa. Độ dẫn của khí khổng cũng giảm khi thiếu nước. Các tỷ lệ đồng vị oxy ổn định ($\delta^{18}O$) đã được sử dụng như một chỉ số về độ dẫn của khí khổng, tỷ lệ nghịch với độ dẫn của khí khổng. Sự sụt giảm đáng kể $\delta^{18}O$, và do đó sự gia tăng đáng kể độ dẫn của khí khổng, ở cây chuyển gen so với đối chứng đã được quan sát từ các mẫu lá bắp được thu thập ở giai đoạn R5 (xem FIG. 10). Dữ liệu được lấy từ các cây chuyển gen qua hai sự kiện biến nạp và tính trung bình trên 10 dòng thử nghiệm với 2 đại diện cho mỗi dòng thử nghiệm. $\delta^{18}O$ tăng trong lá của cây đối chứng cho thấy độ dẫn của khí khổng thấp hơn đối với đối chứng. Cùng với việc giảm sự cuộn lá trên cánh đồng, sự gia tăng đáng kể độ dẫn

của khí khổng ở lá của cây chuyển gen từ các thử nghiệm năng suất ở 15 trên 16 vị trí cánh đồng cho thấy tình trạng nước của lá được cải thiện trong quá trình sinh trưởng muộn của cây chuyển gen.

Sự hấp thụ nước hiệu quả của rễ là một yếu tố quan trọng trong sự phát triển của cây. Để đo lường tiến trình phát triển của độ sâu rễ, các đầu dò điện dung độ ẩm đất Sentek® SOLO đã được lắp đặt ở giai đoạn V4 trong hàng giữa các cây tại một địa điểm trên cánh đồng. Độ ẩm của đất được đo trên cơ sở hàng giờ với các cảm biến điện dung ở độ sâu 10, 20, 30, 50, 70, 90, 120 và 150 cm so với mặt đất. Độ sâu của mặt trước rễ đã được suy ra bởi sự hiện diện của các mẫu hằng ngày trong sự cạn kiệt độ ẩm đất được ghi lại bởi các cảm biến. Hoạt động của rễ đã có mặt ở độ sâu 10, 20 và 30 cm tại thời điểm cài đặt ở giai đoạn V4. Chúng tôi đã phát hiện sự xuất hiện đầu tiên của sự cạn kiệt độ ẩm đất ở độ sâu 50, 70 và 90 cm. Đất ở độ sâu 120 và 150 cam đã bão hòa trong suốt mùa sinh trưởng. Mặc dù sự phát triển của rễ có thể đạt đến những độ sâu này, chúng tôi không thể phát hiện hoạt động của rễ ở những độ sâu này trong thí nghiệm này do không thể phát hiện sự cạn kiệt độ ẩm của đất trong vùng bão hòa. FIG. 11 cho thấy thời gian (ngày sau khi trồng) để rễ trước của cây đạt được độ sâu khác nhau trên trục Y. Các đường có vòng tròn dành cho cây ở khoảng cách hàng 30 insơ và mật độ trồng 34.000 cây trên một mẫu Anh, và các đường có hình vuông dành cho cây ở khoảng cách hàng 20 insơ và mật độ trồng 55.000 cây trên một mẫu Anh. Các giai đoạn tăng trưởng được hiển thị trên trục X. Như thể hiện trên FIG. 11, sự phát triển của rễ là tương tự trong thí nghiệm này giữa cây chuyển gen và cây đối chứng lên đến V12, với rễ đạt độ sâu 50 và 70 cm tương ứng vào khoảng 30 và 36 ngày sau khi trồng. Tuy nhiên, rễ cây chuyển gen đạt độ sâu 90 cm tại hoặc trước R1 (tức là vào khoảng ngày thứ 50 sau khi trồng), hoặc sớm hơn khoảng 20 ngày so với rễ cây đối chứng. Các cây chuyển gen biểu hiện tăng tốc độ mọc rễ phía trước sau giai đoạn V11/V12, điều này có thể dẫn đến tăng khả năng tránh hạn hán trong giai đoạn quan trọng của sự phát triển của cây quanh giai đoạn ra hoa. Sự gia tăng tốc độ mọc rễ phía trước này có thể cho phép các cây chuyển gen tận dụng nguồn nước dự trữ sâu hơn trong đất trong giai đoạn quan trọng xung quanh giai đoạn R1, có thể tránh, làm giảm hoặc tối thiểu hóa các tác động hạn hán đối với sự ra hoa và thụ phấn. Cải thiện thụ phấn trong điều kiện khô hạn có thể cải thiện bộ hạt và tiềm năng năng suất.

Để bổ sung cho thí nghiệm trên cánh đồng bằng cảm biến độ ẩm, tốc độ rễ phía trước cây ngô chuyển gen có cấu trúc ức chế GA20 oxidaza từ Ví dụ 1 (n = 10) đã được

đo trong thí nghiệm hộp rễ và so với cây đối chứng kiểu dại (n = 9). Các hộp rễ thuỷ tinh plexi (cao 5 feet và mặt cắt 6 phần 8 insơ; độ dày thành 1/2 insơ) được lấp đầy bằng hỗn hợp đất cánh đồng số 10 / vermiculit / perlit (tỷ lệ 1: 1: 1) và được sử dụng để trực quan hóa rễ cho từng cây. Độ sâu mọc rễ tối đa trong mỗi hộp được đo tại các khoảng thời gian đều đặn sau khi trồng (khoảng hai ngày một lần). Trong thí nghiệm này, độ sâu phía trước rễ trung bình của cây chuyển gen luôn cao hơn hoặc sâu hơn so với cây đối chứng WT bắt đầu từ khoảng 21 ngày sau khi trồng (tức là ở giai đoạn khoảng V4) và tiếp tục cho đến ít nhất 34 ngày sau khi trồng khi ngừng đo (dữ liệu không được hiển thị). Quan sát này trong các hộp rễ môi trường được kiểm soát phù hợp với độ sâu rễ tăng lên được quan sát bằng cảm biến độ ẩm trong cánh đồng và cho thấy rễ sâu hơn có thể xảy ra ở giai đoạn phát triển trước đó, mặc dù sự khác biệt về độ sâu của rễ không được phát hiện trong thí nghiệm tại cánh đồng cho đến sau giai đoạn V11/V12.

Mặc dù các đặc điểm rễ được đo trong các thí nghiệm môi trường được kiểm soát được mô tả trong Ví dụ 14 dưới đây thường không cho thấy sự khác biệt đáng kể về độ sâu của rễ (hoặc chỉ khác biệt tối thiểu), thí nghiệm vermiculit trong Ví dụ 14 được thực hiện ở giai đoạn V3 trước khi chênh lệch độ sâu của rễ đã được quan sát trong thí nghiệm hộp rễ trong ví dụ 11 này (nghĩa là bắt đầu từ giai đoạn V4) và mặc dù thí nghiệm thiết bị khí canh trong ví dụ 14 được thực hiện ở giai đoạn V5, hệ thống khí canh không có bất kỳ tương tác đất-thực vật nào (không giống như thí nghiệm vermiculit) có thể ảnh hưởng đến sự tăng trưởng và phát triển rễ bình thường (hoặc tự nhiên hơn).

Ví dụ 12. Cây chuyển gen có độ dẫn khí khổng cao hơn trong điều kiện bình thường và hạn hán và duy trì khả năng quang hợp cao hơn dưới áp lực hạn hán

Độ dẫn của khí khổng và mức độ quang hợp ở lá trong điều kiện bình thường và hạn hán cũng được đo trong nhà kính. Đối với thí nghiệm này, cây chuyển gen với cấu trúc ức chế GA20 oxidaza từ Ví dụ 1 và cây đối chứng kiểu dại đã được xử lý tưới nước (1500 ml nước mỗi ngày) hoặc hạn chế nước / hạn hán mãn tính (1000 ml nước mỗi ngày). Hai mươi (20) đại diện của cây đối chứng kiểu dại và mười (10) đại diện cho mỗi sự kiện (tổng hai sự kiện) cho cấu trúc ức chế GA20 oxidaza đã được xử lý bằng nước, và một trăm bốn mươi (140) đại diện trong số các cây đối chứng kiểu dại và bảy mươi (70) đại diện cho mỗi sự kiện (tổng cộng hai sự kiện) cho cấu trúc ức chế GA20 oxidaza đã bị hạn chế nước / hạn hán mãn tính. Các cây viền có chiều cao thích hợp (giống lai cho cây WT và giống thuần

cho cây chuyển gen) được trồng xung quanh chu vi của cây thử nghiệm trong nhà kính để bình thường hóa hiệu ứng của bóng râm. Các phép đo độ dẫn khí khổng và quang hợp hằng ngày được thực hiện vào buổi sáng và buổi chiều với thiết bị LI-COR® ở giai đoạn V12 theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Như thể hiện trên FIG. 12A, độ dẫn của khí khổng được phát hiện là cao hơn đối với cây chuyển gen trong cả điều kiện tưới nước và hạn hán ở cả hai thời điểm hằng ngày. Cây chuyển gen cũng được quan sát thấy có ít lá cuốn hơn trong điều kiện khô hạn. Như thể hiện thêm trong FIG. 12B, tốc độ quang hợp cao hơn cũng đã được quan sát trong điều kiện hạn hán không phản ứng đáng kể với ánh sáng mặt trời tăng vào buổi chiều, không giống như các cây đối chứng cho thấy tốc độ quang hợp giảm vào buổi chiều đặc biệt là trong điều kiện khô hạn.

Các kết quả này (kết hợp với các quan sát trên cánh đồng riêng biệt ở trên) chứng minh rằng cây chuyển gen với cấu trúc ức chế GA20 oxidaza không chỉ trao đổi khí và quang hợp cao hơn trong lá, mà còn duy trì trao đổi khí và quang hợp cao hơn trong lá để đáp ứng với điều kiện hạn chế nước / hạn hán mãn tính. Còn quan sát được rằng cây chuyển gen có nhiệt độ lá thấp hơn so với các cây đối chứng (số liệu không được thể hiện). Do đó, dự đoán rằng cây chuyển gen biểu hiện cấu trúc ức chế GA20 oxidaza có thể có khả năng chịu hạn cao hơn và khả năng duy trì quang hợp trong các điều kiện hạn chế nước khi so với các đối chứng. Không bị giới hạn bởi lý thuyết, đề xuất thêm rằng rễ sâu hơn được quan sát đối với cây chuyển gen có cấu trúc ức chế GA20 oxidaza (đặc biệt là trong giai đoạn sinh sản sớm và sinh dưỡng muộn) có thể góp phần vào khả năng chịu hạn của cây chuyển gen này.

Ví dụ 13. Cây chuyển gen biểu hiện các đặc điểm sinh sản có thể so sánh được với cây đối chứng trong điều kiện nhà kính.

Cây ngô biến đổi gen có cấu trúc ức chế GA20 oxidaza được mô tả trong ví dụ 1 và cây đối chứng được trồng trong chậu trong nhà kính đến giai đoạn R1 sinh sản, và đặc điểm sinh sản được xác định ở giai đoạn V8 và R1. Dữ liệu được lấy đối với cây chuyển gen của hai sự kiện biến nạp (Bảng 10). Dữ liệu dữ liệu đề xuất hoặc về sự khác biệt về số ngày hoặc chênh lệch phần trăm, đối với cây chuyển gen so với đối chứng kiểu dại, và những thay đổi đáng kể được in đậm. Tên đặc điểm được định nghĩa trong ví dụ 9 và 10 ở trên. Các quan sát cụ thể về các đặc điểm và các nhóm đặc điểm của hoa, bắp chưa trưởng thành, bắp trưởng thành và cờ được tóm tắt trong bảng này. Nhìn chung, sự phát triển sinh

sản trong cây chuyển gen gần như tương đương với cây đối chứng chỉ với một vài thay đổi nhỏ hoặc không đáng kể.

Bảng 10. Các đặc điểm sinh sản của cây chuyển gen so với đối chứng.

Nhóm	Đặc điểm	Sự kiện-1	Sự kiện-2	Quan sát
Phát triển (R1)	Chiều cao cây	***-17,60%***	***-14%***	Cây thấp
	Số lá ở đỉnh	***2%***	1,10%	Tăng nhẹ số lượng lá (0,3)
Ra hoa (R1)	Số ngày đến khi ra râu 50% và rụng phấn 50%	***-0,4 ngày***	***-0,5 ngày***	Thời gian rụng phấn hơi chậm với thời gian ra râu bình thường; ASI thấp hơn
	Số ngày đến khi rụng phấn 50%	***1,10%***	***1,10%***	
	Số ngày đến khi ra râu 50% nhìn thấy	0,40%	-0,10%	
Bắp chưa trưởng thành (V8)	Đường kính bắp ở nền	***-28,50%***	***-22,60%***	Sự bắt đầu phát triển bắp chậm hơn
	Chiều dài gióng bắp chưa trưởng thành	-6,10%	-4,20%	
	Chiều dài bắp chưa trưởng thành	***-42%***	***-31%***	
	Hạt chưa trưởng thành / hàng theo chiều dọc	***-38,70%***	***-29,70%***	
Bắp trưởng thành (R1)	Hạt / hàng theo chiều dọc	-1%	-0,40%	Bắp trưởng thành phát triển thực sự
	Số hạt trong hàng	2,20%	0%	
	Tổng số hoa	1,10%	-0,50%	
	Số cuống hoa trên gióng	-3,60%	0,10%	
Tassel (R1)	Số nhánh cờ	-5,40%	-3,80%	Cờ phát triển thực sự nhưng có gióng thứ nhất thấp hơn
	Số nhánh cờ bên đầu tiên	***-10,40%***	-9,10%	

	Số nhánh cờ bên thứ cấp	-17,60%	-13,70%
	Mật độ cuống hoa	-8,50%	-0,40%
	Chiều dài gióng cờ thứ nhất	***-34,10%***	***-32,70%***

Ví dụ 14. Đặc điểm rễ của cây chuyển gen và cây đối chứng trong điều kiện nhà kính.

Cây chuyển gen có cấu trúc ức chế GA20 oxidaza được mô tả trong Ví dụ 1 và cây đối chứng được trồng trong nhà kính trong môi trường vermiculit đến giai đoạn V3 hoặc trong một thiết bị khí canh đến giai đoạn V5. Cây được chiết và rửa sạch rễ để xác định trực tiếp hoặc bằng hình ảnh quang học các đặc điểm của rễ. Cây chuyển gen của 4 sự kiện biến đổi đã được thử nghiệm so với đối chứng. Kết quả xác định lần lượt được tóm tắt trong Bảng 11 và 12 cho các cây từ môi trường tăng trưởng có vermiculit, hoặc trong thiết bị tăng trưởng khí canh. Số điểm nhánh rễ xác định số lượng điểm đầu nhánh rễ của cây thông qua hình ảnh của rễ cây. Hình ảnh hệ thống rễ đã được làm trơ khung để xác định chiều dài rễ. Lên đến 40 hình ảnh được chụp ở các góc khác nhau xung quanh trục dọc của rễ và phép đo được tính trung bình trên các hình ảnh. Tổng chiều dài rễ đo chiều dài tích lũy của rễ cây, như thể tất cả các rễ được xếp thành một hàng, thông qua hình ảnh của hệ thống rễ của cây. Hình ảnh hệ thống rễ đã được làm trơ khung để xác định chiều dài rễ. Lên đến 40 hình ảnh được chụp ở các góc khác nhau xung quanh trục dọc của rễ và phép đo được tính trung bình trên các hình ảnh. Dữ liệu trong Bảng 11 và 12 là phần trăm chênh lệch delta của cây chuyển gen so với cây đối chứng với các thay đổi đáng kể được in đậm.

Bảng 11. Đặc điểm rễ trong nhà kính của cây chuyển gen so với đối chứng ở V3, trong môi trường vermiculit

	Sự kiện-1	**Sự kiện-2**	**Sự kiện-3**	**Sự kiện-4**
Đường kính rễ trung bình	***-12,2***	***-9,3***	***-13,8***	-5,9
Số điểm nhánh rễ	***12,6***	5,8	***11,7***	-0,4
Trọng lượng khô của rễ	1	-5,6	-7,1	-5

Diện tích bề mặt rễ	2,2	-6,2	-6	0
Tổng chiều dài của rễ	***10***	-1,9	3	1,4
Chiều cao cây	***-15,7***	***-14,4***	***-12,3***	***-17,3***
Trọng lượng khô chồi non	-3,6	-2	-4,5	-7,7
Tỷ lệ chồi non rễ	-1,5	3,4	1,8	-3,4

Bảng 12. Đặc điểm rễ trong nhà kính của cây chuyển gen so với đối chứng ở V5, trong thiết bị khí canh.

	Sự kiện-1	**Sự kiện-2**	**Sự kiện-3**	**Sự kiện-4**
Số điểm nhánh rễ	-6,18	5,01	5,63	6,38
Tổng chiều dài rễ	-1,47	5,43	2,46	6,92
Độ rộng trung bình rễ	-1,12	-5,05	-5,23	-3,56
Thể tích rễ	-1,1	-4,21	-8,47	-1,09
Trọng lượng khô của rễ	5,21	-7,51	-2,61	4,52
Diện tích bề mặt rễ	-1,51	0,93	-2,71	3,06
Chiều cao cây	***-13,84***	***-16,29***	***-14,02***	***-12,83***
Trọng lượng khô của chồi	***-9,04***	***-16,58***	***-11,58***	***-7,06***
Tổng trọng lượng khô	-4,41	***-14,19***	-8,54	-3,24
Tỷ lệ chồi/rễ	***-17,16***	***-13,13***	***-10,17***	***-13,52***

Như thể hiện trên bảng 11 và 12, cây chuyển gen thể hiện sự sụt giảm đáng kể về chiều cao cây ở giai đoạn V3 và V5, nhưng chỉ có các biến thể nhỏ trong kiến trúc rễ tổng thể được quan sát thấy trong các thí nghiệm này giữa cây chuyển gen và cây đối chứng.

Ví dụ 15. Quan sát kiểu hình của cây chuyển gen với các đoạn khởi đầu thay thế.

Trong các ví dụ từ 1 đến 14, cây chuyển gen có chứa yếu tố ức chế GA20 oxidaza được liên kết theo kiểu hoạt động được với đoạn khởi đầu RTBV. Cây ngô cũng được biến nạp bằng cùng một yếu tố ức chế được liên kết theo kiểu hoạt động được với các đoạn khởi đầu khác nhau, để kiểm tra cách mà các kiểu biểu hiện khác nhau của yếu tố ức chế GA20 oxidaza có thể ảnh hưởng đến chiều cao cây và các kiểu hình khác.

Cây chuyển gen (cây R0) được tái sinh từ các mảnh cấy được biến nạp bằng các cấu trúc được liên kết theo kiểu hoạt động được với các đoạn khởi đầu khác nhau đã được quan sát ở giai đoạn tăng trưởng R5 trong nhà kính và bắp được quan sát thấy sau khi được bóc ra để làm khô. Các đoạn khởi đầu khác nhau được thử nghiệm được xác định trong Bảng 13. Các quan sát được thực hiện đối với các cây có nhiều sự kiện biến nạp cho mỗi cấu trúc chứa đoạn khởi đầu khác nhau so với các cây đối chứng của cùng một dòng giống mà không có cấu trúc ức chế GA20 oxidaza. Kết quả của những quan sát này được tóm tắt trong Bảng 13 qua các sự kiện biến nạp cho mỗi cấu trúc.

Bảng 13. Tóm tắt các quan sát R0 của cây chuyển gen với cấu trúc ức chế miARN cho GA20 oxidaza dưới sự kiểm soát của các đoạn khởi đầu khác nhau.

Tên đoạn khởi đầu	Kiểu biểu hiện	Quan sát cây R0
Đoạn khởi đầu RTBV	mạch tăng	thấp; không khác dạng
Đoạn khởi đầu CAMV e35S	cơ bản	một số thấp (biến đổi); không khác dạng
Đoạn khởi đầu Coix lacryma-jobi polyubiquitin	cơ bản	một số thấp (biến đổi); không khác dạng
Đoạn khởi đầu actin lúa	cơ bản	một số thấp (biến đổi); không khác dạng
Đoạn khởi đầu Gos2 lúa	cơ bản	một số thấp (biến đổi); không khác dạng
Đoạn tăng cường + đoạn khởi đầu RTBV	cơ bản	thấp; không khác dạng
C1	cơ bản	thấp
Đoạn khởi đầu PPDK ngô	lá tăng, cao	thấp trung bình; không khác dạng
Đoạn khởi đầu FDA ngô	lá tăng, trung bình	một số thấp (biến đổi); không khác dạng
Đoạn khởi đầu Nadh-Gogat lúa	lá tăng, thấp	thấp trung bình; không khác dạng
Đoạn khởi đầu Cyp2 lúa	mạch tăng	một số thấp (biến đổi); không khác dạng

V1	mạch tăng	thấp; không khác dạng
V2	mạch tăng	chiều cao bình thường; không khác dạng
V3	mạch tăng	chiều cao bình thường; không khác dạng
Đoạn khởi đầu MMV.FLT	thân tăng, cao	chiều cao bình thường; không khác dạng
S1	thân tăng, trung bình	chiều cao bình thường; không khác dạng
S2	thân tăng, trung bình	chiều cao bình thường; không khác dạng
S3	thân tăng, trung bình	chiều cao bình thường; không khác dạng
Đoạn khởi đầu SETit.Ifr	rễ tăng, cao mạch tăng	thấp trung bình; không khác dạng
Đoạn khởi đầu Rcc3 lúa	rễ tăng, thấp	chiều cao bình thường; không khác dạng
Đoạn khởi đầu Expb lúa	bắp tăng, cao	chiều cao bình thường; không khác dạng
Đoạn khởi đầu H2a ngô	bắp tăng, thấp	chiều cao bình thường; không khác dạng

Như được thể hiện trong bảng 13, khi so với cây đối chứng, cây chuyển gen R0 với cấu trúc ức chế GA20 oxidaza không thể hiện bất kỳ sự khác dạng đáng kể nào bằng cách quan sát tất cả các đoạn khởi đầu được thử nghiệm. Ngay cả sự biểu hiện trực tiếp trong các mô bắp sinh sản cũng không gây ra bất kỳ sự khác dạng có thể quan sát được. Chiều cao cây giảm rõ ràng không chỉ đối với cấu trúc đoạn khởi đầu RTBV (trong các ví dụ trước), mà còn đối với cây chuyển gen có có cùng cấu trúc ức chế GA20 oxidaza được liên kết theo kiểu hoạt động được với các đoạn khởi đầu cơ định khác nhau, các đoạn khởi đầu lá ở các mức biểu hiện khác nhau, một số đoạn khởi đầu mạch, và đoạn khởi đầu rễ với mức độ biểu hiện cao. Đoạn khởi đầu được thao tác di truyền với biểu hiện cơ định (C1) liên kết với cấu trúc ức chế GA20 oxidaza đã được thử nghiệm và cũng được thấy là gây ra kiểu hình tầm vóc thấp. Tương tự, ít nhất đoạn khởi đầu được thao tác di truyền với biểu hiện mạch máu (V1) được liên kết với cấu trúc ức chế GA20 oxidaza đã được thấy là

gây ra kiểu hình tầm vóc thấp, ngoài đoạn khởi đầu mạch Cyp2 lúa, mặc dù các cây với hai đoạn khởi đầu mạch được thao tác di truyền khác (V2, V3), và ba đoạn khởi đầu thân được thao tác di truyền (S1, S2, S3), không có chiều cao cây giảm. Tuy nhiên, việc thay đổi trình tự kết thúc phiên mã cho cấu trúc ức chế GA20 oxidaza dưới sự kiểm soát của đoạn khởi đầu RTBV không làm thay đổi kiểu hình tầm vóc thấp (không được hiển thị trong Bảng 11). Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "thấp trung bình" dùng để chỉ sự giảm trung bình chiều cao cây (so với sự giảm chiều cao cây quan sát được với đoạn khởi đầu RTBV), và kết quả quan sát "một số thấp" nghĩa là có một số thay đổi về mức giảm chiều cao cây.

Các kết quả này cho thấy sự biểu hiện của yếu tố ức chế GA20 oxidaza bằng đoạn khởi đầu cơ định thường tạo ra kiểu hình chiều cao thấp, mặc dù có một số biến đổi trong kiểu hình chiều cao cây được quan sát thấy với các đoạn khởi đầu cơ định này. Tương tự như vậy, sự kết hợp giữa đoạn khởi đầu RTBV với một yếu tố tăng cường để chuyển đổi kiểu biểu hiện từ mạch sang cơ định vẫn tạo ra kiểu hình chiều cao thấp (biểu thị sự đầy đủ của đoạn khởi đầu RTBV). Một vài đoạn khởi đầu mạch bao gồm đoạn khởi đầu RTBV tạo ra kiểu hình chiều cao thấp, nhưng một cặp đoạn khởi đầu mạch được thao tác di truyền khác không tạo ra kiểu hình chiều cao thấp, mà có thể được quy cho mức độ biểu hiện thấp hơn với các đoạn khởi đầu này. Không có đoạn khởi đầu nào trong số các đoạn khởi đầu thân tạo ra kiểu hình chiều cao thấp, cho thấy sự biểu hiện của cấu trúc ức chế GA20 trong thân cây là không đủ để tạo ra kiểu hình này. Đáng ngạc nhiên là, sự biểu hiện của cấu trúc ức chế GA20 trong lá thường tạo ra các kiểu hình chiều cao thấp với các mức độ biểu hiện khác nhau, mặc dù kết quả có phần thay đổi. Số liệu này chỉ ra rằng việc tạo GA hoạt động trong mô lá góp phần vào sự phát triển của cây và cuối cùng là chiều cao cây, mặc dù sự phát triển theo chiều dọc như vậy xảy ra ở thân hoặc cuống của cây. Sự biểu hiện của cấu trúc ức chế GA20 oxidaza với các đoạn khởi đầu rễ khác nhau thường không tạo ra kiểu hình chiều cao thấp, mặc dù một đoạn khởi đầu rễ đã tạo ra kiểu hình trung bình, mà có thể là do sự biểu hiện bổ sung trong các mô cây trên mặt đất.

Các cây R0 sau đó được tự lai và hạt giống thu được được trồng trong vườn ươm để tạo ra các giống cây con lai cùng dòng đồng hợp tử (cây R1). Các quan sát về cây con chuyển gen của R1 với một số cấu trúc của đoạn khởi đầu (ít nhất là 4 sự kiện biến nạp trên mỗi cấu trúc) đã được thực hiện ở giai đoạn phát triển R1, so với các cây đối chứng

cùng dòng mà không có cấu trúc ức chế GA20 oxidaza. Giống như các cây R0, các cây con R1 biểu hiện cấu trúc ức chế GA20 oxidaza với mỗi trong số các đoạn khởi đầu RTBV, CAMV e35S và các đoạn khởi đầu *Coix lacryma-jobi* polyubiquitin cũng được phát hiện là có kiểu hình chiều cao thấp, bán lùn mà không có bất kỳ sự khác dạng nào được quan sát.

Ví dụ 16. Quan sát kiểu hình của cây ngô biến đổi gen với cấu trúc nhắm đích các gen GA oxidaza khác nhau.

Các ví dụ trên chứng minh rằng cấu trúc biểu hiện miARN nhắm đích các gen GA20 oxidaza_3 và GA20 oxidaza_5 để ức chế, và được liên kết theo kiểu hoạt động được với đoạn khởi đầu mạch, cơ định và/hoặc lá có thể biểu hiện được ở thực vật, có thể được sử dụng để tạo ra cây ngô chiều cao thấp, bán lùn. Để kiểm tra cách nhắm đích các gen GA20 hoặc GA3 oxidaza khác nhau, hoặc các phần khác nhau của các gen GA20 oxidaza_3 và/hoặc GA3 oxidaza_5, để ức chế có thể ảnh hưởng đến chiều cao cây, một vài cấu trúc đã được tạo ra và biến nạp vào cây ngô. Các cấu trúc cũng được tạo ra với cùng một trình tự đích như trong các ví dụ trên, nhưng với trình tự xương sống miARN khác nhau (hai từ các miARN ngô, một từ miARN đậu nành, và một từ miARN bông - cấu trúc trong các ví dụ trên đã sử dụng trình tự xương sống miARN lúa). Bảng 14 cung cấp danh sách các cấu trúc ức chế bổ sung này, cùng với các quan sát về cây chuyển gen R0 gồm các cấu trúc này trong nhà kính (so với cây đối chứng kiểu dại). Các cấu trúc nhắm đích (i) GA20 oxidaza_1 / GA20 oxidaza_2, (ii) GA20 oxidaza_3 / GA20 oxidaza_9, (iii) GA20 oxidaza_7 / GA20 oxidaza_8, và (iv) GA20 oxidaza_3 / GA20 oxidaza_5 (với các xương sống miARN khác nhau), mỗi loại mã hóa miARN với trình tự nhắm đích đơn bổ trợ cho cả hai gen đích, trong khi các lớp (i) trình tự đích GA20 oxidaza_3 và GA20 oxidaza_5 riêng lẻ, (ii) trình tự đích GA20 oxidaza_4 và GA20 oxidaza_6 riêng lẻ, và (iii) trình tự đích GA20 oxidaza_4 và GA20 oxidaza_7/8 riêng lẻ, mỗi loại được biểu hiện ở dạng tiền chất miARN đơn với hai trình tự đích được sắp xếp song song mà sẽ được phân cắt và được tách thành hai miARN thuần thục. Bảng 14 cung cấp trình tự nhắm đích miARN và trình tự ADN bổ trợ bổ trợ cho trình tự nhắm đích miARN. Đối với cấu trúc GA20 oxidaza_1 / GA20 oxidaza_2, dấu hoa thị (*) chỉ ra rằng chiều dài sắp thẳng hàng giữa trình tự nhắm đích của miARN và đích mARN hoặc vị trí nhận biết là ngắn hơn (17 so với 20 nucleotit) đối với GA20 oxidaza_1 so với GA20 oxidaza_2. Tương tự như vậy đối với

cấu trúc GA20 oxidaza_3 / GA20 oxidaza_9, dấu hoa thị (*) chỉ ra rằng chiều dài sắp thẳng hàng giữa trình tự nhắm đích của miARN và đích mARN hoặc vị trí nhận biết là ngắn hơn (17 so với 20 nucleotit) đối với GA20 oxidaza_9 so với GA20 oxidaza_3. Đối với mỗi cấu trúc được liệt kê trong Bảng 14, không có sự khác dạng đáng kể nào được quan sát, ngoài các quan sát được cung cấp trong bảng.

Bảng 14. Tóm tắt các quan sát R0 của cây chuyển gen với các cấu trúc ức chế miARN nhắm đích các gen GA oxidaza khác nhau.

(Các) gen nhắm đích (Cấu trúc / Đoạn khởi đầu)	Vùng nhắm đích mARN	Trình tự đích ADN bổ trợ (SEQ ID NO)	Trình tự nhắm đích miARN (SEQ ID NO)	Quan sát
GA20 oxidaza_1 và GA20 oxidaza_2 (*đoạn khởi đầu RTBV*)	1: exon* 2: exon	47	48	Tất cả các sự kiện cao (WT)
GA20 oxidaza_3 và GA20 oxidaza_9 (*đoạn khởi đầu RTBV*)	3: exon 9: exon*	49	50	Tất cả các sự kiện cao (WT)
GA20 oxidaza_7 và GA20 oxidaza_8 (*đoạn khởi đầu RTBV*)	exon	51	52	Tất cả các sự kiện - cao (WT)
GA20 oxidaza_3 (*riêng lẻ; đoạn khởi đầu RTBV và 35S*)	UTR	53	54	Các sự kiện hơi thấp hơn (~6 insơ so với WT)
GA20 oxidaza_5 (*riêng lẻ; đoạn khởi đầu RTBV và 35S*)	UTR	55	56	Tất cả các sự kiện - cao (WT)
GA20 oxidaza_3 và GA20 oxidaza_5 (*riêng lẻ; xếp chồng song song*)	3: UTR	53	54	Tất cả các sự kiện – thấp hơn
	5: UTR	55	56	
GA20 oxidaza_3 và GA20 oxidaza_5 (*các xương sống miARN khác nhau*) (*đoạn khởi đầu RTBV*)	3/5: exon	39	40	Tất cả các sự kiện/cấu trúc – thấp hơn
GA3 oxidaza_1 (*đoạn khởi đầu RTBV*)	UTR	57	58	Tất cả các sự kiện - cao (WT) (chỉ 3 sự kiện được quan sát)

GA3 oxidaza_1 (*đoạn khởi đầu CAMV e35S*)	UTR	57	58	Một vài sự kiện – thấp hơn
GA3 oxidaza_2 (*đoạn khởi đầu RTBV*)	exon	59	60	Tất cả các sự kiện - thấp hơn (các lá xanh sẫm hơn)
GA3 oxidaza_2 (*đoạn khởi đầu CAMV e35S*)	exon	59	60	Một vài sự kiện – thấp hơn
GA20 oxidaza_4 và GA20 oxidaza_6 *(riêng lẻ; xếp chồng song song)*	4: exon	61	62	Một vài sự kiện – thấp hơn vừa phải (~20%)
	6: exon	63	64	
GA20 oxidaza_4 và GA20 oxidaza_7/8 *(riêng lẻ; xếp chồng song song)*	4: exon	61	62	Một vài sự kiện – thấp hơn vừa phải (~20%)
	7/8: exon	51	52	

Các quan sát được tóm tắt trong Bảng 14 chứng minh rằng việc nhắm đích một vài gen oxidaza GA20 khác không tạo ra kiểu hình chiều cao thấp, bán lùn. Không có cấu trúc nào nhắm đích (i) các gen GA20 oxidaza_1 và GA20 oxidaza_2 có liên quan, (ii) các gen GA20 oxidaza_3 và GA20 oxidaza_9 có liên quan, (iii) các gen GA20 oxidaza_7 và GA20 oxidaza_8 có liên quan, hoặc (iv) một mình gen GA20 oxidaza_9 tạo ra kiểu hình chiều cao thấp, bán lùn quan sát được ở các cây R0. Ngược lại, các cấu trúc đó mã hóa một miARN cùng nhắm đích các gen GA20 oxidaza_3 và GA20 oxidaza_5 ở các cây R0 và R1 chuyển gen đã tạo ra kiểu hình chiều cao thấp, bán lùn, ngay cả khi trình tự kết thúc phiên mã khác nhau hoặc xương sống miARN khác nhau được sử dụng (tổng cộng 5 trình tự xương sống miARN đã được thử nghiệm). Ngoài ra, việc nhắm đích các trình tự khác nhau của các gen GA20 oxidaza_3 và GA20 oxidaza_5 vẫn tạo ra các cây bán lùn. Thú vị là, các cấu trúc ức chế được thiết kế để nhắm đích một trong hai gen GA20 oxidaza_3 và GA20 oxidaza_5 riêng lẻ không tạo ra kiểu hình chiều cao thấp, bán lùn, không giống như các cấu trúc cùng nhắm đích các gen GA20 oxidaza_3 và GA20 oxidaza_5, mặc dù cấu trúc riêng lẻ nhắm đích gen GA20 oxidaza_3 đã tạo ra sự giảm nhẹ chiều cao cây. Tuy nhiên, cây chuyển gen có một chồng vectơ song song của các cấu trúc ức chế nhắm đích riêng lẻ các gen GA20 oxidaza_3 và GA20 oxidaza_5 đã tạo ra kiểu hình chiều cao thấp, bán lùn tương tự như các cấu trúc mã hóa một miARN cùng nhắm đích các gen GA20 oxidaza_3 và GA20 oxidaza_5. Các số liệu này chứng minh rằng kiểu hình chiều cao thấp, bán lùn được quan sát với các cấu trúc nhắm đích cả hai gen GA20 oxidaza_3 và GA20

oxidaza_5, nhưng kiểu hình bán lùn hoàn toàn không được quan sát với sự nhắm đích các gen GA20 oxidaza_3 và GA20 oxidaza_5 riêng lẻ để ức chế (chỉ giảm nhẹ về chiều cao với sự nhắm đích GA20 oxidaza_3, và không quan sát thấy kiểu hình chiều cao cây với sự nhắm đích GA20 oxidaza_5). Hơn nữa, không có kiểu hình chiều cao cây được quan sát với sự nhắm đích (các) gen GA20 oxidaza_1, GA20 oxidaza_2, GA20 oxidaza_6, GA20 oxidaza_7, GA20 oxidaza_8, và/hoặc GA20 oxidaza_9 như được mô tả.

Ngoài các gen GA20 oxidaza_3 và GA20 oxidaza_5, sự giảm vừa phải chiều cao cây được quan sát ở cây chuyển gen R0 với cấu trúc ức chế gồm hai trình tự đích bổ trợ song song để cùng nhắm đích (i) các gen GA20 oxidaza_4 và GA20 oxidaza_6, hoặc (ii) các gen GA20 oxidaza_4, GA20 oxidaza_7 và GA20 oxidaza_8 – một trong hai trình tự nhắm đích nhắm đến cả hai gen GA20 oxidaza_7 và GA20 oxidaza_8. Cho rằng cấu trúc riêng biệt nhắm đích các gen GA20 oxidaza_7 và GA20 oxidaza_8 không tạo ra kiểu hình chiều cao cây, và cấu trúc ức chế nhắm đích các gen GA20 oxidaza_4 và GA20 oxidaza_6 tạo ra kiểu hình chiều cao cây mà tương tự với cấu trúc ức chế nhắm đích các gen GA20 oxidaza_4, GA20 oxidaza_7 và GA20 oxidaza_8, cho rằng việc nhắm đích GA20 oxidaza_4 là phần lớn (nếu không đầy đủ) chịu trách nhiệm cho kiểu hình chiều cao cây được quan sát ở các cây chuyển gen này. Ngoài ra, cây ngô chuyển gen với các cấu trúc nhắm đích các gen GA3 oxidaza_1 hoặc GA3 oxidaza_2 còn biểu hiện sự giảm chiều cao cây, mặc dù có một số biến đổi về kiểu hình tùy thuộc vào đoạn khởi đầu cơ định. Do đó, ngoài các gen GA20 oxidaza_3 và GA20 oxidaza_5, các gen GA20 oxidaza_4, GA3 oxidaza_1, và GA3 oxidaza_2 cũng có thể được nhắm đích để ức chế để tạo ra cây chiều cao thấp, bán lùn.

Ví dụ 17. Quan sát kiểu hình của cây ngô có gen GA20 oxidaza_3 hoặc GA20 oxidaza_5 đã được chỉnh sửa.

Ngoài các cấu trúc ức chế ở trên, một vài đột biến chỉnh sửa hệ gen đã được tạo ra trong các gen GA20 oxidaza_3 và GA20 oxidaza_5 nội sinh trong cây ngô để kiểm tra hiệu quả kiểu hình của việc bất hoạt từng gen này. Một loạt mười cấu trúc nhắm đích mã hóa ARN dẫn đường sợi đơn (sgARN) được tạo ra cho mỗi gen GA20 oxidaza_3 và GA20 oxidaza_5 mà nhắm vào các vị trí khác nhau dọc theo trình tự hệ gen cho mỗi gen. Một chuỗi mười sgARN bổ sung đã được tạo ra, mỗi loại nhắm đích cả hai gen GA20 oxidaza_3 và GA20 oxidaza_5, tại các vị trí tương tự hoặc khác nhau dọc theo trình tự hệ gen cho

mỗi gen. Chỉnh sửa hệ gen nhắm đích được thực hiện bằng cách phân phối sgARN cùng với sự biểu hiện của protein Cas9 cho các cây ngô để tạo ra DSB hoặc đoạn đứt xảy ra ở hoặc gần vị trí đích của hệ gen đối với gARN, sau đó có thể được sửa chữa một cách không hoàn hảo để đưa đột biến vào ở hoặc gần vị trí đích. Sự hiện diện của đột biến sau đó đã được xác nhận bằng phân tích RFLP và/hoặc giải trình tự các cây. Bảng 15 dưới đây cung cấp danh sách các cấu trúc ARN dẫn đường (gARN) đã được thử nghiệm, mà có thể được sử dụng để chỉnh sửa hệ gen của một hoặc cả hai gen GA20 oxidaza_3 và GA20 oxidaza_5 bằng endonucleaza được dẫn đường bằng ARN. Các cấu trúc ARN dẫn đường này thường được thiết kế để nhắm đích các trình tự mã hóa của các gen GA20 oxidaza_3 và GA20 oxidaza_5, nhưng một số cấu trúc nhắm đích chung thay vào đó có thể nhắm đích trình tự UTR của một trong hai gen này. Các gARN này có thể sử dụng với endonucleaza thích hợp để tạo ra sự phá vỡ sợi kép (DSB) hoặc đoạn đứt trong hệ gen ở hoặc gần vị trí đích của hệ gen của gARN tương ứng, mà có thể được sửa chữa một cách không hoàn hảo để tạo ra đột biến (ví dụ, gắn xen, xóa bỏ, thay thế, v.v.). Cây chuyển gen là đồng hợp tử đối với gen GA20 oxidaza_3 đã chỉnh sửa hoặc đồng hợp tử đối với gen GA20 oxidaza _5 đã chỉnh sửa được tạo ra từ một số cấu trúc (xem phần in đậm). Các sự kiện cũng được tạo ra từ các cấu trúc nhắm đích cả hai gen để chỉnh sửa. Đối với các cấu trúc cùng nhắm đích các gen GA20 oxidaza_3 và GA20 oxidaza_5, các tọa độ của trình tự mã hóa (CDS) được đề xuất khi đề cập đến một trong hai gen được chỉ định trong ngoặc đơn. Bảng 15 còn thể hiện các cấu trúc tạo ra sự kiện chỉnh sửa gen, cho dù các sự kiện đó là đồng tổng hợp hay dị hợp tử trong các cây R0, và ± các số trong ngoặc đơn cho thấy sự thay đổi trình tự có thể xảy ra với đột biến (ví dụ, +1 có nghĩa là gắn xen 1 nucleotit, v.v., và lớn hơn hoặc nhiều Indel phức tạp được dán nhãn là “del.” hay “insert.”). Đối với sự nhắm đích xếp chồng của GA20 oxidaza_3 và GA20 oxidaza_5, mức độ tương đồng của gen đột biến cũng được cung cấp trong ngoặc đơn. Phù hợp với kết quả của các cấu trúc ức chế, cây chuyển gen đồng hợp tử cho gen GA20 oxidaza_3 hoặc GA20 oxidaza_5 đã chỉnh sửa không có kiểu hình chiều cao thấp, bán lùn và có chiều cao cây bình thường so với cây đối chứng (Xem các cấu trúc GA20 oxidaza_3-D và GA20 oxidaza_3-G, và các cấu trúc GA20 oxidaza_5-B và GA20 oxidaza_5-G trong Bảng 15), cho thấy rằng việc bất hoạt chỉ một trong những gen này là không đủ để tạo ra kiểu hình bán lùn.

Bảng 15. Các ARN dẫn đường (gARN) nhắm đích các gen GA20 oxidaza_3 và GA oxidaza_5 để chỉnh sửa.

Đích gen gARN	Trình tự nhắm đích gARN (SEQ ID NO)	Tọa độ CDS của gen	Các sự kiện được tạo ra
GA20 oxidaza_3-A	138	552-572	---
GA20 oxidaza_3-B	139	879-899	---
GA20 oxidaza_3-C	140	147-167	---
GA20 oxidaza_3-D	141	526-546	1. đồng hợp tử (-1) 2. dị hợp tử (-1) 3. hai alen (-2, +1)
GA20 oxidaza_3-E	142	446-466	---
GA20 oxidaza_3-F	143	2227-2247	---
GA20 oxidaza_3-G	144	548-568	1. đồng hợp tử (+1) 2. dị hợp tử (-1) 3. hai alen (+1, -1)
GA20 oxidaza_3-H	145	547-567	---
GA20 oxidaza_3-I	146	43-63	---
GA20 oxidaza_3-J	147	548-567	---
GA20 oxidaza_5-A	148	356-376 (+)	1. dị hợp tử (-1)
GA20 oxidaza_5-B	149	99-119	1. hợp tử (-1) 2. dị hợp tử (+1) 3. dị hợp tử (+1, -7) 4. dị hợp tử (-3, -1)
GA20 oxidaza_5-C	150	369-389	---
GA20 oxidaza_5-D	151	48-68	---
GA20 oxidaza_5-E	152	356-376 (-)	---
GA20 oxidaza_5-F	153	748-768	1. dị hợp tử (-1, +1)
GA20 oxidaza_5-G	154	770-790	1. đồng hợp tử (-1) 2. đồng hợp tử (-1)
GA20 oxidaza_5-H	155	10-30	---
GA20 oxidaza_5-I	156	262-282	---
GA20 oxidaza_5-J	157	768-788	---
GA20 oxidaza_3/5-A	158	290..310 (GA20 Ox_3)	---

GA20 oxidaza_3/5-B	159	289..309 (GA20 Ox_3)	---
GA20 oxidaza_3/5-C	160	270..290 (GA20 Ox_5)	---
GA20 oxidaza_3/5-D	161	49..69 (GA20 Ox_3)	---
GA20 oxidaza_3/5-E	162	265..285 (GA20 Ox_5)	1. dị hợp tử (Ox5, +1)
GA20 oxidaza_3/5-F	163	419..439 (GA20 Ox_3)	1. dị (Ox3, +1, -1) dị (Ox5, +1, del.) 2. dị (Ox3, +1, del.) Dị (Ox5, +1, insert.)
GA20 oxidaza_3/5-G	164	110..130 (GA20 Ox_3)	---
GA20 oxidaza_3/5-H	165	634..654 (GA20 Ox_5)	---
GA20 oxidaza_3/5-I	166	98..118 (GA20 Ox_5)	---
GA20 oxidaza_3/5-J	167	517..537 (GA20 Ox_5)	---

Ví dụ 18. Cấu trúc ức chế nhắm đích các gen GA20 oxidaza_3 và GA20 oxidaza_5 làm giảm bản phiên mã GA20 oxidaza và mức GA hoạt động ở cây.

Để xác định các mức độ phiên mã GA20 oxidaza bị ảnh hưởng như thế nào ở cây chuyển gen với cấu trúc ức chế nhắm đích các gen GA20 oxidaza_3 và GA20 oxidaza_5, toàn bộ các mô từ các bộ phận khác nhau của cây chuyển gen được trồng trong nhà kính được lấy ở các giai đoạn sinh dưỡng khác nhau (V3, V8 và V14) và các mức độ phiên mã mARN cho từng gen GA20 oxidaza được phân tích bằng cách sử dụng thử nghiệm TaqMan®. Đối với các thí nghiệm này, ARN tổng được chiết xuất bằng cách sử dụng kit chiết ARN Direct-Zol từ Zymo Research™ và được xử lý bằng Turbo™ DNase để giảm nhiễm tạp ADN hệ gen. Sau đó, ARN được sao chép ngược để tạo ra ADN bổ trợ sợi kép. PCR định lượng phiên mã ngược được thực hiện với các đoạn mồi đặc hiệu gen và đầu dò TaqMan® có nhãn FAM trên hệ thống thời gian thực Bio-Rad® CFX96. Các số liệu đối chứng chất lượng đã được tính toán bằng cách sử dụng các tiêu chuẩn đặc hiệu mô để xác định hiệu quả của qPCR và tổng số ARN chưa được sao chép ngược để tính toán sự nhiễm tạp ADN hệ gen còn sót lại. Sự khác biệt giữa các giá trị ngưỡng chu kỳ đối với các gen quan tâm so với các gen chuẩn hóa xác định số lượng tương đối của mỗi bản phiên mã gen

trong mỗi mô. Số lượng tương đối này được tính bằng cách sử dụng một (18S) hoặc trung bình hình học của hai gen chuẩn hóa (18S và ELF1A).

Trong thử nghiệm này, mức độ phiên mã GA20 oxidaza_3 đã giảm ở hầu hết các mô sinh dưỡng ở các giai đoạn này, bao gồm mô lá và thân ở V3, mô gióng ở V8, và mô lá và gióng ở V14, mặc dù mức độ phiên mã GA20 oxidaza _3 trong rễ V3 và lá V8 xuất hiện không thay đổi (số liệu không được thể hiện). Hơn nữa, mức độ phiên mã GA20 oxidaza_5 đối với thử nghiệm này thường không thay đổi trong các mô sinh dưỡng được kiểm tra (số liệu không được thể hiện), mặc dù mức độ biểu hiện của bản phiên mã GA20 oxidaza_5 tương đối thấp trong các mô này. Cả GA20 oxidaza_3 và GA20 oxidaza_5 đều không giảm đáng kể trong các mẫu mô rễ của cây chuyển gen. Mỗi gen GA20 oxidaza khác (tức là, các kiểu phụ 1, 2, 4 và 6-9) thường không thay đổi hoặc tăng lên trong một số mô của cây chuyển gen.

Một thí nghiệm tương tự đã được thực hiện với các mô sinh sản từ cây chuyển gen biểu hiện cấu trúc ức chế tương tự. Toàn bộ mô từ các bộ phận khác nhau của cây chuyển gen được trồng trong nhà kính được lấy ở các giai đoạn sinh sản khác nhau (R1 và R3), và các mức phiên mã mARN cho từng gen GA20 oxidaza được phân tích bằng thử nghiệm TaqMan®. Trong thử nghiệm này, các mức độ phiên mã GA20 oxidaza_3 và GA20 oxidaza_5 hầu như không thay đổi trong lá, bắp, cờ và gióng R1 và lá và gióng R3, so với cây đối chứng (số liệu không được thể hiện). Kết quả cho các gen oxidaza GA20 khác chủ yếu là hỗn hợp hoặc trung tính (số liệu không được thể hiện).

Các dữ liệu này cho thấy mức độ phiên mã GA20 oxidaza_3 trong cây ngô chuyển gen trong các giai đoạn sinh dưỡng nói chung đã giảm đi trong thử nghiệm này, nhưng dường như không thay đổi so với các mô của cây đối chứng trong các giai đoạn sinh sản sau này. Mặc dù sự giảm rõ rệt về mức độ phiên mã gen GA20 oxidaza_5 thường không được quan sát thấy trong các mô của cây chuyển gen này, song mức độ biểu hiện của gen này lại tương đối thấp. Do đó, những thay đổi về mức độ biểu hiện của nó có thể khó phát hiện bằng phương pháp này. Ngoài ra, cấu trúc ức chế dường như là đặc hiệu cho các gen GA20 oxidaza được nhắm đích do không quan sát thấy sự giảm mức độ biểu hiện nhất quán trong thử nghiệm với bất kỳ gen GA20 oxidaza khác.

Trong một thí nghiệm riêng biệt, mức độ biểu hiện GA20 oxidaza được xác định trong các mô thân của cây chuyển gen biểu hiện cấu trúc ức chế từ các ví dụ trước (nhắm

đích các gen GA20 oxidaza_3 và GA20 oxidaza_5 để ức chế dưới sự kiểm soát của đoạn khởi đầu RTBV), so với cây đối chứng kiểu dại. Các mẫu mô được lấy từ thân/gióng V3-V6 và các bộ phận của những thân này còn được cắt để tách các mô mạch và không mạch để xác định mức độ biểu hiện khác biệt giữa các mô này. Mức độ biểu hiện phiên mã được xác định bằng cách sử dụng phương pháp giải trình tự ARN (RNA-Seq) để so sánh định lượng giữa các mô của cây chuyển gien và kiểu dại. Các dữ liệu được trình bày trong FIG.13A được tạo ra từ cây chuyển gen có một trong hai sự kiện và cây đối chứng kiểu dại có một trong hai mầm nguyên sinh, với mỗi thanh trong FIG.13A lần lượt tương ứng với một trong hai sự kiện chuyển gen hoặc mầm nguyên sinh. Đối với các thí nghiệm này, các bó mạch riêng lẻ được tách ra khỏi mô thân/gióng còn lại của các mẫu và được phân tích riêng. Như thể hiện trên FIG. 13A, miARN được biểu thị bởi cấu trúc ức chế được phát hiện trong mô thân thực vật số lượng lớn ("số lượng lớn", ví dụ, không tách rời các mô mạch và không mạch), cũng như trong các mô mạch riêng biệt ("Vasc") và không mạch ("Non-Vasc") riêng biệt từ mẫu thân/gióng số lượng lớn. Tuy nhiên, mức độ biểu hiện của miARN ở mô mạch cao hơn nhiều so với mô không mạch chỉ ra kiểu biểu hiện mạch của đoạn khởi đầu RTBV.

Các mẫu thân /gióng số lượng lớn và các mẫu mạch và không mạch riêng biệt cũng được phân tích trong một thí nghiệm RNA-Seq tương tự để đo và so sánh mức độ phiên mã gen GA20 oxidaza_3 và GA20 oxidaza_5 trong cây chuyển gen so với cây đối chứng kiểu dại (cùng với các gen GA20 oxidaza khác), mặc dù chỉ có một mẫu kiểu dại được hiển thị cho từng loại mô. Đối với các thí nghiệm này, mô thân từ cây đối chứng hoặc chuyển gen (hai sự kiện) đã được cắt để tách các bó mạch và mô không mạch như mô tả ở trên. Tổng sARN và mARN đã được giải trình tự cho từng mẫu và dữ liệu được phân tích và so sánh bằng cách sử dụng phân tích thành phần nguyên tắc.

Như thể hiện trên FIG. 13B, mức độ phiên mã của gen GA20 oxidaza_3 đã giảm đáng kể ở mô thân số lượng lớn (Số lượng lớn) và các mô mạch thân tách rời (Vasc) của cây chuyển gen (TG) so với cây kiểu dại (WT), nhưng dường như không thay đổi ở mô không mạch tách rời (Non-Vasc). Tuy nhiên, mức độ phiên mã của gen GA20 oxidaza_5 đã giảm đáng kể ở mô thân số lượng lớn (Số lượng lớn), nhưng tương đối không thay đổi trong các mô mạch (Vasc) và không mạch (Non-Vasc) của cây chuyển gen, mặc dù có xu hướng giảm cho bản phiên mã GA20 oxidaza_5 trong các mẫu mô mạch máu (Vasc) từ

cây chuyển gen. Mức độ biểu hiện của gen GA20 oxidaza_5 là thấp, đặc biệt là trong các mô không phải mạch. Tất cả các gen oxidaza GA20 khác không cho thấy sự giảm đáng kể về mức độ phiên mã của chúng trong các mô của cây chuyển gen được phân tích, mặc dù một cặp gen GA20 oxidaza đã cho thấy một xu hướng tăng nhẹ trong mức độ biểu hiện của chúng. Số liệu này còn chứng minh rằng các mức biểu hiện của gen GA20 oxidaza_3 và GA20 oxidaza_5 được giảm xuống ở các mức độ khác nhau ở một hoặc nhiều mô của cây chuyển gen có cấu trúc ức chế so với cây đối chứng. Thật vậy, sự biểu hiện cao hơn của miARN và sự ức chế lớn hơn của gen GA20 oxidaza_3 nội sinh trong các mô mạch phù hợp với kiểu biểu hiện mạch của đoạn khởi đầu RTBV, và có lẽ là mức độ biểu hiện gen GA20 oxidaza_3 cao hơn trong các mô mạch so với mô không phải mạch của cây kiểu dại. Một mô hình tương tự cũng được quan sát đối với gen GA20 oxidaza_5, mặc dù không được biểu hiện như gen GA20 oxidaza_3 giữa các mô mạch và không mạch.

Kiểu hình chiều cao thấp, bán lùn được quan sát với sự ức chế GA20 oxidaza trong cây chuyển gen có thể được gián tiếp gây ra bởi sự giảm mức GA hoạt động có trong các mô thân hoặc mô gióng và/hoặc trong các mô cây tạo ra GA hoạt động. Để xác định mức GA hoạt động (đặc biệt là G1, G3 và G4) so với các dạng hormon không hoạt động khác, mức GA được đo trong các mẫu mô khác nhau được lấy từ cây chuyển gen và cây đối chứng kiểu dại ở các giai đoạn phát triển khác nhau. Đối với các thí nghiệm này, các mẫu đông lạnh tươi cho mỗi mô được nghiền và phân tán vào ống thủy tinh 96 lỗ cùng với chất chuẩn nội. Các mẫu được chiết bằng cách sử dụng dung môi metanol: nước: axit axetic (80: 19: 1 thể tích/thể tích/thể tích) hai lần trong 4 giờ ở 4°C. Dung môi được làm bay hơi từ dịch chiết đến gần khô bằng cách sử dụng SPE đa kênh với nitơ. Các mẫu được tinh chế thêm bằng cách sử dụng hộp SPE. Sau khi tinh chế, các mẫu được chạy bằng phương pháp LC-MS/MS tiêu chuẩn với thiết bị đo phổ khối Shimadzu® Nexera® UPLC và SCIEX® triple quad 5500. Sắc ký đồ được phân tích và định lượng bằng chất chuẩn nội.

Hai bộ thí nghiệm đã được thực hiện với các mẫu được lấy từ các mô khác nhau của cây giai đoạn sinh dưỡng. Như được thể hiện trong bảng 16 cho một thí nghiệm trong nhà kính, mức độ GA hoạt động giảm (GA1, GA3 và GA4) đã được quan sát thấy trong các mô khác nhau của cây chuyển gen ở các giai đoạn sinh dưỡng khác nhau. Dữ liệu trong Bảng 16 được hiển thị dưới dạng số lượng cây chuyển gen có sự thay đổi đáng kể về số lượng của từng loại hormon GA cho một mô nhất định ("U" = tăng hoặc tăng lên "D" =

giảm hoặc giảm xuống; "N" = trung tính hoặc không thay đổi; và "T" = tổng số cây). GA cho thấy ít nhất là giảm một phần trong các mẫu mô được in đậm. GA1 hoạt động đã bị giảm ở các mô lá và mô gióng ở giai đoạn V8 và mô gióng ở giai đoạn V14, và GA4 hoạt động đã bị giảm ở mô thân V3 và gióng V8 và V14. Tuy nhiên, GA3 hoạt động được quan sát là không giảm trong thí nghiệm này. Các dạng GA không hoạt động khác đã bị thay đổi trong các mô khác nhau của cây chuyển gen như được thể hiện trong bảng 16. Nói chung, GA là xuôi dòng của gen GA20 oxidaza trong con đường axit gibberellic (ví dụ, GA9, GA20 và GA34) có xu hướng giảm, trong khi các GA là ngược dòng của gen GA20 oxidaza có xu hướng cao hơn (ví dụ, GA12 và GA53), có thể là do hoạt tính thấp hơn của các gen GA oxidaza khiến cho tiền chất GA ngược dòng tích lũy. Số liệu này phù hợp với việc ức chế hoạt tính GA20 oxidaza trong các mô này và mức độ hormon GA hoạt động thấp hơn trong thân và lá của cây chuyển gen.

Trong một thí nghiệm riêng biệt, các phép đo tương tự của hormon GA đã được lấy từ các mô cây khác nhau trong các giai đoạn phát triển sinh dưỡng. Như thể hiện trong Bảng 17 cho thí nghiệm sử dụng các mô lấy từ cây trong nhà kính và cánh đồng, mức độ giảm của một hoặc nhiều GA hoạt tính (GA1, GA3 và GA4) đã được quan sát thấy trong lá và gióng của cây chuyển gen ở các giai đoạn V3 và V8. Các mẫu lá ở giai đoạn V8 đối với thử nghiệm này được lấy từ cây trên cánh đồng, không giống như các mẫu khác được lấy từ cây trong nhà kính. Dữ liệu trong Bảng 17 được hiển thị theo cách tương tự như được mô tả trong Bảng 16. Các dạng GA không hoạt động khác đã bị thay đổi trong các mô khác nhau của cây chuyển gen như được thể hiện trong bảng 17. Tương tự như các quan sát ở trên, GA là xuôi dòng của gen oxidaza GA20 trong con đường axit gibberellic (ví dụ, GA9, GA20 và GA34) có xu hướng bị giảm, trong khi GA là ngược dòng của gen oxidaza GA20 có xu hướng cao hơn (ví dụ, GA12 và GA53). Số liệu này một lần nữa phù hợp với sự ức chế hoạt tính GA20 oxidaza trong các mô này và mức hormon GA hoạt động thấp hơn trong thân và lá của cây chuyển gen.

Bảng 16. Sự thay đổi mức hormon GA trong các mô của cây ngô chuyển gen biểu hiện cấu trúc ức chế GA20 oxidaza trong nhà kính.

Giai đoạn:	V3			V8		V14		
Mô:	Lá	Thân	Rễ	Lá	Gióng	Lá	Gióng	Cờ

GA1	2N / 2T	2N / 2T	2N / 2T	**2D / 2T**	**1D / 1N / 2T**	2N / 2T	**2D / 2T**	2N / 2T
GA3	2N / 2T	2N / 2T	2N / 2T	2N / 2T	2N / 2T	2N / 2T	2N / 2T	2N / 2T
GA4	2N / 2T	**2D / 2T**	2N / 2T	2N / 2T	**2D / 2T**	2U / 2T	**2D / 2T**	2N / 2T
GA8	1U / 1N / 2T	2N / 2T	1U / 1N / 2T	2N / 2T	**2D / 2T**	**1D / 1N / 2T**	**1D / 1N / 2T**	1U / 1N / 2T
GA9	2N / 2T	**2D / 2T**	2N / 2T	2N / 2T	**2D / 2T**	2U / 2T	**2D / 2T**	**1D / 1N / 2T**
GA12	**1D / 1N / 2T**	2U / 2T	2N / 2T	2U / 2T	2N / 2T	1U / 1N / 2T	2N / 2T	2N / 2T
GA20	**2D / 2T**	2N / 2T	2N / 2T	**2D / 2T**	**2D / 2T**	**2D / 2T**	**1D / 1N / 2T**	2N / 2T
GA34	2N / 2T	**2D / 2T**	2N / 2T	2N / 2T	**2D / 2T**	2N / 2T	**2D / 2T**	2N / 2T
GA53	2U / 2T	2U / 2T	2N / 2T	2U / 2T	2N / 2T	2U / 2T	1U / 1N / 2T	1U / 1N / 2T

Bảng 17. Sự thay đổi mức hormon GA trong các mô của cây ngô chuyển gen biểu hiện cấu trúc ức chế GA20 oxidaza trong nhà kính (GH) hoặc cánh đồng.

Giai đoạn:	**V3**		**V8**	
Mô:	**Lá (GH)**	**Rễ (GH)**	**Gióng (GH)**	**Lá (cánh đồng)**
GA1	**3D / 1N / 4T**	**2D / 1U / 1N / 4T**	**3D / 1N / 4T**	**7D / 1N / 8T**
GA3	**3D / 1N / 4T**	4N / 4T	**3D / 1N / 4T**	**7D / 1N / 8T**
GA4	4N / 4T	4N / 4T	**4D / 4T**	**8D / 8T**
GA8	4N / 4T	4N / 4T	4N / 4T	4N / 4T
GA9	**4D / 4T**	4N / 4T	**4D / 4T**	5U / 3N / 8T
GA12	ND	ND	ND	7U / 1N / 8T
GA20	**4D / 4T**	**1D / 3N / 4T**	**4D / 4T**	**8D / 8T**
GA34	1U / 3N / 4T	**4D / 4T**	**4D / 4T**	4U / 4N / 8T
GA53	4U / 4T	2U / 2N / 4T	**1D / 3N / 4T**	8U / 8T

Việc ức chế các gen GA20 oxidaza_3 và GA20 oxidaza_5 trong cây ngô chuyển gen làm giảm mức độ phiên mã GA oxidaza được nhắm đích trong các mô khác nhau bao gồm mô thân, gióng, mạch và lá, và ức chế các gen GA20 oxidaza này còn liên quan tới mức độ giảm của GA hoạt động trong các mô của cây chuyển gen bao gồm thân và gióng, là vị trí hoạt động để ảnh hưởng đến sự phát triển của cây trong các giai đoạn sinh dưỡng và cuối cùng là chiều cao cây bởi các giai đoạn sinh sản và sinh dưỡng sau này. Tương tự như các quan sát cho thấy mức độ phiên mã GA20 oxidaza hầu như không thay đổi hoặc trộn lẫn trong các mô ở giai đoạn sinh sản, các mức hormon GA bao gồm các GA hoạt động cũng hầu như không thay đổi hoặc trộn lẫn trong các mô ở giai đoạn sinh sản (số liệu không được thể hiện).

Dựa vào mô tả chi tiết này, rõ ràng là có thể có các sửa đổi, thay đổi và các phương án tương tự mà không nằm ngoài tinh thần và phạm vi của sáng chế như được mô tả ở đây và yêu cầu bảo hộ đi kèm. Hơn nữa, cần đánh giá rằng tất cả các ví dụ trong phần mô tả được đề xuất là các ví dụ không giới hạn.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Cấu trúc ADN tái tổ hợp gồm trình tự ADN có thể phiên mã mã hóa phân tử ARN không mã hóa, trong đó phân tử ARN không mã hóa này gồm trình tự đích mà:

(a) bổ sung ít nhất 80% với ít nhất 19 nucleotit liên tiếp của phân tử mARN thứ nhất mã hóa protein giberelin (GA) oxidaza nội sinh thứ nhất ở cây ngô, protein GA oxidaza nội sinh thứ nhất này đồng nhất ít nhất 90% với SEQ ID NO: 9; và

(b) bổ sung ít nhất 80% với ít nhất 19 nucleotit liên tiếp của phân tử mARN thứ hai mã hóa protein GA oxidaza nội sinh thứ hai ở cây ngô, protein GA oxidaza nội sinh thứ hai này đồng nhất ít nhất 90% với SEQ ID NO: 15;

trong đó trình tự ADN có thể phiên mã được liên kết hoạt động với đoạn khởi đầu mạch.

2. Cấu trúc ADN tái tổ hợp theo điểm 1, trong đó phân tử ARN không mã hóa điều hòa giảm sự biểu hiện của protein GA oxidaza nội sinh thứ nhất và thứ hai trong ít nhất một mô của cây ngô chuyển gen gồm cấu trúc ADN tái tổ hợp, so với cây đối chứng, khi phân tử ARN không mã hóa được biểu hiện ở cây ngô chuyển gen này.

3. Cấu trúc ADN tái tổ hợp theo điểm 1, trong đó phân tử ARN không mã hóa làm giảm mức hiểu hiện của phân tử mARN thứ nhất và thứ hai ở ít nhất một mô của cây ngô chuyển gen gồm cấu trúc ADN tái tổ hợp, so với cây đối chứng, khi phân tử ARN không mã hóa được biểu hiện ở cây ngô chuyển gen này.

4. Cấu trúc ADN tái tổ hợp theo điểm 1, trong đó trình tự đích của phân tử ARN không mã hóa bổ sung ít nhất 90% với ít nhất 19 nucleotit liên tiếp của trình tự được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 7, 8, 13, và 14.

5. Cấu trúc ADN tái tổ hợp theo điểm 1, trong đó trình tự đích của phân tử ARN không mã hóa bổ sung ít nhất 90% với ít nhất 19 nucleotit liên tiếp của phân tử mARN thứ nhất mã hóa protein GA20 oxidaza nội sinh thứ nhất.

6. Cấu trúc ADN tái tổ hợp theo điểm 5, trong đó trình tự đích của phân tử ARN không mã hóa bổ sung 100% với ít nhất 19 nucleotit liên tiếp của phân tử mARN thứ nhất mã hóa protein GA20 oxidaza nội sinh thứ nhất.

7. Cấu trúc ADN tái tổ hợp theo điểm 5, trong đó trình tự đích của phân tử ARN không mã hóa bổ sung ít nhất 90% với ít nhất 19 nucleotit liên tiếp của SEQ ID NO: 7 hoặc 8.

8. Cấu trúc ADN tái tổ hợp theo điểm 1, trong đó trình tự đích của phân tử ARN không mã hóa bổ sung ít nhất 90% với ít nhất 19 nucleotit liên tiếp của phân tử mARN thứ hai mã hóa protein GA20 oxidaza nội sinh thứ hai.

9. Cấu trúc ADN tái tổ hợp theo điểm 8, trong đó trình tự đích của phân tử ARN không mã hóa bổ sung 100% với ít nhất 19 nucleotit liên tiếp của phân tử mARN thứ hai mã hóa protein GA20 oxidaza nội sinh thứ hai.

10. Cấu trúc ADN tái tổ hợp theo điểm 8, trong đó trình tự đích của phân tử ARN không mã hóa bổ sung ít nhất 90% với ít nhất 19 nucleotit liên tiếp của SEQ ID NO: 13 hoặc 14.

11. Cấu trúc ADN tái tổ hợp theo điểm 1, trong đó trình tự đích của phân tử ARN không mã hóa bổ sung ít nhất 90% với ít nhất 21 nucleotit liên tiếp của phân tử mARN thứ nhất mã hóa protein GA20 oxidaza nội sinh thứ nhất, và bổ sung ít nhất 90% với ít nhất 21 nucleotit liên tiếp của phân tử mARN thứ hai mã hóa protein GA20 oxidaza thứ hai.

12. Cấu trúc ADN tái tổ hợp theo điểm 1, trong đó trình tự đích của phân tử ARN không mã hóa bổ sung 100% với ít nhất 21 nucleotit liên tiếp của phân tử mARN thứ nhất mã hóa protein GA20 oxidaza nội sinh thứ nhất, và bổ sung 100% với ít nhất 21 nucleotit liên tiếp của phân tử mARN thứ hai mã hóa protein GA20 oxidaza thứ hai.

13. Cấu trúc ADN tái tổ hợp theo điểm 1, trong đó phân tử ARN không mã hóa được mã hóa bằng trình tự ADN có thể phiên mã là miARN hoặc siARN tiền thân mà được xử lý hoặc được phân cắt trong tế bào thực vật để tạo thành miARN hoặc siARN thuần thục.

14. Cấu trúc ADN tái tổ hợp theo điểm 1, trong đó đoạn khởi đầu mạch được chọn từ nhóm bao gồm: đoạn khởi đầu sucroza synthaza, đoạn khởi đầu vận chuyển sucroza, đoạn khởi đầu Sh1, đoạn khởi đầu của virut đốm vàng ở chi thài lài (CoYMV), đoạn khởi đầu vùng liên gen lớn (large intergenic region-LIR) của geminivirut gây bệnh lùn ở lúa mì (maize streak geminivirus - WDV), đoạn khởi đầu protein vỏ (coat protein-CP) của geminivirut sọc lá ngô (maize streak geminivirus - MSV), đoạn khởi đầu giống sọc vàng 1 (yellow stripe 1- YS1) ở lúa, và đoạn khởi đầu sọc vàng 2 (yellow stripe 2 - OsYSL2) ở lúa.

15. Cấu trúc ADN tái tổ hợp theo điểm 1, trong đó đoạn khởi đầu mạch là đoạn khởi đầu của virut tungro dạng thẳng ở lúa (rice tungro bacilliform virus - RTBV).

16. Cấu trúc ADN tái tổ hợp theo điểm 1, trong đó đoạn khởi đầu mạch gồm trình tự ADN đồng nhất ít nhất 80% với SEQ ID NO: 65 hoặc SEQ ID NO: 66.

17. Cấu trúc ADN tái tổ hợp theo điểm 1, trong đó đoạn khởi đầu mạch gồm trình tự ADN đồng nhất ít nhất 90% với SEQ ID NO: 65 hoặc SEQ ID NO: 66.

18. Cấu trúc ADN tái tổ hợp theo điểm 1, trong đó đoạn khởi đầu mạch gồm trình tự ADN đồng nhất ít nhất 80% với SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 70, hoặc SEQ ID NO: 71.

19. Cấu trúc ADN tái tổ hợp theo điểm 1, trong đó đoạn khởi đầu mạch gồm trình tự ADN đồng nhất ít nhất 90% với SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 70, hoặc SEQ ID NO: 71.

20. Cây ngô chuyển gen gồm cấu trúc ADN tái tổ hợp gồm trình tự ADN có thể phiên mã mã hóa phân tử ARN không mã hóa, trong đó phân tử ARN không mã hóa gồm trình tự đích mà:

(a) bổ sung ít nhất 80% với ít nhất 19 nucleotit liên tiếp của phân tử mARN thứ nhất mã hóa protein GA oxidaza nội sinh thứ nhất ở cây ngô, protein GA oxidaza nội sinh thứ nhất đồng nhất ít nhất 90% với SEQ ID NO: 9; và

(b) bổ sung ít nhất 80% với ít nhất 19 nucleotit liên tiếp của phân tử mARN thứ hai mã hóa protein GA oxidaza nội sinh thứ hai ở cây ngô, protein GA oxidaza nội sinh thứ hai đồng nhất ít nhất 90% với SEQ ID NO: 15;

trong đó trình tự ADN có thể phiên mã được liên kết hoạt động với đoạn khởi đầu mạch, và trong đó mức hiểu hiện của phân tử mARN thứ nhất và thứ hai được giảm ở ít nhất một mô của cây ngô chuyển gen so với cây đối chứng.

21. Cây ngô chuyển gen theo điểm 20, trong đó cây ngô chuyển gen này có chiều cao cây thấp hơn so với cây đối chứng.

22. Cây ngô chuyển gen theo điểm 20, trong đó chiều cao của cây chuyển gen thấp hơn ít nhất 10% so với cây đối chứng.

23. Cây ngô chuyển gen theo điểm 20, trong đó chiều cao của cây chuyển gen thấp hơn ít nhất 20% so với cây đối chứng.

24. Cây ngô chuyển gen theo điểm 20, trong đó chiều cao của cây chuyển gen thấp hơn ít nhất 30% so với cây đối chứng.

25. Cây ngô chuyển gen theo điểm 20, trong đó chiều cao của cây chuyển gen thấp hơn ít nhất 40% so với cây đối chứng.

26. Cây ngô chuyển gen theo điểm 20, trong đó sự biểu hiện của phân tử ARN không mã hóa ở cây ngô làm giảm mức của một hoặc nhiều GA hoạt động ở cây ngô so với cây đối chứng.

27. Cây ngô chuyển gen theo điểm 20, trong đó mức của một hoặc nhiều GA hoạt động trong ít nhất một mô gióng của thân hoặc cuống của cây ngô chuyển gen là thấp hơn so với cùng mô gióng của cây đối chứng.

28. Cây ngô chuyển gen theo điểm 20, trong đó cây chuyển gen này có khả năng chống đổ tăng so với cây đối chứng.

29. Cây ngô chuyển gen theo điểm 20, trong đó cây chuyển gen này có hiện tượng đứt gãy giảm so với cây đối chứng.

30. Cây ngô chuyển gen theo điểm 20, trong đó cây chuyển gen này có chỉ số thu hoạch tăng so với cây đối chứng.

31. Cây ngô chuyển gen theo điểm 20, trong đó cây chuyển gen này có rễ sâu hơn so với cây đối chứng.

32. Cây ngô chuyển gen theo điểm 20, trong đó cây chuyển gen này có một hoặc nhiều trong số các tính trạng sau đây so với cây đối chứng: diện tích lá tăng, khép tán sớm hơn, độ dẫn khí khổng cao hơn, chiều cao bắp thấp hơn, hàm lượng nước trong lá tăng, khả năng chịu hạn hán được cải thiện, và hàm lượng hoặc diện tích anthoxyanin trong lá giảm.

33. Cây ngô chuyển gen theo điểm 20, trong đó cây chuyển gen này có một hoặc nhiều trong số các tính trạng sau đây so với cây đối chứng: khối lượng bắp tăng, năng suất tăng, số lượng hạt tăng, và khối lượng hạt tăng.

34. Cây ngô chuyển gen theo điểm 20, trong đó đường kính thân hoặc cuống của cây chuyển gen tại một hoặc nhiều gióng thân lớn hơn đường kính thân hoặc cuống tại một hoặc nhiều gióng thân của cây đối chứng.

35. Cây ngô chuyển gen theo điểm 20, trong đó cây chuyển gen này không có các dạng khác có nghĩa bất kỳ ở ít nhất một cơ quan cái hoặc bắp.

36. Cây ngô chuyển gen theo điểm 20, trong đó đường kính thân hoặc cuống của cây ngô chuyển gen tại một hoặc nhiều gióng thứ nhất, thứ hai, thứ ba, và/hoặc thứ tư dưới bắp lớn hơn ít nhất 5% cùng gióng của cây đối chứng.

37. Cây ngô chuyển gen theo điểm 20, trong đó mức của một hoặc nhiều GA hoạt động trong ít nhất một mô gióng của thân hoặc cuống của cây chuyển gen là thấp hơn cùng mô gióng của cây đối chứng.

38. Cây ngô chuyển gen theo điểm 20, trong đó trình tự đích của phân tử ARN không mã hóa bổ sung ít nhất 90% với ít nhất 19 nucleotit liên tiếp của phân tử mARN thứ nhất mã hóa protein GA20 oxidaza nội sinh thứ nhất.

39. Cây ngô chuyển gen theo điểm 20, trong đó trình tự đích của phân tử ARN không mã hóa bổ sung 100% với ít nhất 19 nucleotit liên tiếp của phân tử mARN thứ nhất mã hóa protein GA20 oxidaza nội sinh thứ nhất.

40. Cây ngô chuyển gen theo điểm 20, trong đó trình tự đích của phân tử ARN không mã hóa bổ sung ít nhất 90% với ít nhất 19 nucleotit liên tiếp của SEQ ID NO: 7 hoặc 8.

41. Cây ngô chuyển gen theo điểm 20, trong đó trình tự đích của phân tử ARN không mã hóa bổ sung ít nhất 90% với ít nhất 19 nucleotit liên tiếp của phân tử mARN thứ hai mã hóa protein GA20 oxidaza nội sinh thứ hai.

42. Cây ngô chuyển gen theo điểm 20, trong đó trình tự đích của phân tử ARN không mã hóa bổ sung 100% với ít nhất 19 nucleotit liên tiếp của phân tử mARN thứ hai mã hóa protein GA20 oxidaza nội sinh thứ hai.

43. Cây ngô chuyển gen theo điểm 20, trong đó trình tự đích của phân tử ARN không mã hóa bổ sung ít nhất 90% với ít nhất 19 nucleotit liên tiếp của SEQ ID NO: 13 hoặc 14.

44. Cây ngô chuyển gen theo điểm 20, trong đó trình tự đích của phân tử ARN không mã hóa bổ sung ít nhất 90% với ít nhất 21 nucleotit liên tiếp của phân tử mARN thứ nhất mã hóa protein GA20 oxidaza nội sinh thứ nhất và bổ sung ít nhất 90% với ít nhất 21 nucleotit liên tiếp của phân tử mARN thứ hai mã hóa protein GA20 oxidaza nội sinh thứ hai.

45. Cây ngô chuyển gen theo điểm 20, trong đó trình tự đích của phân tử ARN không mã hóa bổ sung 100% với ít nhất 21 nucleotit liên tiếp của phân tử mARN thứ nhất mã hóa protein GA20 oxidaza nội sinh thứ nhất và bổ sung 100% với ít nhất 21 nucleotit liên tiếp của phân tử mARN thứ hai mã hóa protein GA20 oxidaza thứ hai.

46. Cây ngô chuyển gen theo điểm 20, trong đó phân tử ARN không mã hóa được mã hóa bằng trình tự ADN có thể phiên mã là miARN hoặc siARN tiền thân được xử lý hoặc được phân cắt trong cây ngô chuyển gen để tạo thành miARN hoặc siARN thuần thục.

47. Cây ngô chuyển gen theo điểm 20, trong đó đoạn khởi đầu mạch được chọn từ nhóm bao gồm: đoạn khởi đầu sucroza synthaza, đoạn khởi đầu vận chuyển sucroza, đoạn khởi đầu Sh1, đoạn khởi đầu của virut đốm vàng ở chi thài lài (CoYMV), đoạn khởi đầu vùng liên gen lớn (large intergenic region-LIR) của geminivirut gây bệnh lùn ở cây lúa mì (wheat dwarf geminivirus - WDV), đoạn khởi đầu protein vỏ (coat protein-CP) của geminivirut sọc lá ngô (maize streak geminivirus-MSV), đoạn khởi đầu giống sọc vàng 1 (yellow stripe 1-YS1) ở lúa, và hoặc đoạn khởi đầu sọc vàng 2 (yellow stripe 2 - OsYSL2) ở lúa.

48. Cây ngô chuyển gen theo điểm 20, trong đó đoạn khởi đầu mạch là đoạn khởi đầu của virut tungro dạng thẳng ở lúa (rice tungro bacilliform virus - RTBV).

49. Cây ngô chuyển gen theo điểm 20, trong đó đoạn khởi đầu mạch gồm trình tự ADN mà đồng nhất ít nhất 80% với SEQ ID NO: 65 hoặc SEQ ID NO: 66.

50. Cây ngô chuyển gen theo điểm 20, trong đó đoạn khởi đầu mạch gồm trình tự ADN đồng nhất ít nhất 90% với SEQ ID NO: 65 hoặc SEQ ID NO: 66.

51. Cây ngô chuyển gen theo điểm 20, trong đó đoạn khởi đầu mạch gồm trình tự ADN đồng nhất ít nhất 80% với SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 70, hoặc SEQ ID NO: 71.

52. Cây ngô chuyển gen theo điểm 20, trong đó đoạn khởi đầu mạch gồm trình tự ADN đồng nhất ít nhất 90% với SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 70, hoặc SEQ ID NO: 71.

53. Cây ngô chuyển gen theo điểm 20, trong đó cấu trúc ADN tái tổ hợp được kết hợp ổn định vào trong hệ gen của cây chuyển gen.

54. Bộ phận hoặc tế bào của cây ngô chuyển gen gồm cấu trúc ADN tái tổ hợp gồm trình tự ADN có thể phiên mã mã hóa phân tử ARN không mã hóa, trong đó phân tử ARN không mã hóa này gồm trình tự đích mà:

(a) bổ sung ít nhất 80% với ít nhất 19 nucleotit liên tiếp của phân tử mARN thứ nhất mã hóa protein GA oxidaza nội sinh thứ nhất ở cây ngô, protein GA oxidaza nội sinh thứ nhất này đồng nhất ít nhất 90% với SEQ ID NO: 9; và

(b) bổ sung ít nhất 80% với ít nhất 19 nucleotit liên tiếp của phân tử mARN thứ hai mã hóa protein GA oxidaza nội sinh thứ hai ở cây ngô, protein GA oxidaza nội sinh thứ hai đồng nhất ít nhất 90% với SEQ ID NO: 15; trong đó trình tự ADN có thể phiên mã được liên kết hoạt động với đoạn khởi đầu mạch, và trong đó phân tử ARN không mã hóa làm giảm mức hiểu hiện của phân tử mARN thứ nhất và thứ hai ở ít nhất một mô của cây ngô chuyển gen gồm cấu trúc ADN tái tổ hợp, so với cây đối chứng, khi phân tử ARN không mã hóa được biểu hiện ở cây ngô chuyển gen.

55. Bộ phận hoặc tế bào của cây ngô chuyển gen theo điểm 54, trong đó sự biểu hiện của phân tử ARN không mã hóa trong bộ phận hoặc tế bào của cây ngô này làm giảm mức của một hoặc nhiều GA hoạt động trong bộ phận hoặc tế bào của cây ngô này so với bộ phận hoặc tế bào của cây đối chứng.

56. Bộ phận hoặc tế bào của cây ngô chuyển gen theo điểm 54, trong đó trình tự đích của phân tử ARN không mã hóa bổ sung ít nhất 90% với ít nhất 19 nucleotit liên tiếp của phân tử mARN thứ nhất mã hóa protein GA20 oxidaza nội sinh thứ nhất.

57. Bộ phận hoặc tế bào của cây ngô chuyển gen theo điểm 56, trong đó trình tự đích của phân tử ARN không mã hóa bổ sung 100% với ít nhất 19 nucleotit liên tiếp của phân tử mARN thứ nhất mã hóa protein GA20 oxidaza nội sinh thứ nhất.

58. Bộ phận hoặc tế bào của cây ngô chuyển gen theo điểm 56, trong đó trình tự đích của phân tử ARN không mã hóa bổ sung ít nhất 90% với ít nhất 19 nucleotit liên tiếp của SEQ ID NO: 7 hoặc 8.

59. Bộ phận hoặc tế bào của cây ngô chuyển gen theo điểm 54, trong đó trình tự đích của phân tử ARN không mã hóa bổ sung ít nhất 90% với ít nhất 19 nucleotit liên tiếp của phân tử mARN thứ hai mã hóa protein GA20 oxidaza nội sinh thứ hai.

60. Bộ phận hoặc tế bào của cây ngô chuyển gen theo điểm 59, trong đó trình tự đích của phân tử ARN không mã hóa bổ sung 100% với ít nhất 19 nucleotit liên tiếp của phân tử mARN thứ hai mã hóa protein GA20 oxidaza nội sinh thứ hai.

61. Bộ phận hoặc tế bào của cây ngô chuyển gen theo điểm 59, trong đó trình tự đích của phân tử ARN không mã hóa bổ sung ít nhất 90% với ít nhất 19 nucleotit liên tiếp của SEQ ID NO: 13 hoặc 14.

62. Bộ phận hoặc tế bào của cây ngô chuyển gen theo điểm 54, trong đó trình tự đích của phân tử ARN không mã hóa bổ sung ít nhất 90% với ít nhất 21 nucleotit liên tiếp của phân tử mARN thứ nhất mã hóa protein GA20 oxidaza nội sinh thứ nhất, và bổ sung ít nhất 90% với ít nhất 21 nucleotit liên tiếp của phân tử mARN thứ hai mã hóa protein GA20 oxidaza thứ hai.

63. Bộ phận hoặc tế bào của cây ngô chuyển gen theo điểm 54, trong đó trình tự đích của phân tử ARN không mã hóa bổ sung 100% với ít nhất 21 nucleotit liên tiếp của phân tử mARN thứ nhất mã hóa protein GA20 oxidaza nội sinh thứ nhất và bổ sung 100% với ít nhất 21 nucleotit liên tiếp của phân tử mARN thứ hai mã hóa protein GA20 oxidaza thứ hai.

64. Bộ phận hoặc tế bào của cây ngô chuyển gen theo điểm 54, trong đó phân tử ARN không mã hóa được mã hóa bằng trình tự ADN có thể phiên mã là miARN hoặc siARN tiền thân được xử lý hoặc được phân cắt ở bộ phận hoặc tế bào của cây ngô để tạo ra miARN hoặc siARN thuần thục.

65. Bộ phận hoặc tế bào của cây ngô chuyển gen theo điểm 54, trong đó đoạn khởi đầu mạch được chọn từ nhóm bao gồm: đoạn khởi đầu sucroza synthaza, đoạn khởi đầu vận chuyển sucroza, đoạn khởi đầu Sh1, đoạn khởi đầu của virut đốm vàng ở chi thài lài (CoYMV), đoạn khởi đầu của vùng liên gen lớn (large intergenic region - LIR) của geminivirut gây bệnh lùn ở lúa mì (wheat dwarf geminivirus - WDV), đoạn khởi đầu của vỏ (coat protein - CP) của geminivirut sọc lá ngô (maize streak geminivirus - MSV), đoạn khởi đầu giống sọc vàng 1 (YS1) ở lúa, và đoạn khởi đầu sọc vàng 2 (OsYSL2) ở lúa.

66. Bộ phận hoặc tế bào của cây ngô chuyển gen theo điểm 54, trong đó đoạn khởi đầu mạch là đoạn khởi đầu của virut tungro dạng thẳng ở lúa – (rice tungro bacilliform virus - RTBV).

67. Bộ phận hoặc tế bào của cây ngô chuyển gen theo điểm 54, trong đó đoạn khởi đầu mạch gồm trình tự ADN đồng nhất ít nhất 80% với SEQ ID NO: 65 hoặc SEQ ID NO: 66.

68. Bộ phận hoặc tế bào của cây ngô chuyển gen theo điểm 67, trong đó đoạn khởi đầu mạch gồm trình tự ADN đồng nhất ít nhất 90% với SEQ ID NO: 65 hoặc SEQ ID NO: 66.

69. Bộ phận hoặc tế bào của cây ngô chuyển gen theo điểm 54, trong đó đoạn khởi đầu mạch gồm trình tự ADN đồng nhất ít nhất 80% với SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 70, hoặc SEQ ID NO: 71.

70. Bộ phận hoặc tế bào của cây ngô chuyển gen theo điểm 69, trong đó đoạn khởi đầu mạch gồm trình tự ADN đồng nhất ít nhất 90% với SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 70, hoặc SEQ ID NO: 71.

71. Bộ phận hoặc tế bào của cây ngô chuyển gen theo điểm 54, trong đó cấu trúc ADN tái tổ hợp được kết hợp ổn định vào trong hệ gen của bộ phận hoặc tế bào của cây ngô chuyển gen.

72. Sản phẩm thực vật được cải biến được làm từ cây ngô chuyển gen theo điểm 20.

73. Sản phẩm thực vật được cải biến được làm từ bộ phận của cây ngô chuyển gen theo điểm 54.

74. Sản phẩm thực vật được cải biến theo điểm 73, trong đó bộ phận của cây ngô chuyển gen là hạt.

75. Sản phẩm thực vật được cải biến bao gồm cấu trúc ADN tái tổ hợp theo điểm 1.

76. Chế phẩm chứa cấu trúc ADN tái tổ hợp theo điểm 1.

77. Bộ phận không sống của cây ngô bao gồm cấu trúc ADN tái tổ hợp theo điểm 1.

78. Bộ phận không có khả năng tái sinh của cây ngô bao gồm cấu trúc ADN tái tổ hợp theo điểm 1.

79. Sản phẩm thực vật được cải biến bao gồm bộ phận không sống hoặc không có khả năng tái sinh của cây ngô và cấu trúc ADN tái tổ hợp theo điểm 1.

80. Vectơ biến nạp gồm cấu trúc ADN tái tổ hợp theo điểm 1.

81. Phân tử ADN gồm cấu trúc ADN tái tổ hợp theo điểm 1.

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> Monsanto Technology LLC

<120> CẤU TRÚC ADN TÁI TỔ HỢP DÙNG ĐỂ THAY ĐỔI HÀM LƯỢNG GIBERELIN (GA) Ở CÂY NGŨ CỐC, CHẾ PHẨM CHỨA CẤU TRÚC ADN NÀY VÀ CÂY NGÔ CHUYỂN GEN CHỨA CẤU TRÚC ADN NÀY

<130> Docket No. 38-21(62056)0003/US

<160> 167

<170> PatentIn phiên bản 3.5

<210> 1
<211> 1741
<212> ADN
<213> Zea mays

<400> 1
gacggtagtt ttcatctaaa gtttattctt cgtcacatgg gatggccgtt tgcttgtttg 60

ttgcttccgg gaggcggtgg tgaattgaag cagatcgaca agcatggctg cccactggtc 120

tcgatcgatc ggcctgccat gccatgccat gccactagag tccgtcctga ctggccgccc 180

gttcccccgt ataaaaaggc aggcaggcag gcagagcggg gacgagcaag caagcagttg 240

cagttgcagc ggcctcctcc tctgcttcct ccctcctcct cctcaccatg gtgctggctg 300

cgcacgatcc ccctcccctt gtgttcgacg ctgcccgcct gagcggcctc tccgacatcc 360

cgcagcagtt catctggccg gcggacgaga gccccacccc ggactccgcc gaggagctgg 420

ccgtgccgct catcgacctc tccggggacg ccgccgaggt ggtccggcag gtccggcgcg 480

cctgcgacct gcacggcttc ttccaggtgg tggggcacgg catcgacgcg gcgctgacgg 540

cggaggccca ccgctgcatg gacgccttct tcacgctgcc gctcccggac aagcagcgcg 600

cgcagcgccg ccaggggggac agctgcggct acgccagcag cttcacgggc cggttcgcgt 660

ccaagctgcc ctggaaggag acgctgtcgt tccgctacac cgacgacgac gacggcgaca 720

agtccaagga cgtcgtggcg tcctacttcg tggacaagct gggcgagggg taccggcacc 780

acggggaggt gtacgggcgc tactgctctg agatgagccg tctgtcgctg gagctcatgg 840

aggtgctagg cgagagcctg ggcgtgggcc ggcgccactt ccggcgcttc ttccagggga 900

acgactccat catgcgcctc aactactacc cgccgtgcca gcggccctac gacacgctgg 960

gcacggggcc gcattgcgac cccacgtcgc tcaccatcct gcaccaggac gacgtgggcg 1020

gactccaggt gttcgacgcc gccacgctcg cgtggcgctc catcaggccc cgcccgggcg 1080

ccttcgtcgt caacatcggc gacaccttca tggcgctctc caacgggcgc tacaggagct 1140

gcctccaccg cgccgtcgtc aacagccggg tggcacgccg ctcgctcgcc ttcttcctgt 1200

gcccggagat ggacaaggtg gtcaggccgc ccaaggagct ggtggacgac gccaacccga 1260

gggcgtaccc ggacttcacg tggaggacgc tgctggactt caccatgagg cactacaggt 1320

cggacatgag gacgctcgag gccttctcca actggctcag caccagtagc aatggcggac 1380

agcacctgct ggagaagaag taggcatgct atttgggtat ggaagatggt ggatgtaagc 1440

aaacaaagcc aaattaagca gagtaggtta attaaggttg gctgatgatc catttaggga 1500

aggagctgat ctccctgact ccctcctcca attttctcaa ccaaatttat atagtataat 1560

aataataata aaatagcaag taatagttgt atcgtattat tattaattaa tttattagct 1620

ggtaggcaag tagtattaaa taccatttgt agtacgatgg gcgtatttct attttggcgt 1680

tttgctctgt gttttttgac gtttcctttg gatttggggg gacctcagat cagctcggcc 1740

t 1741

<210> 2
<211> 1116
<212> ADN
<213> Zea mays

<400> 2
atggtgctgg ctgcgcacga tccccctccc cttgtgttcg acgctgcccg cctgagcggc 60

ctctccgaca tcccgcagca gttcatctgg ccggcggacg agagccccac cccggactcc 120

gccgaggagc tggccgtgcc gctcatcgac ctctccgggg acgccgccga ggtggtccgg 180

caggtccggc gcgcctgcga cctgcacggc ttcttccagg tggtggggca cggcatcgac 240

gcggcgctga cggcggaggc ccaccgctgc atggacgcct tcttcacgct gccgctcccg 300

gacaagcagc gcgcgcagcg ccgccagggg gacagctgcg gctacgccag cagcttcacg 360

ggccggttcg cgtccaagct gccctggaag gagacgctgt cgttccgcta caccgacgac 420

gacgacggcg acaagtccaa ggacgtcgtg gcgtcctact tcgtggacaa gctgggcgag 480

gggtaccggc accacgggga ggtgtacggg cgctactgct ctgagatgag ccgtctgtcg 540

ctggagctca tggaggtgct aggcgagagc ctgggcgtgg gccggcgcca cttccggcgc 600

ttcttccagg ggaacgactc catcatgcgc ctcaactact acccgccgtg ccagcggccc 660

tacgacacgc tgggcacggg gccgcattgc gaccccacgt cgctcaccat cctgcaccag 720

gacgacgtgg gcggactcca ggtgttcgac gccgccacgc tcgcgtggcg ctccatcagg 780

ccccgcccgg gcgccttcgt cgtcaacatc ggcgacacct tcatggcgct ctccaacggg 840

cgctacagga gctgcctcca ccgcgccgtc gtcaacagcc gggtggcacg ccgctcgctc 900

gccttcttcc tgtgcccgga gatggacaag gtggtcaggc cgcccaagga gctggtggac 960

gacgccaacc cgagggcgta cccggacttc acgtggagga cgctgctgga cttcaccatg 1020

aggcactaca ggtcggacat gaggacgctc gaggccttct ccaactggct cagcaccagt 1080

agcaatggcg gacagcacct gctggagaag aagtag 1116

<210> 3
<211> 371
<212> PRT
<213> Zea mays

<400> 3

Met Val Leu Ala Ala His Asp Pro Pro Pro Leu Val Phe Asp Ala Ala
1 5 10 15

Arg Leu Ser Gly Leu Ser Asp Ile Pro Gln Gln Phe Ile Trp Pro Ala
20 25 30

Asp Glu Ser Pro Thr Pro Asp Ser Ala Glu Glu Leu Ala Val Pro Leu
35 40 45

Ile Asp Leu Ser Gly Asp Ala Ala Glu Val Val Arg Gln Val Arg Arg
50 55 60

Ala Cys Asp Leu His Gly Phe Phe Gln Val Val Gly His Gly Ile Asp
65 70 75 80

Ala Ala Leu Thr Ala Glu Ala His Arg Cys Met Asp Ala Phe Phe Thr
85 90 95

Leu Pro Leu Pro Asp Lys Gln Arg Ala Gln Arg Arg Gln Gly Asp Ser
100 105 110

Cys Gly Tyr Ala Ser Ser Phe Thr Gly Arg Phe Ala Ser Lys Leu Pro
115 120 125

Trp Lys Glu Thr Leu Ser Phe Arg Tyr Thr Asp Asp Asp Asp Gly Asp
130 135 140

Lys Ser Lys Asp Val Val Ala Ser Tyr Phe Val Asp Lys Leu Gly Glu
145 150 155 160

Gly Tyr Arg His His Gly Glu Val Tyr Gly Arg Tyr Cys Ser Glu Met
165 170 175

Ser Arg Leu Ser Leu Glu Leu Met Glu Val Leu Gly Glu Ser Leu Gly
180 185 190

Val Gly Arg Arg His Phe Arg Arg Phe Phe Gln Gly Asn Asp Ser Ile
195 200 205

Met Arg Leu Asn Tyr Tyr Pro Pro Cys Gln Arg Pro Tyr Asp Thr Leu
210 215 220

Gly Thr Gly Pro His Cys Asp Pro Thr Ser Leu Thr Ile Leu His Gln
225 230 235 240

Asp Asp Val Gly Gly Leu Gln Val Phe Asp Ala Ala Thr Leu Ala Trp
245 250 255

Arg Ser Ile Arg Pro Arg Pro Gly Ala Phe Val Val Asn Ile Gly Asp
260 265 270

Thr Phe Met Ala Leu Ser Asn Gly Arg Tyr Arg Ser Cys Leu His Arg
275 280 285

Ala Val Val Asn Ser Arg Val Ala Arg Arg Ser Leu Ala Phe Phe Leu
290 295 300

Cys Pro Glu Met Asp Lys Val Val Arg Pro Pro Lys Glu Leu Val Asp
305 310 315 320

Asp Ala Asn Pro Arg Ala Tyr Pro Asp Phe Thr Trp Arg Thr Leu Leu
325 330 335

Asp Phe Thr Met Arg His Tyr Arg Ser Asp Met Arg Thr Leu Glu Ala
340 345 350

Phe Ser Asn Trp Leu Ser Thr Ser Ser Asn Gly Gly Gln His Leu Leu
355 360 365

Glu Lys Lys
370

<210> 4
<211> 1517
<212> ADN
<213> Zea mays

<400> 4
caggaataaa ataagcctcc gcccggcttc gttgcatcca cgcacgcagc aagcgatcgg 60

atttcgccag catggcggcg gcggccgtgg tgttcgacgc cgaggcgctg agccgggagg 120

agcacatccc ggcgcagttc gtgtggccca ccgaggagcg ggcgccggcg ggcggcgtgg 180

aggaggtcgc catccccgtg gtcgacctcg gcgagttcct ccgccgcggg gtgctcccgc 240

gcggcgtggc ggaggcgtgc gagcgccacg gcgtcttcca ggtggtgaac cacggcgtgg 300

gcgccgcgct gctcgccgag gcctaccgct gttgcgacgc cttttacgcg ctcccgctcg 360

cggacaagca gcgcgcgcag cgccggcacg gggagaacca cggctacgcc agcagcttca 420

cgggccgctt ccactgctgc ctgccgtgga aggagacgct gtccttcaac tgccccgccg 480

gtgccgggac tgcgcgcgcc gtcgtcggct acttcgtcga cgtcctcggc gaggactacc 540

gccacatggg ggaggtgtac caggagtact gcgacgcgat gacgcgtctg gcgctggacg 600

tgacggaggt gctggcggca gcgctggggc tggaccgcgg cgcactgcgc ggcttcttcg 660

agggcggcga ctccgtcatg cggctgaacc actacccggc gtgccggcag ccgcacctga 720

cgctggggac gggcccgcac cgggacccga cgtcgctgac gctgctgcac caggacgacg 780

tgggcgggct gcaggtgcgc gccggcggcg ggccgtggcg cgcggtgcgg ccccgcgcgg 840

acgcgttcgt ggtcaacatt ggcgacacct tcgccgcgct caccgacggg cgtcacacca 900

gctgcctgca ccgcgccgtg gtgaccggcg gcggctcccg ccggtcgctc gccttcttcc 960

tcaacccgcc gctggaccgc gtcgtccgcc cgccgggcgc gctcctccag gagaacaagc 1020

aggcgggccg cccgcgcgcg ttcccggact tcacgtggcg cgagttcctc gagttcacgc 1080

agaagcacta ccggtcggac gcgggcacca tggacgcctt cgtgtcgtgg atcgcgggag 1140

gccgccgcca ccatggcgga caggaggagg gcaactgaga tcgatgcatc tctagctgta 1200

ggcagcagcg cagcagctac caagaataat ggccggcgac ggagatgcag ctacgacgca 1260

caaataaatt gagtgtttgt ggtacaataa ggacgaggac gatcaatggc gacctgtaac 1320

cggtgcagtt ttagttaatc tttcatggcg atatggcatt aaccaatcgt tggtgtaaaa 1380

tgcgtgcatg ctttgcatgc caatgttggc catgtgatgg cacagcgtga gtgtagctca 1440

cccaccgtga caacgtgcta atttcgtgtg gtcctagata ccaaggtcgt ctaatgaact 1500

tgatggattg atgattt 1517

<210> 5
<211> 1107
<212> ADN
<213> Zea mays

<400> 5
atggcggcgg cggccgtggt gttcgacgcc gaggcgctga gccgggagga gcacatcccg 60

gcgcagttcg tgtggcccac cgaggagcgg gcgccggcgg gcggcgtgga ggaggtcgcc 120

atccccgtgg tcgacctcgg cgagttcctc cgccgcgggg tgctcccgcg cggcgtggcg 180

gaggcgtgcg agcgccacgg cgtcttccag gtggtgaacc acggcgtggg cgccgcgctg 240

ctcgccgagg cctaccgctg ttgcgacgcc ttttacgcgc tcccgctcgc ggacaagcag 300

cgcgcgcagc gccggcacgg ggagaaccac ggctacgcca gcagcttcac gggccgcttc 360

cactgctgcc tgccgtggaa ggagacgctg tccttcaact gccccgccgg tgccgggact 420

gcgcgcgccg tcgtcggcta cttcgtcgac gtcctcggcg aggactaccg ccacatgggg 480

gaggtgtacc aggagtactg cgacgcgatg acgcgtctgg cgctggacgt gacggaggtg 540

ctggcggcag cgctggggct ggaccgcggc gcactgcgcg gcttcttcga gggcggcgac 600

tccgtcatgc ggctgaacca ctacccggcg tgccggcagc cgcacctgac gctggggacg 660

ggcccgcacc gggacccgac gtcgctgacg ctgctgcacc aggacgacgt gggcgggctg 720

caggtgcgcg ccggcggcgg gccgtggcgc gcggtgcggc cccgcgcgga cgcgttcgtg 780

gtcaacattg gcgacacctt cgccgcgctc accgacgggc gtcacaccag ctgcctgcac 840

cgcgccgtgg tgaccggcgg cggctcccgc cggtcgctcg ccttcttcct caacccgccg 900

ctggaccgcg tcgtccgccc gccgggcgcg ctcctccagg agaacaagca ggcgggccgc 960

ccgcgcgcgt tcccggactt cacgtggcgc gagttcctcg agttcacgca gaagcactac 1020

cggtcggacg cgggcaccat ggacgccttc gtgtcgtgga tcgcgggagg ccgccgccac 1080

catggcggac aggaggaggg caactga 1107

<210> 6
<211> 368
<212> PRT
<213> Zea mays

<400> 6

Met Ala Ala Ala Ala Val Val Phe Asp Ala Glu Ala Leu Ser Arg Glu
1 5 10 15

Glu His Ile Pro Ala Gln Phe Val Trp Pro Thr Glu Glu Arg Ala Pro
20 25 30

Ala Gly Gly Val Glu Glu Val Ala Ile Pro Val Val Asp Leu Gly Glu
35 40 45

Phe Leu Arg Arg Gly Val Leu Pro Arg Gly Val Ala Glu Ala Cys Glu
50 55 60

Arg His Gly Val Phe Gln Val Val Asn His Gly Val Gly Ala Ala Leu
65 70 75 80

Leu Ala Glu Ala Tyr Arg Cys Cys Asp Ala Phe Tyr Ala Leu Pro Leu
85 90 95

Ala Asp Lys Gln Arg Ala Gln Arg Arg His Gly Glu Asn His Gly Tyr
100 105 110

Ala Ser Ser Phe Thr Gly Arg Phe His Cys Cys Leu Pro Trp Lys Glu
115 120 125

Thr Leu Ser Phe Asn Cys Pro Ala Gly Ala Gly Thr Ala Arg Ala Val
130 135 140

Val Gly Tyr Phe Val Asp Val Leu Gly Glu Asp Tyr Arg His Met Gly
145 150 155 160

Glu Val Tyr Gln Glu Tyr Cys Asp Ala Met Thr Arg Leu Ala Leu Asp
165 170 175

Val Thr Glu Val Leu Ala Ala Ala Leu Gly Leu Asp Arg Gly Ala Leu
180 185 190

Arg Gly Phe Phe Glu Gly Gly Asp Ser Val Met Arg Leu Asn His Tyr
195 200 205

Pro Ala Cys Arg Gln Pro His Leu Thr Leu Gly Thr Gly Pro His Arg
210 215 220

Asp Pro Thr Ser Leu Thr Leu Leu His Gln Asp Asp Val Gly Gly Leu
225 230 235 240

Gln Val Arg Ala Gly Gly Gly Pro Trp Arg Ala Val Arg Pro Arg Ala
245 250 255

Asp Ala Phe Val Val Asn Ile Gly Asp Thr Phe Ala Ala Leu Thr Asp
260 265 270

Gly Arg His Thr Ser Cys Leu His Arg Ala Val Val Thr Gly Gly Gly
275 280 285

Ser Arg Arg Ser Leu Ala Phe Phe Leu Asn Pro Pro Leu Asp Arg Val
290 295 300

Val Arg Pro Pro Gly Ala Leu Leu Gln Glu Asn Lys Gln Ala Gly Arg
305 310 315 320

Pro Arg Ala Phe Pro Asp Phe Thr Trp Arg Glu Phe Leu Glu Phe Thr
325 330 335

Gln Lys His Tyr Arg Ser Asp Ala Gly Thr Met Asp Ala Phe Val Ser
340 345 350

Trp Ile Ala Gly Gly Arg Arg His His Gly Gly Gln Glu Glu Gly Asn
355 360 365

<210> 7
<211> 1522
<212> ADN
<213> Zea mays

<400> 7
gcacactcgc agctcgcaca tctcatggtg tcctaagaac ggcaagagcc agctctgcct 60

agcagcagcg cacagccaca tccatggacg ccagcccgac cccaccgctc cccctccgcg 120

ccccaactcc cagcattgac ctccccgctg gcaaggacag ggccgacgcg gcggctaaca 180

aggccgcggc tgtgttcgac ctgcgccggg agcccaagat cccggagcca ttcctgtggc 240

cgcacgaaga ggcgcggccg acctcggccg cggagctgga ggtgccggtg gtggacgtgg 300

gcgtgctgcg caatggcgac ggcgcggggc tccgccgcgc cgcggcgcaa gtggcggcgg 360

cgtgcgcgac gcacgggttc ttccaggtgt gcgggcacgg cgtggacgcg gcgctggggc 420

gcgccgcgct ggacggcgcc agcgacttct tccggctgcc gctggctgag aagcagcggg 480

cccggcgcgt ccccggcacc gtgtccgggt acacgagcgc gcacgccgac cggttcgcgt 540

ccaagctccc ctggaaggag accctgtcct tcggcttcca cgacggcgcc gcggcgcccg 600

tcgtcgtgga ctacttcacc ggcaccctcg gccaagattt cgagccagtg gggcgggtgt 660

accagaggta ctgcgaggag atgaaggagc tgtcgctgac gatcatggag ctgctggagc 720

tgagcctggg cgtggagcgc ggctactacc gggagttctt cgaggacagc cgctccatca 780

tgcggtgcaa ctactacccg ccgtgcccgg tgccggagcg cacgctgggc acgggcccgc 840

actgcgaccc cacggcgctg accatcctcc tgcaggacga cgtcggcggg ctggaggtcc 900

tggtggacgg cgagtggcgc cccgtccggc ccgtcccagg cgccatggtc atcaacatcg 960

gcgacacctt catggcgctg tccaacgggc ggtacaagag ctgcctgcac cgcgcggtgg 1020

tgaaccggcg gcaggagcgg caatcgctgg ccttcttcct gtgcccgcgc gaggaccggg 1080

tggtgcgccc gccggccagc gccgcgccgc ggcagtaccc ggacttcacc tgggccgacc 1140

tcatgcgctt cacgcagcgc cactaccgcg ccgacacccg cacgctggac gccttcaccc 1200

gctggctctc ccacggcccg gcggcggcgg ctccctgcac ctaacgagcc ggccgtctct 1260

ttcgccgggg cccgcgcggg gttcgcccac gtggtgatca ggtggcagac atgtggccca 1320

cgggccccgc gccgccttcc ccatttttgg acgaccctac tgctactact actagtgtac 1380

atatgcaaaa aaatacatat atatataggt actttctcta atatttttat atataagcaa 1440

ggcggcctgg tgttcttttc tttgttttgt cgacaactgt ttgatcccat cctatggacg 1500

atggatagtt caatgtttgt ac 1522

<210> 8
<211> 1161
<212> ADN
<213> Zea mays

<400> 8
atggacgcca gcccgacccc accgctcccc ctccgcgccc caactcccag cattgacctc 60

cccgctggca aggacagggc cgacgcggcg gctaacaagg ccgcggctgt gttcgacctg 120

cgccgggagc ccaagatccc ggagccattc ctgtggccgc acgaagaggc gcggccgacc 180

tcggccgcgg agctggaggt gccggtggtg gacgtgggcg tgctgcgcaa tggcgacggc 240

gcggggctcc gccgcgccgc ggcgcaagtg gcggcggcgt gcgcgacgca cgggttcttc 300

caggtgtgcg ggcacggcgt ggacgcggcg ctggggcgcg ccgcgctgga cggcgccagc 360

gacttcttcc ggctgccgct ggctgagaag cagcgggccc ggcgcgtccc cggcaccgtg 420

tccgggtaca cgagcgcgca cgccgaccgg ttcgcgtcca agctcccctg gaaggagacc 480

ctgtccttcg gcttccacga cggcgccgcg gcgcccgtcg tcgtggacta cttcaccggc 540

accctcggcc aagatttcga gccagtgggg cgggtgtacc agaggtactg cgaggagatg 600

aaggagctgt cgctgacgat catggagctg ctggagctga gcctgggcgt ggagcgcggc 660

tactaccggg agttcttcga ggacagccgc tccatcatgc ggtgcaacta ctacccgccg 720

tgcccggtgc cggagcgcac gctgggcacg ggcccgcact gcgaccccac ggcgctgacc 780

atcctcctgc aggacgacgt cggcgggctg gaggtcctgg tggacggcga gtggcgcccc 840

gtccggcccg tcccaggcgc catggtcatc aacatcggcg acaccttcat ggcgctgtcc 900

aacgggcggt acaagagctg cctgcaccgc gcggtggtga accggcggca ggagcggcaa 960

tcgctggcct tcttcctgtg cccgcgcgag gaccgggtgg tgcgcccgcc ggccagcgcc 1020

gcgccgcggc agtacccgga cttcacctgg gccgacctca tgcgcttcac gcagcgccac 1080

taccgcgccg acacccgcac gctggacgcc ttcacccgct ggctctccca cggcccggcg 1140

gcggcggctc cctgcaccta a 1161

<210> 9
<211> 386

<212> PRT
<213> Zea mays

<400> 9

Met Asp Ala Ser Pro Thr Pro Pro Leu Pro Leu Arg Ala Pro Thr Pro
1 5 10 15

Ser Ile Asp Leu Pro Ala Gly Lys Asp Arg Ala Asp Ala Ala Ala Asn
20 25 30

Lys Ala Ala Ala Val Phe Asp Leu Arg Arg Glu Pro Lys Ile Pro Glu
35 40 45

Pro Phe Leu Trp Pro His Glu Glu Ala Arg Pro Thr Ser Ala Ala Glu
50 55 60

Leu Glu Val Pro Val Val Asp Val Gly Val Leu Arg Asn Gly Asp Gly
65 70 75 80

Ala Gly Leu Arg Arg Ala Ala Ala Gln Val Ala Ala Ala Cys Ala Thr
85 90 95

His Gly Phe Phe Gln Val Cys Gly His Gly Val Asp Ala Ala Leu Gly
100 105 110

Arg Ala Ala Leu Asp Gly Ala Ser Asp Phe Phe Arg Leu Pro Leu Ala
115 120 125

Glu Lys Gln Arg Ala Arg Arg Val Pro Gly Thr Val Ser Gly Tyr Thr
130 135 140

Ser Ala His Ala Asp Arg Phe Ala Ser Lys Leu Pro Trp Lys Glu Thr
145 150 155 160

Leu Ser Phe Gly Phe His Asp Gly Ala Ala Ala Pro Val Val Val Asp
165 170 175

Tyr Phe Thr Gly Thr Leu Gly Gln Asp Phe Glu Pro Val Gly Arg Val
180 185 190

Tyr Gln Arg Tyr Cys Glu Glu Met Lys Glu Leu Ser Leu Thr Ile Met
195 200 205

Glu Leu Leu Glu Leu Ser Leu Gly Val Glu Arg Gly Tyr Tyr Arg Glu
210 215 220

```
Phe Phe Glu Asp Ser Arg Ser Ile Met Arg Cys Asn Tyr Tyr Pro Pro
225                 230                 235                 240

Cys Pro Val Pro Glu Arg Thr Leu Gly Thr Gly Pro His Cys Asp Pro
                245                 250                 255

Thr Ala Leu Thr Ile Leu Leu Gln Asp Asp Val Gly Gly Leu Glu Val
            260                 265                 270

Leu Val Asp Gly Glu Trp Arg Pro Val Arg Pro Val Pro Gly Ala Met
        275                 280                 285

Val Ile Asn Ile Gly Asp Thr Phe Met Ala Leu Ser Asn Gly Arg Tyr
    290                 295                 300

Lys Ser Cys Leu His Arg Ala Val Val Asn Arg Arg Gln Glu Arg Gln
305                 310                 315                 320

Ser Leu Ala Phe Phe Leu Cys Pro Arg Glu Asp Arg Val Val Arg Pro
                325                 330                 335

Pro Ala Ser Ala Ala Pro Arg Gln Tyr Pro Asp Phe Thr Trp Ala Asp
            340                 345                 350

Leu Met Arg Phe Thr Gln Arg His Tyr Arg Ala Asp Thr Arg Thr Leu
        355                 360                 365

Asp Ala Phe Thr Arg Trp Leu Ser His Gly Pro Ala Ala Ala Ala Pro
    370                 375                 380

Cys Thr
385
```

<210> 10
<211> 1457
<212> ADN
<213> Zea mays

<400> 10

```
taatcacctc atcacaggtc cccccagcct cactctcgcg ccggctcaag gtacattgcg      60

tgtcctagcc aagacacgca gctcatctca gcctcacacg cacagcaaga gcgaggcgtg     120

attcgccatg ggcggcctca ctatggacca ggccttcgtg caggcccccg agcaccgccc     180

caagcccatc gtcaccgagg ccaccggcat ccctctcatc gacctctcgc ctctggccgc     240

cagcggcggc gccgtggacg cgctggccgc cgaggtgggc gcggcgagcc gggactgggg     300
```

cttcttcgtg gtcgtgggcc acggcgtgcc cgcagagacc gtggcgcgcg cgacggaggc 360

gcagcgagcg ttcttcgcgc tgccggcaga gcggaaggcc gccgtgcgga ggaacgaggc 420

ggagccgctc gggtactacg agtcggagca caccaagaac gtgagggact ggaaggaggt 480

gtacgacctc gtgccgcgcg agccgccgcc gccggcagcc gtggccgacg gcgagcttgt 540

gttcgataac aagtggcccc aggatctacc gggcttcaga gaggcgctgg aggagtacgc 600

gaaagcgatg gaagagctgg cgttcaagct gctggagctg atcgcccgga gcctgaagct 660

gaggcccgac cggctgcacg gcttcttcaa ggaccagacg accttcatcc ggctgaacca 720

ctaccctcct tgcccgagcc ccgacctggc cctcggcgtg gggcggcaca aggacgccgg 780

cgccctgacc atcctgtacc aggacgacgt cgggggggctc gacgtccggc ggcgctccga 840

cggcgagtgg gtccgcgtca ggcccgtgcc cgactcgttc atcatcaacg tcggcgacct 900

catccaggta cgagagcgcg gagcaccggg tgtcggtgaa ctcggcgagg gagaggttct 960

ccatgcccta cttcttcaac ccggcgacct acaccatggt ggagccggtg gaggagctgg 1020

tgagcaagga cgatccgccc aggtacgacg cctacaactg gggcgacttc ttcagcacca 1080

ggaagaacag caacttcaag aagctcaacg tggagaacat tcagatcgcg catttcaaga 1140

agagcctcgt cctcgcctaa ctactgctac tgctaggatc catgccattg ccatgtcgtc 1200

ttcagattca gagcacgcca tgtcgtcgct agcttcgtgg tagaacaaat aatgatgtgc 1260

gtgctgtgtg taagcatgga tatggatgtg aatatgtaat atgatgagca ctcctacttt 1320

ggtatgtttg ggaataacag acttgtgttg gtctggttca ttatttgtaa gaaaatcaaa 1380

aagagttagt agggcaggag gctaaccaca gtcatgctgc accacatccc tggtggaaag 1440

ctggccgggt tacgcta 1457

<210> 11
<211> 1116
<212> ADN
<213> Zea mays

<400> 11
atgggcggcc tcactatgga ccaggccttc gtgcaggccc ccgagcaccg ccccaagccc 60

atcgtcaccg aggccaccgg catccctctc atcgacctct cgcctctggc cgccagcggc 120

ggcgccgtgg acgcgctggc cgccgaggtg ggcgcggcga gccgggactg gggcttcttc 180

gtggtcgtgg gccacggcgt gcccgcagag accgtggcgc gcgcgacgga ggcgcagcga 240

gcgttcttcg cgctgccggc agagcggaag gccgccgtgc ggaggaacga ggcggagccg 300

ctcgggtact acgagtcgga gcacaccaag aacgtgaggg actggaagga ggtgtacgac 360

ctcgtgccgc gcgagccgcc gccgccggca gccgtggccg acggcgagct tgtgttcgat 420

aacaagtggc cccaggatct accgggcttc agagaggcgc tggaggagta cgcgaaagcg 480

atggaagagc tggcgttcaa gctgctggag ctgatcgccc ggagcctgaa gctgaggccc 540

gaccggctgc acggcttctt caaggaccag acgaccttca tccggctgaa ccactaccct 600

ccttgcccga gccccgacct ggccctcggc gtggggcggc acaaggacgc cggcgccctg 660

accatcctgt accaggacga cgtcgggggg ctcgacgtcc ggcggcgctc cgacggcgag 720

tgggtccgcg tcaggcccgt gcccgactcg ttcatcatca acgtcggcga cctcatccag 780

gtacgagagc gcggagcacc gggtgtcggt gaactcggcg agggagaggt tctccatgcc 840

ctacttcttc aacccggcga cctacaccat ggtggagccg gtggaggagc tggtgagcaa 900

ggacgatccg cccaggtacg acgcctacaa ctggggcgac ttcttcagca ccaggaagaa 960

cagcaacttc aagaagctca acgtggagaa cattcagatc gcgcatttca agaagagcct 1020

cgtcctcgcc taactactgc tactgctagg atccatgcca ttgccatgtc gtcttcagat 1080

tcagagcacg ccatgtcgtc gctagcttcg tggtag 1116

<210> 12
<211> 371
<212> PRT
<213> Zea mays

<400> 12

Met Gly Gly Leu Thr Met Asp Gln Ala Phe Val Gln Ala Pro Glu His
1 5 10 15

Arg Pro Lys Pro Ile Val Thr Glu Ala Thr Gly Ile Pro Leu Ile Asp
20 25 30

Leu Ser Pro Leu Ala Ala Ser Gly Gly Ala Val Asp Ala Leu Ala Ala
35 40 45

Glu Val Gly Ala Ala Ser Arg Asp Trp Gly Phe Phe Val Val Val Gly
50 55 60

His Gly Val Pro Ala Glu Thr Val Ala Arg Ala Thr Glu Ala Gln Arg
65 70 75 80

Ala Phe Phe Ala Leu Pro Ala Glu Arg Lys Ala Ala Val Arg Arg Asn
85 90 95

Glu Ala Glu Pro Leu Gly Tyr Tyr Glu Ser Glu His Thr Lys Asn Val
100 105 110

Arg Asp Trp Lys Glu Val Tyr Asp Leu Val Pro Arg Glu Pro Pro Pro
115 120 125

Pro Ala Ala Val Ala Asp Gly Glu Leu Val Phe Asp Asn Lys Trp Pro
130 135 140

Gln Asp Leu Pro Gly Phe Arg Glu Ala Leu Glu Glu Tyr Ala Lys Ala
145 150 155 160

Met Glu Glu Leu Ala Phe Lys Leu Leu Glu Leu Ile Ala Arg Ser Leu
165 170 175

Lys Leu Arg Pro Asp Arg Leu His Gly Phe Phe Lys Asp Gln Thr Thr
180 185 190

Phe Ile Arg Leu Asn His Tyr Pro Pro Cys Pro Ser Pro Asp Leu Ala
195 200 205

Leu Gly Val Gly Arg His Lys Asp Ala Gly Ala Leu Thr Ile Leu Tyr
210 215 220

Gln Asp Asp Val Gly Gly Leu Asp Val Arg Arg Arg Ser Asp Gly Glu
225 230 235 240

Trp Val Arg Val Arg Pro Val Pro Asp Ser Phe Ile Ile Asn Val Gly
245 250 255

Asp Leu Ile Gln Val Arg Glu Arg Gly Ala Pro Gly Val Gly Glu Leu
260 265 270

Gly Glu Gly Glu Val Leu His Ala Leu Leu Leu Gln Pro Gly Asp Leu
275 280 285

His His Gly Gly Ala Gly Gly Gly Ala Gly Glu Gln Gly Arg Ser Ala
290 295 300

Gln Val Arg Arg Leu Gln Leu Gly Arg Leu Leu Gln His Gln Glu Glu
305 310 315 320

Gln Gln Leu Gln Glu Ala Gln Arg Gly Glu His Ser Asp Arg Ala Phe
325 330 335

Gln Glu Glu Pro Arg Pro Arg Leu Thr Thr Ala Thr Ala Arg Ile His
340 345 350

Ala Ile Ala Met Ser Ser Ser Asp Ser Glu His Ala Met Ser Ser Leu
355 360 365

Ala Ser Trp
370

<210> 13
<211> 1733
<212> ADN
<213> Zea mays

<400> 13
atgaggccgc gcctccctcc aaatgttccc tccctgcctt cgtctttgtc gttgctcgca 60

aactccctgt cctcccctgt tacaaatacc cccacccgcc cggacagctt ccctgcatac 120

ttgcagctcg cacatctcat ggtgtcgcag gaacgacaag agccagctgt gcctagcagc 180

agcagcagca gcgccaagcg cgcagccacg tccatggacg ccagcccggc cccgccgctc 240

ctcctccgcg cccccactcc cagccccagc attgacctcc ccgctggcaa ggacaaggcc 300

gacgcggcgg ccagcaaggc cggcgcggcc gtgttcgacc tgcgccggga gcccaagatc 360

cccgcgccat tcctgtggcc gcaggaagag gcgcggccgt cctcggccgc ggagctggag 420

gtgccgatgg tggacgtggg cgtgctgcgc aatggcgacc gcgcggggct gcggcgcgcc 480

gcggcgcagg tggccgcggc gtgcgcgacg cacgggttct tccaggtgtg cgggcacggc 540

gtggacgcgg cgctggggcg cgccgcgctg gacggcgcca gcgacttctt ccggctgccg 600

ctcgccgaga agcagcgcgc ccggcgcgtc cccggcaccg tgtccgggta cacgagcgcg 660

cacgccgacc ggttcgcggc caagctcccc tggaaggaga ccctgtcgtt cggctaccac 720

gacggcgccg cgtcgcctgt cgtcgtggac tacttcgtcg gcaccctcgg ccaggatttc 780

gagccaatgg ggtgggtgta ccagaggtac tgcgaggaga tgaaggagct gtcgctgacg 840

atcatggagc tgctggagct gagcctgggc gtggagctgc gcggctacta ccgggagttc 900

ttcgaggaca gccggtccat catgcggtgc aactactacc cgccgtgccc ggagccggag 960

cgcacgctgg gcacgggccc gcactgcgac cccacggcgc tcaccatcct cctgcaggac 1020

gacgtgggcg ggctggaggt gctggtggac ggtgagtggc gccccgtccg gcccgtcccg 1080

ggcgccatgg tcatcaacat cggcgacacc ttcatggcgc tgtcgaacgg gaggtacaag 1140

agctgcctgc accgcgcggt ggtgaaccag cggcgggcgc ggcggtcgct ggccttcttc 1200

ctgtgcccgc gcgaggaccg ggtggtgcgc ccgccggcca gtgctgcgcc gcggcgctac 1260

ccggacttca cctgggccga cctcatgcgc ttcacgcagc gccactaccg cgccgacacc 1320

cgcacgctgg acgccttcac ccgctggctc tcccacggcc cggcccaggc ggcggcgcct 1380

ccctgcacct agcgagccgg gccaaggccg tctctttcgc cccacgtgcg cgcccagctg 1440

ggcaggtggc cagacacgcg gcccgcgggc cccgcgccgc cttgccattt tttgacgctg 1500

gccctactgc tgtgctacta gtgtacatat gcaagagtac atatatatat atatatatac 1560

gtattttcta tatattatat ataaaagcaa ggcggcccgg tgcccttctc ttgttttgtc 1620

cacaactgtt tgatcccatt attctatgga ccatggatac ttcaatgttt gtactaagac 1680

cgtgaacgtg ggattctttt ccttcctctg tgtttttttct gagaaaaatt aaa 1733

<210> 14
<211> 1392
<212> ADN
<213> Zea mays

<400> 14
atgaggccgc gcctccctcc aaatgttccc tccctgcctt cgtctttgtc gttgctcgca 60

aactccctgt cctcccctgt tacaaatacc cccacccgcc cggacagctt ccctgcatac 120

ttgcagctcg cacatctcat ggtgtcgcag gaacgacaag agccagctgt gcctagcagc 180

agcagcagca gcgccaagcg cgcagccacg tccatggacg ccagcccggc cccgccgctc 240

ctcctccgcg cccccactcc cagccccagc attgacctcc ccgctggcaa ggacaaggcc 300

gacgcggcgg ccagcaaggc cggcgcggcc gtgttcgacc tgcgccggga gcccaagatc 360

cccgcgccat tcctgtggcc gcaggaagag gcgcggccgt cctcggccgc ggagctggag 420

gtgccgatgg tggacgtggg cgtgctgcgc aatggcgacc gcgcggggct gcggcgcgcc 480

gcggcgcagg tggccgcggc gtgcgcgacg cacgggttct tccaggtgtg cgggcacggc 540

gtggacgcgg cgctggggcg cgccgcgctg gacggcgcca gcgacttctt ccggctgccg 600

ctcgccgaga agcagcgcgc ccggcgcgtc cccggcaccg tgtccgggta cacgagcgcg 660

cacgccgacc ggttcgcggc caagctcccc tggaaggaga ccctgtcgtt cggctaccac 720

gacggcgccg cgtcgcctgt cgtcgtggac tacttcgtcg gcaccctcgg ccaggatttc 780

gagccaatgg ggtgggtgta ccagaggtac tgcgaggaga tgaaggagct gtcgctgacg 840

atcatggagc tgctggagct gagcctgggc gtggagctgc gcggctacta ccgggagttc 900

ttcgaggaca gccggtccat catgcggtgc aactactacc cgccgtgccc ggagccggag 960

cgcacgctgg gcacgggccc gcactgcgac cccacggcgc tcaccatcct cctgcaggac 1020

gacgtgggcg ggctggaggt gctggtggac ggtgagtggc gccccgtccg gcccgtcccg 1080

ggcgccatgg tcatcaacat cggcgacacc ttcatggcgc tgtcgaacgg gaggtacaag 1140

agctgcctgc accgcgcggt ggtgaaccag cggcgggcgc ggcggtcgct ggccttcttc 1200

ctgtgcccgc gcgaggaccg ggtggtgcgc ccgccggcca gtgctgcgcc gcggcgctac 1260

ccggacttca cctgggccga cctcatgcgc ttcacgcagc gccactaccg cgccgacacc 1320

cgcacgctgg acgccttcac ccgctggctc tcccacggcc cggcccaggc ggcggcgcct 1380

ccctgcacct ag 1392

<210> 15
<211> 463
<212> PRT
<213> Zea mays

<400> 15

Met Arg Pro Arg Leu Pro Pro Asn Val Pro Ser Leu Pro Ser Ser Leu
1 5 10 15

Ser Leu Leu Ala Asn Ser Leu Ser Ser Pro Val Thr Asn Thr Pro Thr
20 25 30

Arg Pro Asp Ser Phe Pro Ala Tyr Leu Gln Leu Ala His Leu Met Val
35 40 45

Ser Gln Glu Arg Gln Glu Pro Ala Val Pro Ser Ser Ser Ser Ser Ser
50 55 60

Ala Lys Arg Ala Ala Thr Ser Met Asp Ala Ser Pro Ala Pro Pro Leu
65 70 75 80

Leu Leu Arg Ala Pro Thr Pro Ser Pro Ser Ile Asp Leu Pro Ala Gly
85 90 95

Lys Asp Lys Ala Asp Ala Ala Ala Ser Lys Ala Gly Ala Ala Val Phe
100 105 110

Asp Leu Arg Arg Glu Pro Lys Ile Pro Ala Pro Phe Leu Trp Pro Gln
115 120 125

Glu Glu Ala Arg Pro Ser Ser Ala Ala Glu Leu Glu Val Pro Met Val
130 135 140

Asp Val Gly Val Leu Arg Asn Gly Asp Arg Ala Gly Leu Arg Arg Ala
145 150 155 160

Ala Ala Gln Val Ala Ala Ala Cys Ala Thr His Gly Phe Phe Gln Val
165 170 175

Cys Gly His Gly Val Asp Ala Ala Leu Gly Arg Ala Ala Leu Asp Gly
180 185 190

Ala Ser Asp Phe Phe Arg Leu Pro Leu Ala Glu Lys Gln Arg Ala Arg
195 200 205

Arg Val Pro Gly Thr Val Ser Gly Tyr Thr Ser Ala His Ala Asp Arg
210 215 220

Phe Ala Ala Lys Leu Pro Trp Lys Glu Thr Leu Ser Phe Gly Tyr His
225 230 235 240

Asp Gly Ala Ala Ser Pro Val Val Val Asp Tyr Phe Val Gly Thr Leu
245 250 255

Gly Gln Asp Phe Glu Pro Met Gly Trp Val Tyr Gln Arg Tyr Cys Glu
260 265 270

Glu Met Lys Glu Leu Ser Leu Thr Ile Met Glu Leu Leu Glu Leu Ser
275 280 285

Leu Gly Val Glu Leu Arg Gly Tyr Tyr Arg Glu Phe Phe Glu Asp Ser
290 295 300

Arg Ser Ile Met Arg Cys Asn Tyr Tyr Pro Pro Cys Pro Glu Pro Glu
305 310 315 320

Arg Thr Leu Gly Thr Gly Pro His Cys Asp Pro Thr Ala Leu Thr Ile
325 330 335

Leu Leu Gln Asp Asp Val Gly Gly Leu Glu Val Leu Val Asp Gly Glu
340 345 350

Trp Arg Pro Val Arg Pro Val Pro Gly Ala Met Val Ile Asn Ile Gly
355 360 365

Asp Thr Phe Met Ala Leu Ser Asn Gly Arg Tyr Lys Ser Cys Leu His
370 375 380

Arg Ala Val Val Asn Gln Arg Arg Ala Arg Arg Ser Leu Ala Phe Phe
385 390 395 400

Leu Cys Pro Arg Glu Asp Arg Val Val Arg Pro Pro Ala Ser Ala Ala
405 410 415

Pro Arg Arg Tyr Pro Asp Phe Thr Trp Ala Asp Leu Met Arg Phe Thr
420 425 430

Gln Arg His Tyr Arg Ala Asp Thr Arg Thr Leu Asp Ala Phe Thr Arg
435 440 445

Trp Leu Ser His Gly Pro Ala Gln Ala Ala Ala Pro Pro Cys Thr
450 455 460

<210> 16
<211> 1510
<212> ADN
<213> Zea mays

<400> 16
aaagagcgcg cgacggcggc ccctgggaga gccatgcgag actggaggcg gaaccgcgca 60

cgacaccaag ctgccgcgcc ggactgctgc acgcaagcgc agcgcaggac cgaccgacct 120

ccgtaggcac gcacggcgcc ggcggcatgg cggagcacct cctgtcgacg gccgtgcacg 180

acacgctgcc ggggagctac gtgcggccgg agccggagcg cccgcgcctc gcggaggtcg 240

tgaccggcgc gcgcatcccc gtcgtggacc tgggcagccc cgaccgcggc gcggtcgtgg 300

ccgccgtcgg cgacgcctgc cgctcgcacg gcttcttcca ggtcgtcaac cacgggatac 360

acgccgccct ggtcgcggcg gtgatggccg cggggcgcgg cttcttccgg ctgccccccg 420

aggagaaggc caagctctac tccgacgacc ccgccaggaa gatccggctg tccaccagct 480

tcaacgtgcg caaggagacg gtgcacaact ggcgcgacta cctccgcctg cactgccatc 540

ccctcgacga gttcctgccc gattggccgt ccaacccgcc cgatttcaag gagaccatgg 600

gcacctactg caaggaggtc cgggagctcg ggttcaggct gtacgccgcg atctcggaga 660

gcctgggcct agaggcgagc tacatgaagg aagcgctggg ggagcaggag cagcacatgg 720

cggtcaactt ctacccgccg tgcccggagc cggagctcac ctacggcctc ccggcgcaca 780

ccgaccccaa cgcgctcacc atcctgctca tggacccgga cgtcgccggc ctgcaggtgc 840

tccacgccgg ccagtgggtc gccgtcaacc cgcagcccgg cgcgctcatc atcaacatcg 900

gcgaccagct gcaggcgctg agcaacgggc agtaccggag cgtgtggcac cgcgcggtgg 960

tgaactcgga ccgggagcgc atgtccgtgg cgtcgttcct gtgcccgtgc aaccacgtcg 1020

tgctcggccc cgcgcggaag ctcgtcaccg aggacacccc ggccgtgtac aggaactaca 1080

cgtacgacaa gtactacgcc aagttctgga gcaggaacct ggaccaggag cactgcctcg 1140

agctcttcag aacctagcga atcggatacg gatggatgga tacattacat acgcgccctc 1200

tgtttttctc catgacgtta gaagaacacg ttctgcaatg tttgtccatt caaggtggta 1260

tcaatcaagg ctgtggtcgt tgcaattctt ccgctccata tacatgatta aatgctttga 1320

aagaaaaaga aaaaaaagaa acacaagtat tatggcacta ctagtgtttt taggaacaag 1380

gaaagagggg ttgcccctgc tggctatata tattaaatat aaataaaggt aaggctgtag 1440

acattggtga ataagagaaa gtatttgagt ttctctattg tcactccaga acagactcct 1500

ttgcctcgat 1510

<210> 17
<211> 1011
<212> ADN
<213> Zea mays

<400> 17
atggcggagc acctcctgtc gacggccgtg cacgacacgc tgccggggag ctacgtgcgg 60

ccggagccgg agcgcccgcg cctcgcggag gtcgtgaccg gcgcgcgcat ccccgtcgtg 120

gacctgggca gccccgaccg cggcgcggtc gtggccgccg tcggcgacgc ctgccgctcg 180

cacggcttct tccaggtcgt caaccacggg atacacgccg ccctggtcgc ggcggtgatg 240

gccgcggggc gcggcttctt ccggctgccc cccgaggaga aggccaagct ctactccgac 300

gaccccgcca ggaagatccg gctgtccacc agcttcaacg tgcgcaagga gacggtgcac 360

aactggcgcg actacctccg cctgcactgc catcccctcg acgagttcct gcccgattgg 420

ccgtccaacc cgcccgattt caaggagacc atgggcacct actgcaagga ggtccgggag 480

ctcgggttca ggctgtacgc cgcgatctcg gagagcctgg gcctagaggc gagctacatg 540

aaggaagcgc tgggggagca ggagcagcac atggcggtca acttctaccc gccgtgcccg 600

gagccggagc tcacctacgg cctcccggcg cacaccgacc ccaacgcgct caccatcctg 660

ctcatggacc cggacgtcgc cggcctgcag gtgctccacg ccggccagtg ggtcgccgtc 720

aacccgcagc ccggcgcgct catcatcaac atcggcgacc agctgcaggc gctgagcaac 780

gggcagtacc ggagcgtgtg gcaccgcgcg gtggtgaact cggaccggga gcgcatgtcc 840

gtggcgtcgt tcctgtgccc gtgcaaccac gtcgtgctcg gccccgcgcg gaagctcgtc 900

accgaggaca ccccggccgt gtacaggaac tacacgtacg acaagtacta cgccaagttc 960

tggagcagga acctggacca ggagcactgc ctcgagctct tcagaaccta g 1011

<210> 18
<211> 336
<212> PRT
<213> Zea mays

<400> 18

Met Ala Glu His Leu Leu Ser Thr Ala Val His Asp Thr Leu Pro Gly
1 5 10 15

Ser Tyr Val Arg Pro Glu Pro Glu Arg Pro Arg Leu Ala Glu Val Val
20 25 30

Thr Gly Ala Arg Ile Pro Val Val Asp Leu Gly Ser Pro Asp Arg Gly
35 40 45

Ala Val Val Ala Ala Val Gly Asp Ala Cys Arg Ser His Gly Phe Phe
50 55 60

Gln Val Val Asn His Gly Ile His Ala Ala Leu Val Ala Ala Val Met
65 70 75 80

Ala Ala Gly Arg Gly Phe Phe Arg Leu Pro Pro Glu Glu Lys Ala Lys
85 90 95

Leu Tyr Ser Asp Asp Pro Ala Arg Lys Ile Arg Leu Ser Thr Ser Phe
100 105 110

Asn Val Arg Lys Glu Thr Val His Asn Trp Arg Asp Tyr Leu Arg Leu
115 120 125

His Cys His Pro Leu Asp Glu Phe Leu Pro Asp Trp Pro Ser Asn Pro
130 135 140

Pro Asp Phe Lys Glu Thr Met Gly Thr Tyr Cys Lys Glu Val Arg Glu
145 150 155 160

Leu Gly Phe Arg Leu Tyr Ala Ala Ile Ser Glu Ser Leu Gly Leu Glu
165 170 175

Ala Ser Tyr Met Lys Glu Ala Leu Gly Glu Gln Glu Gln His Met Ala
180 185 190

Val Asn Phe Tyr Pro Pro Cys Pro Glu Pro Glu Leu Thr Tyr Gly Leu
195 200 205

Pro Ala His Thr Asp Pro Asn Ala Leu Thr Ile Leu Leu Met Asp Pro
210 215 220

Asp Val Ala Gly Leu Gln Val Leu His Ala Gly Gln Trp Val Ala Val
225 230 235 240

Asn Pro Gln Pro Gly Ala Leu Ile Ile Asn Ile Gly Asp Gln Leu Gln
245 250 255

Ala Leu Ser Asn Gly Gln Tyr Arg Ser Val Trp His Arg Ala Val Val
260 265 270

Asn Ser Asp Arg Glu Arg Met Ser Val Ala Ser Phe Leu Cys Pro Cys
275 280 285

Asn His Val Val Leu Gly Pro Ala Arg Lys Leu Val Thr Glu Asp Thr
290 295 300

Pro Ala Val Tyr Arg Asn Tyr Thr Tyr Asp Lys Tyr Tyr Ala Lys Phe
305 310 315 320

Trp Ser Arg Asn Leu Asp Gln Glu His Cys Leu Glu Leu Phe Arg Thr
325 330 335

<210> 19
<211> 1387
<212> ADN
<213> Zea mays

<400> 19
gttttctttt tgaacgtaac tgacagaagc tatctgccta gctacggcgt gtcggttgct 60

tgtctcacca aagcagcgac atggaagcct gacagctcgt cgcgtcgcgc catttccacc 120

caacaaagcg gcggcgccag cacgcactgc ttctgcttgt gcgtgctcct ccgttccggg 180

cacgcctcta aagtctatac agcctcgaat ccatcccggc cgccgctcct gggggatact 240

acagcgagcc gaagcgggga tggcggagat ccctgtgatc gacctgcgcg tcgccggctc 300

ggcggccgag gagtccgcgc ggctgcgggc cgcgtgcgag cgcctgggct gcttccgggt 360

gaccggccac ggcgtgccct cggtgctcct ggcagagatg aaggccgccg tgcgcgcgct 420

cttcgacctc cccgacgacg ccaagcgccg caacgccgac gtcatcaccg gcagcggcta 480

cgtcgccccc agcccgacca acccgctcta cgaggccttc gggctcctcg acgccgccgt 540

gcccaccgac gtcgacgcct tttgcgcgct cctcgacgcg ccgcccaaca tcagggagac 600

cgtcaaggcc tacgcggaga agatgcacga tgtgatcgtt ggcgtcgccc gcgagctggc 660

gtctagcctg gggctagtcg aggagcactc gttccaggac tggccgtgcc agttccgcat 720

caacaggtac aactacacgc gggagacggt gggctcctcc ggcgtgcaga cccacacgga 780

ctcgggcttc ctcaccgtgc tccatgagga cgagtgtgtc ggcggcctcg aggtcctgga 840

cccgggcacc ggcgagttcg tgcccgtgga ccccgtcgcg ggctcctttc tcgtaaacat 900

cggcgacgtc ggcacggcgt ggagcaacgg gaggctgcac aacgtgaagc accgggtgcg 960

gtgcgtcgca cccgtgccgc gcatctccat cgccatgttc ctgctcgcac ccaaggacga 1020

cagcgtgagc gcaccggcgg cgttcgtgga cgcggaccac ccgcgcaggt acaaggtgtt 1080

caactacaac gactatcgga ggctcagact gtccaccggc gagcacgcag gcgaggcgct 1140

cgcacggatg gcggcgtgac gtggctggag ctgcaaattg gattggaagc cgagacaagc 1200

cgttagttat ttaccatgcc cgtgcgttca ccgcacacaa tcatattcaa aagccataaa 1260

ataaaaaata attttaatat cagtcaacat atggtttaaa tatcatatgg agtacaatat 1320

tccgaatttt tttttgtaat ttagtctgtc ttttgaaaaa aatgcacatc tagacctccg 1380

gatgact 1387

<210> 20
<211> 900
<212> ADN
<213> Zea mays

<400> 20
atggcggaga tccctgtgat cgacctgcgc gtcgccggct cggcggccga ggagtccgcg 60

cggctgcggg ccgcgtgcga gcgcctgggc tgcttccggg tgaccggcca cggcgtgccc 120

tcggtgctcc tggcagagat gaaggccgcc gtgcgcgcgc tcttcgacct ccccgacgac 180

gccaagcgcc gcaacgccga cgtcatcacc ggcagcggct acgtcgcccc cagcccgacc 240

aacccgctct acgaggcctt cgggctcctc gacgccgccg tgcccaccga cgtcgacgcc 300

ttttgcgcgc tcctcgacgc gccgcccaac atcagggaga ccgtcaaggc ctacgcggag 360

aagatgcacg atgtgatcgt tggcgtcgcc cgcgagctgg cgtctagcct ggggctagtc 420

gaggagcact cgttccagga ctggccgtgc cagttccgca tcaacaggta caactacacg 480

cgggagacgg tgggctcctc cggcgtgcag acccacacgg actcgggctt cctcaccgtg 540

ctccatgagg acgagtgtgt cggcggcctc gaggtcctgg acccgggcac cggcgagttc 600

gtgcccgtgg accccgtcgc gggctccttt ctcgtaaaca tcggcgacgt cggcacggcg 660

tggagcaacg ggaggctgca caacgtgaag caccgggtgc ggtgcgtcgc acccgtgccg 720

cgcatctcca tcgccatgtt cctgctcgca cccaaggacg acagcgtgag cgcaccggcg 780

gcgttcgtgg acgcggacca cccgcgcagg tacaaggtgt tcaactacaa cgactatcgg 840

aggctcagac tgtccaccgg cgagcacgca ggcgaggcgc tcgcacggat ggcggcgtga 900

<210> 21
<211> 299
<212> PRT
<213> Zea mays

<400> 21

Met Ala Glu Ile Pro Val Ile Asp Leu Arg Val Ala Gly Ser Ala Ala
1 5 10 15

Glu Glu Ser Ala Arg Leu Arg Ala Ala Cys Glu Arg Leu Gly Cys Phe
20 25 30

Arg Val Thr Gly His Gly Val Pro Ser Val Leu Leu Ala Glu Met Lys
35 40 45

Ala Ala Val Arg Ala Leu Phe Asp Leu Pro Asp Asp Ala Lys Arg Arg
50 55 60

Asn Ala Asp Val Ile Thr Gly Ser Gly Tyr Val Ala Pro Ser Pro Thr
65 70 75 80

Asn Pro Leu Tyr Glu Ala Phe Gly Leu Leu Asp Ala Ala Val Pro Thr
85 90 95

Asp Val Asp Ala Phe Cys Ala Leu Leu Asp Ala Pro Pro Asn Ile Arg
100 105 110

Glu Thr Val Lys Ala Tyr Ala Glu Lys Met His Asp Val Ile Val Gly
115 120 125

Val Ala Arg Glu Leu Ala Ser Ser Leu Gly Leu Val Glu Glu His Ser
130 135 140

Phe Gln Asp Trp Pro Cys Gln Phe Arg Ile Asn Arg Tyr Asn Tyr Thr
145 150 155 160

Arg Glu Thr Val Gly Ser Ser Gly Val Gln Thr His Thr Asp Ser Gly
165 170 175

Phe Leu Thr Val Leu His Glu Asp Glu Cys Val Gly Gly Leu Glu Val
180 185 190

Leu Asp Pro Gly Thr Gly Glu Phe Val Pro Val Asp Pro Val Ala Gly
195 200 205

Ser Phe Leu Val Asn Ile Gly Asp Val Gly Thr Ala Trp Ser Asn Gly
210 215 220

Arg Leu His Asn Val Lys His Arg Val Arg Cys Val Ala Pro Val Pro

225 230 235 240

Arg Ile Ser Ile Ala Met Phe Leu Leu Ala Pro Lys Asp Asp Ser Val
245 250 255

Ser Ala Pro Ala Ala Phe Val Asp Ala Asp His Pro Arg Arg Tyr Lys
260 265 270

Val Phe Asn Tyr Asn Asp Tyr Arg Arg Leu Arg Leu Ser Thr Gly Glu
275 280 285

His Ala Gly Glu Ala Leu Ala Arg Met Ala Ala
290 295

<210> 22
<211> 1496
<212> ADN
<213> Zea mays

<400> 22
gtcggtctct tgtctcacca aaccggcgac atggtacatg gaggccagcc cgtcgcttgg 60

cgccacaagt ctcggtgccg tccgtccgac aagcggcgcc agcgcacgct ggctgctcgt 120

gcacgcctct aaatacggcc ccggacccgc caccaagcga aggccaatcc cgtccgccgc 180

cccccaccaa ccacgaacca cgcaagcgaa cccggccggc gcggggcagc ggcgatggcg 240

gagatcccgg tgatcgacct gcgcctcgcc ggctcgtcgc ccgacgagtc ggcgcggctg 300

cgcgacgcgt gcgagcgcct gggctgcttt cgggtgaccg gccacggcgc gcccgcgggg 360

ctcctggccg acatgaaggc cgccgtgcgc gcgctcttcg acctccccga cgacgccaag 420

cgccgcaacg ccgacgtcat ccccggcagc ggctacgtcg cgccctgccc cgccaacccg 480

ctctacgagg ccttcgggct cctcgacgcc gccgcgcccg ccgacgtcga cgccttctgc 540

gcgcgcctcg acgcgccgcc caaagtcagg gagaccgtca agacctacgc ggagaagatg 600

cacgacgtga tcgtcggcgt cgccggcgag ctggccacca gcctggggct gggcctggag 660

gagcactcgt tccaggactg gccgtgccag ttccgcatca acaggtacaa ctacacgcag 720

gagacggtgg gctcctccgg cgtgcagacc cacacggact cgggcttcct caccgtgctc 780

caggaggacg agtgcgtcgg cggcctcgag gtgctggacc ccgccgccgg tgagttcgtg 840

cccgtggacc ccgtcgccgg ctccttcctc gtcaacatcg gcgacgtcgg cacggcgtgg 900

agcaacggga ggctccacaa cgtgaagcac cgggtgcggt gcgtcgcgcc cgtgccgcgc 960

atctccatcg ccatgttcct gctggcgccc aaggacgacc gcgtgagcgc cccggaggcg 1020

ttggtcgacg cgggccaccc gcgtcggtac aagccgttca actacgacga ctaccggagg 1080

ctccggctgt ccaccggcga gcgcgcaggc gaggcgctcg cgcggatggc ggcgtgatgt 1140

cgtcacgcac gtgcaagccg ttaattatag gctcgcgcat gcatacgcct acacgagagg 1200

ttgtctcgtt aagccgttct attaaaatgt gtgggggaga aagatgacta ccgtggtgcc 1260

atgtggattg ctatcgggtc tgatcaataa aatcttgcaa cacttgcacg tgcgattcca 1320

tatcctagca cgggtgggcg ccacgctagt aggtagagac cggagcggcc aaaaaatggc 1380

tacagcacca gtaggtgaac tctcaagcaa cactggctat cccacttctg acgttgtctc 1440

tctcatcact atgtatgacc agcgaatgaa gtgtttaaaa atctgacgcc gtgaaa 1496

<210> 23
<211> 903
<212> ADN
<213> Zea mays

<400> 23
atggcggaga tcccggtgat cgacctgcgc ctcgccggct cgtcgcccga cgagtcggcg 60

cggctgcgcg acgcgtgcga gcgcctgggc tgctttcggg tgaccggcca cggcgcgccc 120

gcggggctcc tggccgacat gaaggccgcc gtgcgcgcgc tcttcgacct ccccgacgac 180

gccaagcgcc gcaacgccga cgtcatcccc ggcagcggct acgtcgcgcc ctgccccgcc 240

aacccgctct acgaggcctt cgggctcctc gacgccgccg cgcccgccga cgtcgacgcc 300

ttctgcgcgc gcctcgacgc gccgcccaaa gtcagggaga ccgtcaagac ctacgcggag 360

aagatgcacg acgtgatcgt cggcgtcgcc ggcgagctgg ccaccagcct ggggctgggc 420

ctggaggagc actcgttcca ggactggccg tgccagttcc gcatcaacag gtacaactac 480

acgcaggaga cggtgggctc ctccggcgtg cagacccaca cggactcggg cttcctcacc 540

gtgctccagg aggacgagtg cgtcggcggc ctcgaggtgc tggaccccgc cgccggtgag 600

ttcgtgcccg tggaccccgt cgccggctcc ttcctcgtca acatcggcga cgtcggcacg 660

gcgtggagca acgggaggct ccacaacgtg aagcaccggg tgcggtgcgt cgcgcccgtg 720

ccgcgcatct ccatcgccat gttcctgctg gcgcccaagg acgaccgcgt gagcgccccg 780

gaggcgttgg tcgacgcggg ccacccgcgt cggtacaagc cgttcaacta cgacgactac 840

cggaggctcc ggctgtccac cggcgagcgc gcaggcgagg cgctcgcgcg gatggcggcg 900

tga 903

<210> 24
<211> 300
<212> PRT
<213> Zea mays

<400> 24

Met Ala Glu Ile Pro Val Ile Asp Leu Arg Leu Ala Gly Ser Ser Pro
1 5 10 15

Asp Glu Ser Ala Arg Leu Arg Asp Ala Cys Glu Arg Leu Gly Cys Phe
20 25 30

Arg Val Thr Gly His Gly Ala Pro Ala Gly Leu Leu Ala Asp Met Lys
35 40 45

Ala Ala Val Arg Ala Leu Phe Asp Leu Pro Asp Asp Ala Lys Arg Arg
50 55 60

Asn Ala Asp Val Ile Pro Gly Ser Gly Tyr Val Ala Pro Cys Pro Ala
65 70 75 80

Asn Pro Leu Tyr Glu Ala Phe Gly Leu Leu Asp Ala Ala Ala Pro Ala
85 90 95

Asp Val Asp Ala Phe Cys Ala Arg Leu Asp Ala Pro Pro Lys Val Arg
100 105 110

Glu Thr Val Lys Thr Tyr Ala Glu Lys Met His Asp Val Ile Val Gly
115 120 125

Val Ala Gly Glu Leu Ala Thr Ser Leu Gly Leu Gly Leu Glu Glu His
130 135 140

Ser Phe Gln Asp Trp Pro Cys Gln Phe Arg Ile Asn Arg Tyr Asn Tyr
145 150 155 160

Thr Gln Glu Thr Val Gly Ser Ser Gly Val Gln Thr His Thr Asp Ser
165 170 175

Gly Phe Leu Thr Val Leu Gln Glu Asp Glu Cys Val Gly Gly Leu Glu
180 185 190

Val Leu Asp Pro Ala Ala Gly Glu Phe Val Pro Val Asp Pro Val Ala
195 200 205

Gly Ser Phe Leu Val Asn Ile Gly Asp Val Gly Thr Ala Trp Ser Asn
210 215 220

Gly Arg Leu His Asn Val Lys His Arg Val Arg Cys Val Ala Pro Val
225 230 235 240

Pro Arg Ile Ser Ile Ala Met Phe Leu Leu Ala Pro Lys Asp Asp Arg
245 250 255

Val Ser Ala Pro Glu Ala Leu Val Asp Ala Gly His Pro Arg Arg Tyr
260 265 270

Lys Pro Phe Asn Tyr Asp Asp Tyr Arg Arg Leu Arg Leu Ser Thr Gly
275 280 285

Glu Arg Ala Gly Glu Ala Leu Ala Arg Met Ala Ala
290 295 300

<210> 25
<211> 1614
<212> ADN
<213> Zea mays

<400> 25
accacacgaa ttgcacatct ccacagctca cgattccaac actagctaca tatatatgta 60

gctttctagg ctactatata cactcaccac caagtgtgaa gtgtgtatat atagtgacag 120

ctactgcaat atatacatac gcgtcaccta tatattagcc aagctagcta tatgagcttg 180

gttgcggcgc caatggcgat cgtcgacgtg gccaacgccc agctgcagca agcagcagca 240

gcagctgcca agaaagacga ggacggccat gagcagcagg agtcgtccta cgactacggc 300

gcgctgatga aaggcgtgag gcacctgtcg gacagcggca ttaccaggct gcccgacagg 360

tacgtcctgc ccgcgtccga ccgccccggc gtccttgccg tctcgtcgtc cgtggcgggc 420

agcggcaggg tcaagctccc tgtcgtcaac ctcgccggcc tccgcgaccc ctgccagcgc 480

gccgccgtgc tggccacgct cgacgccgcg tgccgggagt acggcttctt tcaggtggta 540

aaccacgggt tcgggagcga cgtgagcggc gggatgctgg acgtggcgca gcgcttcttc 600

gagctgccgc tggccgagcg agcgcggcac atgtcggcgg acgtgcgggc gccggtgcgc 660

tacggcacca gcttcaacca ggccaaggac gacgtgctct gctggcgcga cttcctcaag 720

ctcgtctgcc agccgctgca ggcggtgctc ccgtactggc cccagcagcc ggcggacctc 780

agggacgtgg ccaccaggta cgccacggcg agccaccggc tgttcatgga ggtcatggag 840

gcggcgctgg aggccctggg catccccacg gccggcggcg tgctcgggga gctggcagcg 900

tcgtcgtcgc acatgatgac ggtgaactgc tacccggcgt gcccgcagcc tgagctcacg 960

ctggggatgc cctcgcactc ggactacggc ctcttcacgt tcgtcctgca ggaccacgtc 1020

gagggcctcc aggtcatgca cgacggccgc tggctcacca tcgaccccat cccgggatcg 1080

ttcgtcgtca acgtcggcga ccacctagag atctacagca acgggcggta caagagcgcg 1140

ctgcaccggg tgcacgtgaa ctccacgcgg ccgcgcatct cggtggcgtc gttccacagc 1200

ctgccggcgg agcgagtgat cgggccggcg ccggagctgg tggacgacga ggccggcaac 1260

ccgcggcggt acatggacac cgacttcgct accttcctcg cctacctcgc atccgcggac 1320

ggcaagaaca agaccttcct ccagtcaagg aagctgcctg ctgctgctcc tccatgcctc 1380

tagctaacta gatagctgct tattaatctg acagaataaa attaatcagt tcagcgcaca 1440

attccacaag cgaaaacaaa cctggatttg ttttaattag ctctgccctt cattattaca 1500

ttcaagctag ctcttggtca acgcatgcac acaagcttga gcattgactg gtccctttc 1560

aatcggttgc attgtactcc ctccgtacca aaattggttg tcgctatagt attt 1614

<210> 26
<211> 1212
<212> ADN
<213> Zea mays

<400> 26
atgagcttgg ttgcggcgcc aatggcgatc gtcgacgtgg ccaacgccca gctgcagcaa 60

gcagcagcag cagctgccaa gaaagacgag gacggccatg agcagcagga gtcgtcctac 120

gactacggcg cgctgatgaa aggcgtgagg cacctgtcgg acagcggcat taccaggctg 180

cccgacaggt acgtcctgcc cgcgtccgac cgccccggcg tccttgccgt ctcgtcgtcc 240

gtggcgggca gcggcagggt caagctccct gtcgtcaacc tcgccggcct ccgcgacccc 300

tgccagcgcg ccgccgtgct ggccacgctc gacgccgcgt gccgggagta cggcttcttt 360

caggtggtaa accacgggtt cgggagcgac gtgagcggcg ggatgctgga cgtggcgcag 420

cgcttcttcg agctgccgct ggccgagcga gcgcggcaca tgtcggcgga cgtgcgggcg 480

ccggtgcgct acggcaccag cttcaaccag gccaaggacg acgtgctctg ctggcgcgac 540

ttcctcaagc tcgtctgcca gccgctgcag gcggtgctcc cgtactggcc ccagcagccg 600

gcggacctca gggacgtggc caccaggtac gccacggcga gccaccggct gttcatggag 660

gtcatggagg cggcgctgga ggccctgggc atccccacgg ccggcggcgt gctcggggag 720

ctggcagcgt cgtcgtcgca catgatgacg gtgaactgct acccggcgtg cccgcagcct 780

gagctcacgc tggggatgcc ctcgcactcg gactacggcc tcttcacgtt cgtcctgcag 840

gaccacgtcg agggcctcca ggtcatgcac gacggccgct ggctcaccat cgaccccatc 900

ccgggatcgt tcgtcgtcaa cgtcggcgac cacctagaga tctacagcaa cgggcggtac 960

aagagcgcgc tgcaccgggt gcacgtgaac tccacgcggc cgcgcatctc ggtggcgtcg 1020

ttccacagcc tgccggcgga gcgagtgatc gggccggcgc cggagctggt ggacgacgag 1080

gccggcaacc cgcggcggta catggacacc gacttcgcta ccttcctcgc ctacctcgca 1140

tccgcggacg gcaagaacaa gaccttcctc cagtcaagga agctgcctgc tgctgctcct 1200

ccatgcctct ag 1212

<210> 27
<211> 403
<212> PRT
<213> Zea mays

<400> 27

Met Ser Leu Val Ala Ala Pro Met Ala Ile Val Asp Val Ala Asn Ala
1 5 10 15

Gln Leu Gln Gln Ala Ala Ala Ala Ala Ala Lys Lys Asp Glu Asp Gly
20 25 30

His Glu Gln Gln Glu Ser Ser Tyr Asp Tyr Gly Ala Leu Met Lys Gly
35 40 45

Val Arg His Leu Ser Asp Ser Gly Ile Thr Arg Leu Pro Asp Arg Tyr
50 55 60

Val Leu Pro Ala Ser Asp Arg Pro Gly Val Leu Ala Val Ser Ser Ser
65 70 75 80

Val Ala Gly Ser Gly Arg Val Lys Leu Pro Val Val Asn Leu Ala Gly
85 90 95

Leu Arg Asp Pro Cys Gln Arg Ala Ala Val Leu Ala Thr Leu Asp Ala
100 105 110

Ala Cys Arg Glu Tyr Gly Phe Phe Gln Val Val Asn His Gly Phe Gly
115 120 125

Ser Asp Val Ser Gly Gly Met Leu Asp Val Ala Gln Arg Phe Phe Glu
130 135 140

Leu Pro Leu Ala Glu Arg Ala Arg His Met Ser Ala Asp Val Arg Ala
145 150 155 160

Pro Val Arg Tyr Gly Thr Ser Phe Asn Gln Ala Lys Asp Asp Val Leu
165 170 175

Cys Trp Arg Asp Phe Leu Lys Leu Val Cys Gln Pro Leu Gln Ala Val

```
            180                 185                 190

Leu Pro Tyr Trp Pro Gln Gln Pro Ala Asp Leu Arg Asp Val Ala Thr
        195                 200                 205

Arg Tyr Ala Thr Ala Ser His Arg Leu Phe Met Glu Val Met Glu Ala
    210                 215                 220

Ala Leu Glu Ala Leu Gly Ile Pro Thr Ala Gly Gly Val Leu Gly Glu
225                 230                 235                 240

Leu Ala Ala Ser Ser Ser His Met Met Thr Val Asn Cys Tyr Pro Ala
                245                 250                 255

Cys Pro Gln Pro Glu Leu Thr Leu Gly Met Pro Ser His Ser Asp Tyr
            260                 265                 270

Gly Leu Phe Thr Phe Val Leu Gln Asp His Val Glu Gly Leu Gln Val
        275                 280                 285

Met His Asp Gly Arg Trp Leu Thr Ile Asp Pro Ile Pro Gly Ser Phe
    290                 295                 300

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

Lys Ser Ala Leu His Arg Val His Val Asn Ser Thr Arg Pro Arg Ile
                325                 330                 335

Ser Val Ala Ser Phe His Ser Leu Pro Ala Glu Arg Val Ile Gly Pro
            340                 345                 350

Ala Pro Glu Leu Val Asp Asp Glu Ala Gly Asn Pro Arg Arg Tyr Met
        355                 360                 365

Asp Thr Asp Phe Ala Thr Phe Leu Ala Tyr Leu Ala Ser Ala Asp Gly
    370                 375                 380

Lys Asn Lys Thr Phe Leu Gln Ser Arg Lys Leu Pro Ala Ala Ala Pro
385                 390                 395                 400

Pro Cys Leu
```

<210> 28

<211> 1863
<212> ADN
<213> Zea mays

<400> 28
tgccaccata ccactagtgc aaggtcctag atttacactt ggtgctacac cttgcttcgc 60

cccttcctt ccttccttcc ttccttccct ccttccttgg tctctaggca gctagcagtg 120

tggtgctgct gccggccgcc tattggccgc ctgggactgg gatccattaa ttactgcgcg 180

cgcgcggcta accaaccaat cccagcgtgc gtaatctatt gcccacatgc cgacgccgtc 240

gcacctcaac aagaacccgc gctacctgga cttccgggcg gcgcggcggg tgccggagtc 300

gcacgcctgg ccgggcctgc acgaccaccc cgtcgtggac ggcggcgcgc cgggccccga 360

cgccgtgccg gtggtggacc tgggcgccgc ggacccggcg ccggcgccgg cggcggcggt 420

ggcccgcgcc gccgagcaat ggggcgcgtt cctgctcacg ggccacggcg tccccgcgga 480

cctgctggcg cgcgtggagg accggatcgc caccatgttc gcgctgccgg ccgacgacaa 540

gatgcgcgcc gtgcgcgggc ccggcgacgc ctgcggctac ggctccccgc ccatctcctc 600

cttcttctcc aagtgcatgt ggtccgaggg ctacaccttc tcgccggcct ccctccgcgc 660

cgacctccgc aagctctggc ccaaggccgg cgacgactac accagcttct gtgatgtgat 720

ggaggagttc cacaagcaca tgcgcgccct cgcggacaag ctgctggagc tgttcctcat 780

ggcgctgggg ctcaccgacg agcaggccag cgccgtcgag gccgagcgga ggatcgccga 840

gacgatgacc gccaccatgc atctcaactg gtacccgagg tgcccggacc cgcggcgcgc 900

gctggggctg atcgcgcaca ccgactcggg cttcttcacc ttcgtgatgc agagcctcgt 960

gcccgggctg cagctcttcc gccacgcccc ggaccggtgg gtggcggtgc cggccgtgcc 1020

gggcgccttc gtcgtcaacg tgggcgacct cttccacatc ctcaccaacg gccggttcca 1080

cagcgtgtac caccgcgccg tcgtgaaccg ggacctcgac aggatctcgc tcggctactt 1140

cctcggcccg ccgccgcacg ccaaggtggc gccgctgcgc gaggccgtgc cgcccggccg 1200

ggcccccgcg taccgcgccg tcacgtggcc cgagtacatg ggcgtccgca agaaggcctt 1260

caccaccggc gcctccgcgc tcaagatggt cgccctcgcc gccgccgccg acctcgacga 1320

cgacggcgac gccgccgtcg tccatcagca gcagcagcta gtcgtctcgt cgtagccgag 1380

accgatcgcc ggagactgat gctgatgatg atgcatatat acatgagaga aatcgtcgag 1440

tagactagcc gattgcaaaa gcaaccccag ctgccgaaac ctggcatatc gatcccattc 1500

tctgctgcgc acatgtatgc atgcatgcgc ttcgtccgtt cgactcgtgt gtgcttgctt 1560

gcttgcgcgt gcagcagaac taattccgtt ccgcagctag ctgctctgct ctgctctgct 1620

ggaatgtaat taagtagtag tatatggtag tagagaaaag attagctagg cgatcgatat 1680

agatgacggg ccggggaaga agacgaatta attaagatcg atcgacgacg acgagctgtg 1740

cgtggctggc tgtgttcttc tctagcctag ttacagaggc cggctgctgc tgcttccaat 1800

cgggctgctt gtcgctactg acgatcgtta gtggatccat taactaatct ggaattctgg 1860

att 1863

<210> 29
<211> 1149
<212> ADN
<213> Zea mays

<400> 29
atgccgacgc cgtcgcacct caacaagaac ccgcgctacc tggacttccg ggcggcgcgg 60

cgggtgccgg agtcgcacgc ctggccgggc ctgcacgacc accccgtcgt ggacggcggc 120

gcgccgggcc ccgacgccgt gccggtggtg gacctgggcg ccgcggaccc ggcgccggcg 180

ccggcggcgg cggtggcccg cgccgccgag caatggggcg cgttcctgct cacgggccac 240

ggcgtccccg cggacctgct ggcgcgcgtg gaggaccgga tcgccaccat gttcgcgctg 300

ccggccgacg acaagatgcg cgccgtgcgc gggcccggcg acgcctgcgg ctacggctcc 360

ccgcccatct cctccttctt ctccaagtgc atgtggtccg agggctacac cttctcgccg 420

gcctccctcc gcgccgacct ccgcaagctc tggcccaagg ccggcgacga ctacaccagc 480

ttctgtgatg tgatggagga gttccacaag cacatgcgcg ccctcgcgga caagctgctg 540

gagctgttcc tcatggcgct ggggctcacc gacgagcagg ccagcgccgt cgaggccgag 600

cggaggatcg ccgagacgat gaccgccacc atgcatctca actggtaccc gaggtgcccg 660

gacccgcggc gcgcgctggg gctgatcgcg cacaccgact cgggcttctt caccttcgtg 720

atgcagagcc tcgtgcccgg gctgcagctc ttccgccacg ccccggaccg gtgggtggcg 780

gtgccggccg tgccgggcgc cttcgtcgtc aacgtgggcg acctcttcca catcctcacc 840

aacggccggt tccacagcgt gtaccaccgc gccgtcgtga accgggacct cgacaggatc 900

tcgctcggct acttcctcgg cccgccgccg cacgccaagg tggcgccgct gcgcgaggcc 960

gtgccgcccg gccgggcccc cgcgtaccgc gccgtcacgt ggcccgagta catgggcgtc 1020

cgcaagaagg ccttcaccac cggcgcctcc gcgctcaaga tggtcgccct cgccgccgcc 1080

gccgacctcg acgacgacgg cgacgccgcc gtcgtccatc agcagcagca gctagtcgtc 1140

tcgtcgtag 1149

<210> 30
<211> 382
<212> PRT

<213> Zea mays

<400> 30

Met Pro Thr Pro Ser His Leu Asn Lys Asn Pro Arg Tyr Leu Asp Phe
1 5 10 15

Arg Ala Ala Arg Arg Val Pro Glu Ser His Ala Trp Pro Gly Leu His
20 25 30

Asp His Pro Val Val Asp Gly Gly Ala Pro Gly Pro Asp Ala Val Pro
35 40 45

Val Val Asp Leu Gly Ala Ala Asp Pro Ala Pro Ala Pro Ala Ala Ala
50 55 60

Val Ala Arg Ala Ala Glu Gln Trp Gly Ala Phe Leu Leu Thr Gly His
65 70 75 80

Gly Val Pro Ala Asp Leu Leu Ala Arg Val Glu Asp Arg Ile Ala Thr
85 90 95

Met Phe Ala Leu Pro Ala Asp Asp Lys Met Arg Ala Val Arg Gly Pro
100 105 110

Gly Asp Ala Cys Gly Tyr Gly Ser Pro Pro Ile Ser Ser Phe Phe Ser
115 120 125

Lys Cys Met Trp Ser Glu Gly Tyr Thr Phe Ser Pro Ala Ser Leu Arg
130 135 140

Ala Asp Leu Arg Lys Leu Trp Pro Lys Ala Gly Asp Asp Tyr Thr Ser
145 150 155 160

Phe Cys Asp Val Met Glu Glu Phe His Lys His Met Arg Ala Leu Ala
165 170 175

Asp Lys Leu Leu Glu Leu Phe Leu Met Ala Leu Gly Leu Thr Asp Glu
180 185 190

Gln Ala Ser Ala Val Glu Ala Glu Arg Arg Ile Ala Glu Thr Met Thr
195 200 205

Ala Thr Met His Leu Asn Trp Tyr Pro Arg Cys Pro Asp Pro Arg Arg
210 215 220

Ala Leu Gly Leu Ile Ala His Thr Asp Ser Gly Phe Phe Thr Phe Val
225 230 235 240

Met Gln Ser Leu Val Pro Gly Leu Gln Leu Phe Arg His Ala Pro Asp
245 250 255

Arg Trp Val Ala Val Pro Ala Val Pro Gly Ala Phe Val Val Asn Val
260 265 270

Gly Asp Leu Phe His Ile Leu Thr Asn Gly Arg Phe His Ser Val Tyr
275 280 285

His Arg Ala Val Val Asn Arg Asp Leu Asp Arg Ile Ser Leu Gly Tyr
290 295 300

Phe Leu Gly Pro Pro Pro His Ala Lys Val Ala Pro Leu Arg Glu Ala
305 310 315 320

Val Pro Pro Gly Arg Ala Pro Ala Tyr Arg Ala Val Thr Trp Pro Glu
325 330 335

Tyr Met Gly Val Arg Lys Lys Ala Phe Thr Thr Gly Ala Ser Ala Leu
340 345 350

Lys Met Val Ala Leu Ala Ala Ala Ala Asp Leu Asp Asp Asp Gly Asp
355 360 365

Ala Ala Val Val His Gln Gln Gln Leu Val Val Ser Ser
370 375 380

<210> 31
<211> 1439
<212> ADN
<213> Zea mays

<400> 31
gacctccatt ttgattatct ctatcctgta cgtgccgaga gtccttcaaa gccgacgacg 60

agacgacgat gcagtcgtcg tcgtcatcag cctcgacgcc ggctgccgct tccggcctcg 120

tcttcgatct cgggtctgcg gcgggcgtgc cggagacaca cgcgtggccg ggggtgaacg 180

agtacccgtc ggtggagtcc gctggccgcg acgtggtccc ggtggtggac atgggggtgg 240

cctgcccgga cgcgacgcgg gcgttggcgc gcgccgcaga cgagtggggc gtgtttctgc 300

tcgtcggcca cggcgtgccc cgggaagtgg cggcgcgtgc cgaggagcag gtcgcgcgcc 360

tgttcgtgct cccggctcct gacaaggccc gcgcggggcg ccgccccggg gagcccacgg 420

ccaccggcta cggcaggccg cccctggcac tccgcttctc caagctcatg tggtccgagg 480

ggtacacgtt ccgcgccgcc accgtccgcg aagagttccg ccgcgtctgg cccgacggcg 540

gcgacgacta cctccgcttc tgcgacgtga tggaggagta cgacagagag atgagggctc 600

tcggtggcag gctgctcgac ctcttcttca tggcgctcgg cctcaccgac gtccagttcg 660

ccaccggcga gacggagcgg aggatccgcg agacctggac ggcgacgatg cacccaatcc 720

tgtgtccgga accggagcgc gccatcgggc tgacggcgca cacggactcg ggcttcatca 780

cgctcatcat gcagagcccc gtgcccgggc tgcagctgct ccgccgcggg ccggaccggt 840

gggtgacggt gccggcgccg ccgggcgcgc tcatcgtcat gctcggcgac ctgttccagg 900

tgctcacgaa cggccgcttc cggagcccta tccaccgcgc cgtcgtaagc cgagagcgcg 960

agcggatctc cgtgccctac ttcctctgcc cgccggagga catgacggtg gcgccgctcg 1020

cgtccgctct gctgccgggg aggaaggccg tgttccgggc cgtgacgtgg ccagagtaca 1080

tggaggtcaa gcacaaggtg ttcggcacgg atgcgccggc cctggagatg ctgcagctgc 1140

aggtggatga ggaagaacaa ggtgaaaggg ccgccaccac ctaagcccta aggaactact 1200

agctgaatcc ataaactaat aaagaattcg tgaataaggg cgttggaaga ctggacacaa 1260

cacaagagag ttgctatata tcgtatttct gaaatttaag gcaaatatct tagttaaaaa 1320

actggtatat ttaaatagac aatatatatc taaaataaag atagttcacc atttttacgg 1380

tcgaacaatg ataaagttat atattgtctg aatagtaaca aattaaagat ttccaggag 1439

<210> 32
<211> 1116
<212> ADN
<213> Zea mays

<400> 32
atgcagtcgt cgtcgtcatc agcctcgacg ccggctgccg cttccggcct cgtcttcgat 60

ctcgggtctg cggcgggcgt gccggagaca cacgcgtggc cgggggtgaa cgagtacccg 120

tcggtggagt ccgctggccg cgacgtggtc ccggtggtgg acatgggggt ggcctgcccg 180

gacgcgacgc gggcgttggc gcgcgccgca gacgagtggg gcgtgtttct gctcgtcggc 240

cacggcgtgc cccgggaagt ggcggcgcgt gccgaggagc aggtcgcgcg cctgttcgtg 300

ctcccggctc ctgacaaggc ccgcgcgggg cgccgccccg gggagcccac ggccaccggc 360

tacggcaggc cgcccctggc actccgcttc tccaagctca tgtggtccga ggggtacacg 420

ttccgcgccg ccaccgtccg cgaagagttc cgccgcgtct ggcccgacgg cggcgacgac 480

tacctccgct tctgcgacgt gatggaggag tacgacagag agatgagggc tctcggtggc 540

aggctgctcg acctcttctt catggcgctc ggcctcaccg acgtccagtt cgccaccggc 600

gagacggagc ggaggatccg cgagacctgg acggcgacga tgcacccaat cctgtgtccg 660

gaaccggagc gcgccatcgg gctgacggcg cacacggact cgggcttcat cacgctcatc 720

atgcagagcc ccgtgcccgg gctgcagctg ctccgccgcg ggccggaccg gtgggtgacg 780

gtgccggcgc cgccgggcgc gctcatcgtc atgctcggcg acctgttcca ggtgctcacg 840

aacggccgct tccggagccc tatccaccgc gccgtcgtaa gccgagagcg cgagcggatc 900

tccgtgccct acttcctctg cccgccggag gacatgacgg tggcgccgct cgcgtccgct 960

ctgctgccgg ggaggaaggc cgtgttccgg gccgtgacgt ggccagagta catggaggtc 1020

aagcacaagg tgttcggcac ggatgcgccg gccctggaga tgctgcagct gcaggtggat 1080

gaggaagaac aaggtgaaag ggccgccacc acctaa 1116

<210> 33
<211> 371
<212> PRT
<213> Zea mays

<400> 33

Met Gln Ser Ser Ser Ser Ser Ala Ser Thr Pro Ala Ala Ala Ser Gly
1 5 10 15

Leu Val Phe Asp Leu Gly Ser Ala Ala Gly Val Pro Glu Thr His Ala
20 25 30

Trp Pro Gly Val Asn Glu Tyr Pro Ser Val Glu Ser Ala Gly Arg Asp
35 40 45

Val Val Pro Val Val Asp Met Gly Val Ala Cys Pro Asp Ala Thr Arg
50 55 60

Ala Leu Ala Arg Ala Ala Asp Glu Trp Gly Val Phe Leu Leu Val Gly
65 70 75 80

His Gly Val Pro Arg Glu Val Ala Ala Arg Ala Glu Glu Gln Val Ala
85 90 95

Arg Leu Phe Val Leu Pro Ala Pro Asp Lys Ala Arg Ala Gly Arg Arg
100 105 110

Pro Gly Glu Pro Thr Ala Thr Gly Tyr Gly Arg Pro Pro Leu Ala Leu
115 120 125

Arg Phe Ser Lys Leu Met Trp Ser Glu Gly Tyr Thr Phe Arg Ala Ala

130 135 140

Thr Val Arg Glu Glu Phe Arg Arg Val Trp Pro Asp Gly Gly Asp Asp
145 150 155 160

Tyr Leu Arg Phe Cys Asp Val Met Glu Glu Tyr Asp Arg Glu Met Arg
165 170 175

Ala Leu Gly Gly Arg Leu Leu Asp Leu Phe Phe Met Ala Leu Gly Leu
180 185 190

Thr Asp Val Gln Phe Ala Thr Gly Glu Thr Glu Arg Arg Ile Arg Glu
195 200 205

Thr Trp Thr Ala Thr Met His Pro Ile Leu Cys Pro Glu Pro Glu Arg
210 215 220

Ala Ile Gly Leu Thr Ala His Thr Asp Ser Gly Phe Ile Thr Leu Ile
225 230 235 240

Met Gln Ser Pro Val Pro Gly Leu Gln Leu Leu Arg Arg Gly Pro Asp
245 250 255

Arg Trp Val Thr Val Pro Ala Pro Pro Gly Ala Leu Ile Val Met Leu
260 265 270

Gly Asp Leu Phe Gln Val Leu Thr Asn Gly Arg Phe Arg Ser Pro Ile
275 280 285

His Arg Ala Val Val Ser Arg Glu Arg Glu Arg Ile Ser Val Pro Tyr
290 295 300

Phe Leu Cys Pro Pro Glu Asp Met Thr Val Ala Pro Leu Ala Ser Ala
305 310 315 320

Leu Leu Pro Gly Arg Lys Ala Val Phe Arg Ala Val Thr Trp Pro Glu
325 330 335

Tyr Met Glu Val Lys His Lys Val Phe Gly Thr Asp Ala Pro Ala Leu
340 345 350

Glu Met Leu Gln Leu Gln Val Asp Glu Glu Glu Gln Gly Glu Arg Ala
355 360 365

Ala Thr Thr

370

<210> 34
<211> 8800
<212> ADN
<213> Zea mays

<400> 34
taaatttgtg atccttgtga agttgttata tcatgaattg tgaacttgtt gcatttgtga 60

tcttttgtca actttgttgt attgtgaagt ttgatatgtt taccgatcgt attttagatt 120

tcgatcgtta ccggtgtatt ttccgcacca aacttttgtt tccgatgttt tcgaaatacc 180

gatatcgttt ccgtttctat agttaccctt ttcaatttta tttccgatta aaaatatgaa 240

aacggtaatg gttttagtgt ttatcgaccg ttttcatctc taatcatccc tgccggtgaa 300

gtttaatttt tcccttggct aaagagatgc aagctgctgt aaaatacgtt aaaacaggca 360

aggcagcccc agcagccagc atcgcgtgcc cgtctatgta catcagtgga tacgtagcat 420

ctctagtgag taatataacg attgcatttg gctggaggac gtatgttata taagtatgtc 480

atttaccagt tgcattagta tcttcccctaa ctcctataat aactctcttc gtggaatgga 540

cgtagacgta tgctatataa gtattaaaaa atagtttttt aagctggtgt cctcaatttt 600

gctattgttc tcgtttttat ctttagttgt gtcacaaatt taatccgtac aacaaatcaa 660

aaataccata cccttcttat attaattttc taacataaca tttgtttaga tattttcagt 720

cgtgaaaata caattctaat tctaacgtcg tagtatcaaa tcaaaccatc cagaatttga 780

ccaagcttaa ttataaaaaa tataaaattt atgatactga atagatagca ttagatttgt 840

tatataatat atttttataa aataccattt ttatggtata aatattggta ctcctttact 900

ttaaactata gatagttttg actaaggatg caactagaat tgcatcctct tttcactgca 960

ccttcattag ttttaatatt tatttagatg ggcccttgca aactgtagat atcatctctt 1020

gcaacattct ttctatagca ccacgaaaat gtattgcggc tttgaaatta taattgaatt 1080

agttgtatca tttctttcac cgatgcgtta aattcaaaat taagtgttat atttcttcat 1140

aatttgttaa atatatagac cctataatcc accattattt actataatag catacattaa 1200

cattggtttt agcctacact acgacactcg aggcattgaa ttttcctcta tcaaagaatt 1260

atatgtgtag tagtattgtt cttgacaaaa agggggatta aaattaaact accaatattg 1320

atacttatct tatcacatcc atgaatacaa tcaacactct tacaaaagat aagatacaag 1380

attaaaaagt accatgataa tacattaaga ttattagcaa tgcattaaat taaataaatg 1440

tgcaagtgaa tcatgatttt agttttatct attttacttt taaaatatga tattctctga 1500

ctacttctaa gcataaatgt gattctaagt catgaccgat cgtgcttatt cagaaaaatg 1560

aaggagacac agatttctat aaaaaaaggt tgtcatggga ctattgggtc aaccatctta 1620

ttcatttggg aaaataagtt tagaacacat caacccattt tagatgttga gtttggccct 1680

aatggtccat tgaccttact tttgtgggtt gacatagacc atctatccca agttattgtt 1740

gtgtcacatt ccctgatatc atgaatctat attttagctt tccgttttca tatttttagt 1800

cgttacatat tttttatccg cgtactagat taaaactcta gttgttgcaa tacattttgt 1860

tcatttttt ctatttcttc tttactaaca acatattcta gttcctagct acattcttaa 1920

gtaccatagt gctataaaca ttttttatcc tacattattc cacttaagaa attgaatttt 1980

ctgcataaaa aaattatatg tccagtagtg ttgtcttata aaagcataaa gtgattaaaa 2040

ttaaaaccat tattgatatc ttatttttca aaaaaaaata taagcttata gaaagtgaat 2100

taatttcatg gtaaattaat atagtttaaa ttgaattatt agtgttatta ctatgtttat 2160

tatcaatgaa acatttttca tggttgatat aacttagtgt tacttatttt agtatttttt 2220

atataattct agttaacttt tagtttttga tttaaaaaaa cgagaattgt gtccttttgt 2280

ggagtgagta taaagaaagt aatatctgtt catcataatt tggtttttta aggtacgtga 2340

aacttgcttt atatttggac tcaagctatg tctaaataca tagtaaaaaa gcaatatttc 2400

tagaaaagac aaaacatctt ataatttaga atcaaggaaa tatatagatt ttatgtgcag 2460

tgagaagcca tttacaatgg aacgttcaac gttgggccaa tagatatttt gcgatatgat 2520

gatgggcata tttttgcatg gttgtccctc cactagctat agtttgatga tacgatacgc 2580

tgcacacacc attgggttgt accatgttag tgtagcaaca gtagaaaccc aattgtggcc 2640

gtgaaccatg ataatactag gtagagtgct agctagaggt ttcaggctat tgatgcgtga 2700

attaaacttt ctgttgtgtt gcgaggaaac gagtattgtg aaatatttga aacggttttt 2760

tttgtgaaag atttgaaacg gtatttttgt tgtgaaataa agatcaaggc taaataaatt 2820

caaactaata aaacatatta attgacggcc tgaagccccc gcccccatgg ccccatgcca 2880

tagcatcagg tcccacatga catgaggccg cgcctccctc tatgttggct ccctgccttc 2940

gccgttgtcg tcgctcccga actccctctc ctcccctgtt acaaataccc ccacccgccc 3000

ggacagcttc cctgcacact cgcagctcgc acatctcatg gtgtcctaag aacggcaaga 3060

gccagctctg cctagcagca gcgcacagcc acatccatgg acgccagccc gaccccaccg 3120

ctccccctcc gcgccccaac tcccagcatt gacctccccg ctggcaagga cagggccgac 3180

gcggcggcta acaaggccgc ggctgtgttc gacctgcgcc gggagcccaa gatcccggag 3240

ccattcctgt ggccgcacga agaggcgcgg ccgacctcgg ccgcggagct ggaggtgccg 3300

gtggtggacg tgggcgtgct gcgcaatggc gacggcgcgg ggctccgccg cgccgcggcg 3360

caagtggcgg cggcgtgcgc gacgcacggg ttcttccagg tgtgcgggca cggcgtggac 3420

gcggcgctgg ggcgcgccgc gctggacggc gccagcgact tcttccggct gccgctggct 3480

gagaagcagc gggcccggcg cgtccccggc accgtgtccg ggtacacgag cgcgcacgcc 3540

gaccggttcg cgtccaagct cccctggaag gagaccctgt ccttcggctt ccacgacggc 3600

gccgcggcgc ccgtcgtcgt ggactacttc accggcaccc tcggccaaga tttcgagcca 3660

gtggggtgag taaagaagaa gatggcgccg aatttacatt tataagtagg accagcagaa 3720

gcccctgccc ctgggggcct tagcattgca ttcgactgat gaatacgcat ggcaggcggg 3780

tgtaccagag gtactgcgag gagatgaagg agctgtcgct gacgatcatg gagctgctgg 3840

agctgagcct gggcgtggag cgcggctact accgggagtt cttcgaggac agccgctcca 3900

tcatgcggtg caactactac ccgccgtgcc cggtgccgga gcgcacgctg ggcacgggcc 3960

cgcactgcga ccccacggcg ctgaccatcc tcctgcagga cgacgtcggc gggctggagg 4020

tcctggtgga cggcgagtgg cgccccgtcc ggcccgtccc aggcgccatg gtcatcaaca 4080

tcggcgacac cttcatggta acgaacgaaa gcgccggctc ctctgctttt cttggcctct 4140

ttgtccctgc cctgtgctgc tgtgcatatt cattcattca gttctctgtg gggtttttt 4200

tttgtttaat ttttttttgg gatcgtatcc agtgcacaag ggccacgccg tgcacaaatg 4260

cacaaaacga aatctggccg tccattttcc atccaacgac atgacggcgc gggggggtttt 4320

tcacaaaaca gactcggcaa gctacggagg ttgcgggagg gttcatctgc atatttacga 4380

cggccgttgg atggaaaatg gacggccaga tttcgttttg tgtatttgtg cacggcgtgg 4440

cccttgtgca ctggatacga tcccatttt ttttttgccc cgaatcctag tggacctaac 4500

tggacagatt acagcacgca cacgtaggca tgtcatgtag cagcactgca gtcgggtgca 4560

gtccagtcca gtcctgtcca gccgcgacac tgtagtacat agcgatgcaa cggagacacg 4620

cgttggagtt ggttccatct cttctcggcg gccgtgccga ggcttccgcg gggaagctgc 4680

gacaacagaa cggaccgccg ggggtgggca ggcagcaagc tccctgttgg cttgtgccgt 4740

tgcgcagcgg cgggtaccgg acaacgcttt cggcggcgcg cggcctcgtc ggcttccccc 4800

gtttttgatg ccgcctctcg gtgtccgggg accgggagga tcgatggggc ccgtgccgtc 4860

tgatccgcca cgcgagcggt cctatgcgat gcgccgcacg agcgcggggg ggccgtggaa 4920

cagtacacag ctgggtcact cactcactca tcccgctggt tgtggctgct tggttgcaac 4980

ttggctcggc tgtctgtctg ttgcccccgc cgcgttttct agccgtttcc gctttgctcg 5040

cggtttcgct ggcgatccgg cacgcggcgc ccacacccgg ggctggcccc ttggccgagt 5100

gggtggcagg cacttgcatg catccggccg gtttcccgcg accaagctgg cccgccgcaa 5160

caatgagagt gagacgagac tttgtgtcag tgtgtgtatg tacatgtatg tctgcgcgac 5220

agccctaccg tccgacacga tgattcttgt gcactgtact gtactgtact aactcccccc 5280

acccccctccg gtatgtaacg catgccatat gcaggcgctg tccaacgggc ggtacaagag 5340

ctgcctgcac cgcgcggtgg tgaaccggcg gcaggagcgg caatcgctgg ccttcttcct 5400

gtgcccgcgc gaggaccggg tggtgcgccc gccggccagc gccgcgccgc ggcagtaccc 5460

ggacttcacc tgggccgacc tcatgcgctt cacgcagcgc cactaccgcg ccgacacccg 5520

cacgctggac gccttcaccc gctggctctc ccacggcccg gcggcggcgg ctccctgcac 5580

ctaacgagcc ggccgtctct ttcgccgggg cccgcgcggg gttcgcccac gtggtgatca 5640

ggtggcagac atgtggccca cgggccccgc gccgccttcc ccatttttgg acgaccctac 5700

tgctactact actagtgtac atatgcaaaa aaatacatat atatataggt actttctcta 5760

atatttttat atataagcaa ggcggcctgg tgttcttttc tttgttttgt cgacaactgt 5820

ttgatcccat cctatggacg atggatagtt caatgtttgt acgtacgtaa ctactctcta 5880

tagactagaa tgggctcatg aaactggacc gatcgacacg gacgtcacgt gcgtctggta 5940

ccggtagtgc aacgggtgcc gaatgtttgc tgggcccgga cgagaatcgc ttctcctcgt 6000

cctcggtcct caccctgaac gaacgaataa ggaaaatgct gcaccgaaag ctccagacgt 6060

ttccgaattc caaattccaa aaccccaaat cttcttgctt cacatcagtc ttacccggtt 6120

catctgtgac aaaaaaaaaa tagtgctagt ttaggaactc aggtcgagat tgaaggcaat 6180

tgtggaggaa tttaccctat aatccttatg agaatttgag ttcccaaact aactgagttg 6240

gagcattcaa catttcccta aattttgtgc acatgtttct ttgctattta tctttggaca 6300

tgggacgatg ggagacgcag atttagggga cccttcaatt cagaacttca ggtgcacaaa 6360

ccgaggttgg cttgcctgca ttcttgtttc ggacatgccc aactaggcca ctactcacta 6420

ccttcatctg agataccaat tgctgaccta aatgacaagt atacacttac atttcagtga 6480

tagctgcaac aaaaaaaaaa atcttaccgc attttatctc tgcattctgc atgccgcatc 6540

ctgaacatta cgtatctttc ccggtgctct gttgcgttct cacgcagttg atggcatgca 6600

gtcttgcgcc accgaatcca gtgtactggt cgtggtgact tgtcgcacag acagcagccc 6660

ggcagcacca agcgtgtcac tgtaaactgt tgggcgttaa acaacaactt gcacaacagc 6720

tcaaatatgg catatgctat ccgacaaact gaacaaggtg cccaattgat ctgaatgtac 6780

ctgtgatttc cagcactatc gtacagcaac gttgtcaaaa caagtggggt ggggttgggg 6840

acagattttt tcgataaaga agcttttata aaaaataaca atgatacaaa tcctgggtta 6900

tagatgtaca gaaagcacga agcacgaaag tccagtccaa agcacgtttt tttgcctggt 6960

actagcccga tccggccggc acgaataagc gggtcgagct cggacgggaa gctaagcacg 7020

acggactagc ccgacacgac ccgtttacct ctaatcccgt taaacccgct tttttgcact 7080

aaaccgtgct taccgaaccg tttagcccgt tttttggcct gatttttcgt gcttaacggg 7140

ccaggctcgg acaaggaaac aagcccgcgg gcttagacga tccggcctgg ttttttaacc 7200

gtgcctagcg ggtcgagccc aaaataggtc gggcttcact gggcccgagc cgggcgaccc 7260

gtttggccat ctctaacctg agtacaactt ccgacttctg caaaatacat acagccaaat 7320

aaaagaaaag taaaaagatc taaaaaatct cagctagaaa caatcaatcc gaagactaga 7380

tcgcctccca taagtctgga aaaaagagac catggccact tgcaccaaga tgtgtgcatt 7440

attctacggt tacaccaaag atttttgttc tttaagggct agtttgggaa ccataatttt 7500

caaagggatt tctattttcc taaggaaaat tagttcattt ttccataaga aattagaaat 7560

ccattggaaa attgtggttc tcaaactagc cctaagcgtc gaaaagaacc atatgcatat 7620

ctagagacaa aattcctcta atttctattc aggcttcagc acatatactt cacgtgcttg 7680

cgtcaagttc cttgggccgc cacatggact tatggacttc tcgacgcagc gaaagccgtc 7740

gttgcccttg gtgtagctag gtcatccgca cctcccactg gccagtggcc actgcaggga 7800

cttggccatg ggcttgtttg gttcagcttt tttctgacca gcttttctga aaatctggct 7860

gtgtgaagaa tctggctgtg agagaatctg agtatcatta cgattacgtg tggatgaaga 7920

taaagttgtt catagggctc aggatctaga aagtgacgga ttcctactat tacaatgact 7980

caaccgatta tgtgtttatg ttgattttgg atgatttttg ccccaacaaa ttttatagaa 8040

gctggctgaa aagctgagcg tttggcagtc cacaacagtt tttggtggcc agaagctgcc 8100

agaagccgat acaaacaggg tccatgcttt ccatttcgtt taccgtgtac gcggtgtccc 8160

tcacaatcaa tcagtttacc ttgtggctcc aacacacatc aacctcggca caacaacact 8220

gtgaatcatt ttcggcggtc catattattt tcgacggttc atccctggcc gccgaaaatt 8280

gtctgttatt ttcggcggct tgacctagcc gtcgaaaata ggctgctatt ttcggcggcc 8340

aaatccgagc cgccgaaaat aaggctttta aaaaccgtcg gctccttctt cttctctgtt 8400

ctttctctcc tctcccaaag cccgccgccg ctcacccgcc gctcgctcgc cgggctgccc 8460

gccactccgc cgtcgtcgtc gagccaccgc atcgagaggt aaatttttt tgcgtgtttt 8520

attccttatt ttcggcggtt gatatttagg cgccgccaaa attagtgtat atttgtaatt 8580

gtgtttgttt aattactatt tgtaattagt attattgttt aattcgattt cattaatgta 8640

ttagtggtat atgtgattta gggattaggg gcatattgta tttaggcatt aatttcatat 8700

taatatgtgg tattattata ttattggttt taatagtaca ttatattggt acgtagaata 8760

gttgcattat tagtgtttgt ggtacttagt ttgacttgat 8800

<210> 35
<211> 8859
<212> ADN
<213> Zea mays

<400> 35
cctattttgt gtctaatact cttcttatat taattgtttg gtcaaacttt agataaattt 60

gactaatgat gcaattaaaa ctgcatcacc tttactaagg tactgcttta tatgtttcga 120

caaaattttc aattattctc tatgtgtttt aatctttgcg ctacacctcc attgatttaa 180

atactcattt attttaaacc ataacttaaa ttatatcgga tctttgcatc ctttctatgg 240

caccatacat gaatcgatat tttggctgca aatttttaat catgttagtt ttagcatttt 300

ttcatatcca tgtgttaagt ttgaatcatg tgttgttttt atataattta ttgaaaatat 360

agatcctaaa cttcactaat acttacaaca atagcatcat catgtgtttt aatccacgcc 420

acaacactca aggcattgaa ttttcttcta ccaaagagtt gtatgtgtgt attgttcttt 480

aaaaaataga gtgattataa ttaaactacc agtattcata tgtaaaatgt atagacatct 540

aaaataaaat ttgcaaaaaa cattgttgca gactttcaat ataattaaga atgggtttta 600

gggtcatgat atatggtttg ttaaagaaac ttgtttttt ttgcaattga taaactataa 660

aatacatttt cactattgtg tgcatatgta cttggtatac atagtggcat atatcatttt 720

tgtttacttt gaggtttgaa ttatctatgt taaaattgga taacatagat acattggtgt 780

gcgtcctttg gcccatttac ttgactgagg agcaatacta taaagtaaaa catatttgga 840

tattttatct taaactccta gcataatatt gatttaatta tgaacaaata tatgtttagg 900

tgatagtttc atgggtggta aactatataa gaaggcttac catgatcttt gcaaactcta 960

ggctatgaaa gagttccatg atttgtctta gaagcataga caaaacagtg ataatgatct 1020

aaatcacact tatggcactg atgaccatat atgcaaagct aaatgcatgt taagttgtat 1080

tatatcatat gtttacaatg actatcgcat ataacgagga atacattgtc tatatagata 1140

gctattactg tagtagtgcc aaatgttgga caacatgaat cataatcttc aaacctagag 1200

aaattgtagt cagtcgtaca catatcgtct agtaagttgt ctatactttt tatttattgt 1260

atcaaatttt attgttatct tgcttgcttg tttgtttgta ccatagacac aatatggtca 1320

aaaagtggtc aatcgattcg aagaagattg caattgacga gtgctaacag ttgatccttt 1380

tgttgtgcac gctagcggag tagcatgaaa agagtaaaat atgaaattag cgttctaaac 1440

tgtttgtgct ataggtactt cgtatttaat ggagtgacta actataggaa ggtgagagct 1500

cagaagtcag caccctcaca cagagttcta gagttagtgg tcatcgaacc acgacaaact 1560

acatgatgag cagaagaggc aacatcaaga ctatgatcaa tagtttcggg tcaatgaatg 1620

acatcgtgat gagtatttat ctaactatat agaacaacaa cacatgatgt tttaagtaag 1680

ttcaactgat cttctattgc tatctttaag tatttaacgt agcgaataat gttttatcta 1740

tttcattcat aaataatgtt gtgacaaaag gggataacca tcacttttac catgttctag 1800

ataccacaac catctccacc atcataatgg gttcttcatt ggtgcttgga cctcaaataa 1860

tcatatctat agccaactta gctcaattct aataaaatta ggcaacttgg cttcattgta 1920

gcaaaaatag ccaacttagc tcaattttat ctaaacttag ctaatctagc acaacttaga 1980

tcaatattag gaaaaactaa tcaatctaat ctagctcaac tatagcgaaa gatagatatt 2040

gtagcataac ttagtagatc tatctcaaat tttagcaaaa actaatcaat ttagataaac 2100

tctataaaat tttaatcatt atgacttatt tccaactaat tgtaacttgc atgattttta 2160

tgttccttct ttataattag caacacctaa agacacgaat gatgaggggt ctaacgcatt 2220

cattaaccag ttgttaaata atactctagg tagatgataa gaactctaat tattctatga 2280

atctaagcta aaagatgttt aatatttaag tattggtgtt tattatgtta tttagaacga 2340

ttcatgttac ttaaagattt gttatgattt ttaaatatga ttatgataat ttatgtggtg 2400

tggattaact tgtgaacata tgtgatgtag atgaatatgt atgttgtgga tggaaccata 2460

tgaatatata tacacactca tatactattc gttggtgtag gtaaagcttc atccatcggt 2520

aattactaaa tggtcttcag tcattaccac taggtgaagc ttcacacgac cgataattat 2580

tgaagaacgc tcattaattt ccggtaatgg cttattggcc ttcactagtc ggtgaaaatt 2640

agctattttt ataccaataa aaattagcta atatatgtaa accaggtcta atttttatgg 2700

gcctcttacc gaccaaaatt gattagatta ttgttacaat agttttagtc aaaagctagc 2760

tatgctataa aaattttgaa ttaaagtgag tttcgtaata aaaattgcat acttttaaaa 2820

taaaataatt aaaaaacagt ttttagaaat acaatcaaac accttatgct ataaaaaaat 2880

tgtaatgtac ctacaaatat ataatacttt actttaaaat aggcctgtgc cttctcggct 2940

ctatatgggc tgcctccaac gaagcgccat ggccatgggc tccactgtgt cgggtcccac 3000

atgaggccgc gcctccctcc aaatgttccc tccctgcctt cgtctttgtc gttgctcgca 3060

aactccctgt cctcccctgt tacaaatacc cccacccgcc cggacagctt ccctgcatac 3120

ttgcagctcg cacatctcat ggtgtcgcag gaacgacaag agccagctgt gcctagcagc 3180

agcagcagca gcgccaagcg cgcagccacg tccatggacg ccagcccggc cccgccgctc 3240

ctcctccgcg cccccactcc cagccccagc attgacctcc ccgctggcaa ggacaaggcc 3300

gacgcggcgg ccagcaaggc cggcgcggcc gtgttcgacc tgcgccggga gcccaagatc 3360

cccgcgccat tcctgtggcc gcaggaagag gcgcggccgt cctcggccgc ggagctggag 3420

gtgccgatgg tggacgtggg cgtgctgcgc aatggcgacc gcgcggggct gcggcgcgcc 3480

gcggcgcagg tggccgcggc gtgcgcgacg cacgggttct tccaggtgtg cgggcacggc 3540

gtggacgcgg cgctggggcg cgccgcgctg gacggcgcca gcgacttctt ccggctgccg 3600

ctcgccgaga agcagcgcgc ccggcgcgtc cccggcaccg tgtccgggta cacgagcgcg 3660

cacgccgacc ggttcgcggc caagctcccc tggaaggaga ccctgtcgtt cggctaccac 3720

gacggcgccg cgtcgcctgt cgtcgtggac tacttcgtcg gcaccctcgg ccaggatttc 3780

gagccaatgg ggtaagtaag gtagtaagaa ggagcgccgg tttacattta ccgcacgtcg 3840

gcgtgcggtc gagtcgggac tcgggagacg tatgaacccc cgtcccgtcc catgcatgtg 3900

tggcaggtgg gtgtaccaga ggtactgcga ggagatgaag gagctgtcgc tgacgatcat 3960

ggagctgctg gagctgagcc tgggcgtgga gctgcgcggc tactaccggg agttcttcga 4020

ggacagccgg tccatcatgc ggtgcaacta ctacccgccg tgcccggagc cggagcgcac 4080

gctgggcacg ggcccgcact gcgaccccac ggcgctcacc atcctcctgc aggacgacgt 4140

gggcgggctg gaggtgctgg tggacggtga gtggcgcccc gtccggcccg tcccgggcgc 4200

catggtcatc aacatcggcg acaccttcat ggtaacgaaa cgaaagcgct cgctcctctg 4260

ttttccttgg ccgctcttgt cctgtgtgta tattcagttg agctctctct gtgctgttat 4320

ttcccgaatc ctagtggacc taaacgggca ggttattaca gcacgcacac gtaggcatgt 4380

catgtagcta gtacatacat agcgatgccg atgcaaatgc aatagagaca tgcgttcgag 4440

ttggttccta tctcggcggg ctacggcagg tacacgcggc cgcggcgcgc tctctctagt 4500

ctatccgcgg ccgcgcccag gccgatcgag gcttccgggg gagagttgcg acaagagaac 4560

ggaccgaggg ggtcggctag cggtagcaag ttccctgttg gtttgtggcg ttggagcgtt 4620

gcggagaggc ttgcgcggcg gcggggacgt cgacggggac gtggcgggga gacgatacga 4680

tgggtgccgg gcagggcaac gctttcggcg ggtggccgtg tccaggtgcg cgcggccttg 4740

tcggtttccc cctctcggtg tccatggccg agaaatgggt cgacgaccga gaccgacgct 4800

cggtgcggcg cccatcccgt ctgatccgcc gcgccacgcg agcggcccta tgcgatgccg 4860

cacgggcgcg gagggccgtc gcgcggagta taatgtatag tatatagtac aaggttggtt 4920

ggagtcgggt tgggttggat cgggtcaccg gtacgtggtg gctgctgttg cccccgccgt 4980

ttccgcttgc acttttgtcg cggtttcgct ggcgatccgg cacgcggcgc ccacaccacg 5040

ccggggctcc aaacagctcg ggcccttggc cgtgtgggtg gcaggcactt gcacgcgtcc 5100

ggttgtcgcg gcctggcccg ccgccgggcg caccgcaaca atgagacagc ccgacacgat 5160

gattcttgtg cactgtgcta acccgcatgc catgcaggcg ctgtcgaacg ggaggtacaa 5220

gagctgcctg caccgcgcgg tggtgaacca gcggcgggcg cggcggtcgc tggccttctt 5280

cctgtgcccg cgcgaggacc gggtggtgcg cccgccggcc agtgctgcgc cgcggcgcta 5340

cccggacttc acctgggccg acctcatgcg cttcacgcag cgccactacc gcgccgacac 5400

ccgcacgctg gacgccttca cccgctggct ctcccacggc ccggcccagg cggcggcgcc 5460

tccctgcacc tagcgagccg ggccaaggcc gtctctttcg ccccacgtgc gcgcccagct 5520

gggcaggtgg ccagacacgc ggcccgcggg ccccgcgccg ccttgccatt ttttgacgct 5580

ggccctactg ctgtgctact agtgtacata tgcaagagta catatatata tatatatata 5640

cgtattttct atatattata tataaaagca aggcggcccg gtgcccttct cttgttttgt 5700

ccacaactgt ttgatcccat tattctatgg accatggata cttcaatgtt tgtactaaga 5760

ccgtgaacgt gggattcttt tccttcctct gtgtttttttc tgagaaaaat taaactgatt 5820

tctgtgaaat ttctttgttt taacaagaaa acagaaaaat tacatgagga aaacgctcca 5880

tttatttcaa caagaaaaaa atacatgaaa cagaaggaga aaaaacgtgt tcgttctatc 5940

attttcacac gagaaaaaaa aacatagaaa acagaaaaac tccccgcgtt cagatgagct 6000

caagaaaatg gaacgacacg gacgtcaccc gcgtcttgta gcagtgggcg cacgggtgcc 6060

gaatgtttgc tgggcccccа agagaatcgc ttctcctcac gctgaatgaa tgaatcaacg 6120

agggaaacgc tgcaccctga gttccagacg tttccgaatt ccaaacgttt ttgtggcgtg 6180

cgtccatggg gcgcccccaa acttcggacg tttccggcgc tccaacaaat cttctcgctt 6240

cacacgtcac cgtcgtcccg gattcatttg cctcgtcgct ccaccattcg ctgctctcct 6300

ctccacgtac tcttaccctg acctttggga aagaactgaa cattcgagat gcacaacagt 6360

tcaaatataa catatgcagc acaagatcgt tcgactgcta tccgacaagc caacaacgtg 6420

cccagtagaa ctgaatgtac ctgtgatttc cagcactaac ttacagcaac gttgtgaaaa 6480

aacaaaaacg aaaacaaacg gcagaaaaaa cagatgtatt gttctacagt tacaccaaat 6540

attttctggt cctttcagca ccaacaagag ccatacgcat atctagaaga caaaattcct 6600

ctaatttcac ccctacgtgg tagcagttcc tcctcaacac agttcacgtg ctagcgtcga 6660

gttctttggg ccgccacatc gacttctcga cgcagagcag gccctcgctg cccttggtgt 6720

aggtcatccg cacctcccac tgcacggact tggccatgct ctccagctca tttatcgtgt 6780

ccgcggtgtc cctcacgatc agcttgccct gtggcctcag tacacggtcg acctcggcga 6840

aaactgcagc cagtttgcat ctgtaaacag gcaacacaga tttttagtat ctaaaacact 6900

gcaggcaaac gccacaggtt ttagtcgcaa gaagcaataa aagcatgcaa acaatgctac 6960

gtgtacgtat caaaggaaca tgtcaaaact cgttgcatga acgatcattg atgtttcctt 7020

gctgaactag tcacatcagt ctgcttcaac ttctgggttt cactagtaga tataccagaa 7080

gggtagaata atgtgaagag caagaaatac agacctcttt ctgagctttg agaacagatg 7140

gtccgcgtgc agaaggtcat acgttcttgg gtaagtgctg aaagactcgc accagtcatg 7200

gtacatgcca aacaaaccgc gctcgtagat gatgggcagc gtgtctggtg aatcgatcgg 7260

cacgatattc atgacccaga ccttttggtc cctcagagct gcagcaaaac tgccatgcaa 7320

caatgtaaag cattagtcaa gaagaaggtg tacagtgcat ttctccttgt caacagtctt 7380

cagtaacaaa aaaaaagtgt tatgcttgac tgaatctttc aaagaaatat gcttgatgac 7440

ttatggtgga caagttgcct gttatagtgt tatgttttaa ttaactatgt gccagcttgg 7500

gtaactagta gttatgtagt gtgatctgaa ttaccaaaat ataaataaat aaataaacat 7560

gcccaagaaa ctacgaaaac catttactta ccctccatag acagctctca tgtccatgac 7620

atttctcact ttggaccagt caattcccat gccattcaca tacgatttac ttacaacccg 7680

tttccagtgg gcattatctg cctcaaaatc ttcatttgca ggctttccat agacaccaac 7740

cttggaacca tcaatccaga aaggggtctt ctcaagcctt tgcggccata actctggcca 7800

ttttgatcct cggacttttg agccaccagg cagtttgtgc atgcatgctt ccaacggtac 7860

attcctgcaa atcaaaaggc tgtgtaagca aagcagagaa gcacttttct ccattgaaaa 7920

tatactcttc tcaaagaacc gaaaccatac caagcagcat ctgcatcatc agattccttg 7980

cacaatggcg ggctgttttc agatcttttc tcatagcaaa tattgtccat tggtttctga 8040

tatatgacca taccaacttg gtttaactta tccttagtct tgttgaccat cttccagcac 8100

atggactttg tcaaagtaga catggctgaa aagggtatgt ggccacatgt tatgttagaa 8160

ataaaattca attttgaaca gttggtccat agcatgtatt ttgaacaaat gcaatccttc 8220

tccatccatg aaagaagttg acccttcata cttaggatta ttcagtactt tcactcatgt 8280

ctgctgaatt tgttctcttg gtagttgcta tacaagaaag ggggaagtac agagtagcta 8340

aacttataca agctatagtc tgatatttgt atgaaacata aattttggta tggatgtctt 8400

attaaaatgg gaggttgtat aatatttttc tagcctacct caacttgctt gagactaaaa 8460

ggctttgttg ttgttgttga ggctgtatgg tgctttgact ttacaaatca agttatcagc 8520

taccctactt atggatatac acctctcata aaatgatggt aagaagtttc gatatgtcac 8580

attaacataa gaacttcatt cagttagggt acaacgaagt taagtagtta cggaaatacc 8640

attccaaatc tcaacatcct ctgggagctt ttggtaaaca ggagtggcag accagacaaa 8700

gtaaccacca gggcgtaaca agcggttcaa ttccagcaaa agcatgccac ctaaaagtag 8760

cgagccagca ataagattca gttctatagc aaatcaataa atgaaaggag gacatgtcaa 8820

tatgtaacca gcaggacaaa ccttcgatgt gccaaggga 8859

<210> 36
<211> 1788
<212> ADN
<213> Zea mays

<400> 36
aatcccagcg tgcgtaatct attgcccaca tgccgacgcc gtcgcacctc aacaagaacc 60

cgcgctacct ggacttccgg gcggcgcggc gggtgccgga gtcgcacgcc tggccgggcc 120

tgcacgacca ccccgtcgtg gacggcggcg cgccgggccc cgacgccgtg ccggtggtgg 180

acctgggcgc cgcggacccg gcgccggcgc cggcggcggc ggtggcccgc gccgccgagc 240

aatggggcgc gttcctgctc acgggccacg gcgtccccgc ggacctgctg gcgcgcgtgg 300

aggaccggat cgccaccatg ttcgcgctgc cggccgacga caagatgcgc gccgtgcgcg 360

ggcccggcga cgcctgcggc tacggctccc cgcccatctc ctccttcttc tccaagtgca 420

tgtggtccga gggctacacc ttctcgccgg cctccctccg cgccgacctc cgcaagctct 480

ggcccaaggc cggcgacgac tacaccagct tctggtacgt tgcgttgcgt gcttgtgtgc 540

gcgcacacct gccgaccgcg gccacaccgt acgcaaccca cgcgtacgta cgtgcgctag 600

ctacctgctt cgctcgcttc gctcctctcg cctcgccatg catatgcacg tacggccgta 660

caggtacagc agcaggtcac acgcacgaac gcacgcacgc accagcaccg atatgataca 720

tcatcgacgt gtcgtccccc cgtctaaggc catgcatgca tgcaagcacg cctagctagc 780

ccttttggct tgctagctga cgaggggagc taggacgagc atacttactg tgcgcgtcat 840

gctcaattgc tcacactata ctactacttg ttactacagt gatgtgatgg aggagttcca 900

caagcacatg cgcgccctcg cggacaagct gctggagctg ttcctcatgg cgctggggct 960

caccgacgag caggccagcg ccgtcgaggc cgagcggagg atcgccgaga cgatgaccgc 1020

caccatgcat ctcaactggt gggtatatat tattgtctgt catgttgtcg tcgtcgtacg 1080

cgttgcggtt gggtgtacat gtatataaca caaacaacaa aaaactaacg ccgtgccgac 1140

gacgacgacg atcatcaggt acccgaggtg cccggacccg cggcgcgcgc tggggctgat 1200

cgcgcacacc gactcgggct tcttcacctt cgtgatgcag agcctcgtgc ccgggctgca 1260

gctcttccgc cacgccccgg accggtgggt ggcggtgccg gccgtgccgg gcgccttcgt 1320

cgtcaacgtg ggcgacctct tccacatcct caccaacggc cggttccaca gcgtgtacca 1380

ccgcgccgtc gtgaaccggg acctcgacag gatctcgctc ggctacttcc tcggcccgcc 1440

gccgcacgcc aaggtggcgc cgctgcgcga ggccgtgccg cccggccggg cccccgcgta 1500

ccgcgccgtc acgtggcccg agtacatggg cgtccgcaag aaggccttca ccaccggcgc 1560

ctccgcgctc aagatggtcg ccctcgccgc cgccgccgac ctcgacgacg acggcgacgc 1620

cgccgtcgtc catcagcagc agcagctagt cgtctcgtcg tagccgagac cgatcgccgg 1680

agactgatgc tgatgatgat gcatatatac atgagagaaa tcgtcgagta gactagccga 1740

ttgcaaaagc aaccccagct gccgaaacct ggcatatcga tcccattc 1788

<210> 37
<211> 1698
<212> ADN
<213> Zea mays

<400> 37
cgtgccgaga gtccttcaaa gccgacgacg agacgacgat gcagtcgtcg tcgtcatcag 60

cctcgacgcc ggctgccgct tccggcctcg tcttcgatct cgggtctgcg gcgggcgtgc 120

cggagacaca cgcgtggccg ggggtgaacg agtacccgtc ggtggagtcc gctggccgcg 180

acgtggtccc ggtggtggac atgggggtgg cctgcccgga cgcgacgcgg gcgttggcgc 240

gcgccgcaga cgagtggggc gtgtttctgc tcgtcggcca cggcgtgccc cgggaagtgg 300

cggcgcgtgc cgaggagcag gtcgcgcgcc tgttcgtgct cccggctcct gacaaggccc 360

gcgcggggcg ccgccccggg gagcccacgg ccaccggcta cggcaggccg cccctggcac 420

tccgcttctc caagctcatg tggtccgagg ggtacacgtt ccgcgccgcc accgtccgcg 480

aagagttccg ccgcgtctgg cccgacggcg gcgacgacta cctccgcttc tggtacgtac 540

gagcgccatg tcacgtgctt gtgctttcat gcctcgtacc gtcgtcgtgc tgtacgtgtt 600

atgtttatcg gccggtacgt cacgcgtgct acactggtta acgacgtgag cgtgcccacg 660

ttgactgcat gcatgtgcat gcgcgcgccc agcgacgtga tggaggagta cgacagagag 720

atgagggctc tcggtggcag gctgctcgac ctcttcttca tggcgctcgg cctcaccgac 780

gtccagttcg ccaccggcga gacggagcgg aggatccgcg agacctggac ggcgacgatg 840

cacccaatcc tgtacgtacg tcaaaaacga atatctgacc aatgcaaacg tttttctgca 900

atgccagtca tccactcatc ctgtacgtac ctctggactc tgcttgtcca tctactgatg 960

acacgtatgg taggtacccc aggtgtccgg aaccggagcg cgccatcggg ctgacggcgc 1020

acacggactc gggcttcatc acgctcatca tgcagagccc cgtgcccggg ctgcagctgc 1080

tccgccgcgg gccggaccgg tgggtgacgg tgccggcgcc gccgggcgcg ctcatcgtca 1140

tgctcggcga cctgttccag gtgctcacga acggccgctt ccggagccct atccaccgcg 1200

ccgtcgtaag ccgagagcgc gagcggatct ccgtgcccta cttcctctgc ccgccggagg 1260

acatgacggt ggcgccgctc gcgtccgctc tgctgccggg gaggaaggcc gtgttccggg 1320

ccgtgacgtg gccagagtac atggaggtca agcacaaggt gttcggcacg gatgcgccgg 1380

ccctggagat gctgcagctg caggtggatg aggaagaaca aggtgaaagg gccgccacca 1440

cctaagccct aaggaactac tagctgaatc cataaactaa taaagaattc gtgaataagg 1500

gcgttggaag actggacaca acacaagaga gttgctatat atcgtatttc tgaaatttaa 1560

ggcaaatatc ttagttaaaa aactggtata tttaaataga caatatatat ctaaaataaa 1620

gatagttcac catttttacg gtcgaacaat gataaagtta tatattgtct gaatagtaac 1680

aaattaaaga tttccagg 1698

<210> 38
<211> 4095
<212> ADN
<213> Zea mays

<400> 38
cggtctaagt gaccgtttga gagaggaaaa gggttgaaag agacccggtc tttgtgacca 60

cctcaacggg gagtaggttt ataagaaccg aacctcggta aaacgaatca ccgtgtcatc 120

cgccttattt gcttgtgatt tgttttcgcc ctctctttcg gactcgttta tatttctaac 180

gctaaccccg acttgtagtt gtgcttaaag tttgtaaatt tcagattcgc cctattcacc 240

ccctctaggc gactttcata taaatattgg gagaaatatg aaaaacaaat gaaggtcgaa 300

cgagtcagag acaccataaa aaagaggtcg tcttaactag ggtgctaaac ctcaacattg 360

tagtagatct tagtactgag tttgacatct ttgacaccaa caagatggtg atacgttact 420

ttctacgtta acttgggtag gtatatcgac tatagtggcc tataacacta ggctatgtaa 480

tatgatattg tgttgagtct ttataaacat gatttttttt aaaaaaaaga gctaaaataa 540

aaaatagaaa tcgacggtac gatgcaagtt cttctcaaga caaccaaacg cacccttgcc 600

cctttattga aattgaagta tgtgctttat caaatgttta aatactaatt ataagtatta 660

aatataattt aattataata ctaattatat agataaagac taaataacaa gacaaattta 720

ttaaatataa ttaattcatt attaacaaat acttaatgta gcacgatcga atcatggact 780

aattagtctt gatagactcg tcttaccatt taatcataat tagttttgta tactgtttat 840

aatatttcta actagctagt attaaacttt tgatgtaacc taactaaagt ttagtcacgc 900

caatacataa ggactcggat cgttcgatca cccatgacat cacgtatact aagagcatct 960

ccaaaagctc tccagaagtc tcccctaaat ctatttttt gggaaaaaca caaaaacatg 1020

tctccaacag ttcccttaaa gcgcccccaa ctttttcata gcccttaaaa ctccctcatt 1080

tgtagctaca aatgaggggt tttttgggct ccccagaaac aaactgttga tttaagggat 1140

ctgttggaga aaggattaaa atttaccctc acttattatt tagatgtccc ttaaaactga 1200

ttttgaggag tcgttttatg tagagctctt ggagatgctc taacacaccg agcacaaccg 1260

catcatcaat caaaacaacc caaagtttgt tcggtacaag tcatcagcct gtgtacacac 1320

atcagcctcg gccccgggag aagcgctagc aaacaaggtt cacctaaaaa tccatccaga 1380

ttcattgaat ccaaccagca caaacgtccc atttattaat cacctcatca caggtccccc 1440

cagcctcact ctcgcgccgg ctcaaggtac attgcgtgtc ctagccaaga cacgcagctc 1500

atctcagcct cacacgcaca gcaagagcga ggcgtgattc gccatgggcg gcctcactat 1560

ggaccaggcc ttcgtgcagg cccccgagca ccgccccaag cccatcgtca ccgaggccac 1620

cggcatccct ctcatcgacc tctcgcctct ggccgccagc ggcggcgccg tggacgcgct 1680

ggccgccgag gtgggcgcgg cgagccggga ctggggcttc ttcgtggtcg tgggccacgg 1740

cgtgcccgca gagaccgtgg cgcgcgcgac ggaggcgcag cgagcgttct tcgcgctgcc 1800

ggcagagcgg aaggccgccg tgcggaggaa cgaggcggag ccgctcgggt actacgagtc 1860

ggagcacacc aagaacgtga gggactggaa ggaggtgtac gacctcgtgc cgcgcgagcc 1920

gccgccgccg gcagccgtgg ccgacggcga gcttgtgttc gataacaagt ggccccagga 1980

tctaccgggc ttcaggtgac gaaattaact atatatccct ttcgatcata gttgcgttaa 2040

taaattaagg gaatcgtgag cgtacgtacg taagtttccg cagagaggcg ctggaggagt 2100

acgcgaaagc gatggaagag ctggcgttca agctgctgga gctgatcgcc cggagcctga 2160

agctgaggcc cgaccggctg cacggcttct tcaaggacca gacgaccttc atccggctga 2220

accactaccc tccttgcccg agccccgacc tggccctcgg cgtggggcgg cacaaggacg 2280

ccggcgccct gaccatcctg taccaggacg acgtcggggg gctcgacgtc cggcggcgct 2340

ccgacggcga gtgggtccgc gtcaggcccg tgcccgactc gttcatcatc aacgtcggcg 2400

acctcatcca ggtacgtgcc cacctgatga actgagctga acgtaggttg catgcactgc 2460

atgtgtatag gcttctcaga tcgcttcgtg tggcgtaagg tgtggagcaa cgacaggtac 2520

gagagcgcgg agcaccgggt gtcggtgaac tcggcgaggg agaggttctc catgccctac 2580

ttcttcaacc cggcgaccta caccatggtg gagccggtgg aggagctggt gagcaaggac 2640

gatccgccca ggtacgacgc ctacaactgg ggcgacttct tcagcaccag gaagaacagc 2700

aacttcaaga agctcaacgt ggagaacatt cagatcgcgc atttcaagaa gagcctcgtc 2760

ctcgcctaac tactgctact gctaggatcc atgccattgc catgtcgtct tcagattcag 2820

agcacgccat gtcgtcgcta gcttcgtggt agaacaaata atgatgtgcg tgctgtgtgt 2880

aagcatggat atggatgtga atatgtaata tgatgagcac tcctactttg gtatgtttgg 2940

gaataacaga cttgtgttgg tctggttcat tatttgtaag aaaatcaaaa agagttagta 3000

gggcaggagg ctaaccacag tcatgctgca ccacatccct ggtggaaagc tggccgggtt 3060

acgctacgct cgtgcagcca gattactgca gggccgggat atgcttccgg tggaaggaag 3120

gggacggtgg ctgaggacca tggggctgga gcctgggaga gaggtcgagc tagaagaaag 3180

ggggagagag aagacgcaca acgaagatgg gtcagccagg gatttcgacc caaggggggag 3240

ctagtggatt ttgggagaaa acagaaaaga gaaaagagaa aagaagaaaa atttgttggt 3300

gtgaacacaa ggttgatttg tcttttctta tttggattga tgatgagtcg tggactaacc 3360

gacccgtgag ctattgtgtc gtataatcat gtctctcggt ttctggtgtg caggtttgaa 3420

gcacagagac ggtggtcgac gcaaaggtga acgtcatgca ggttcgtgcc gatggaccgg 3480

gagcagtgaa agacgagcgt tgggacttga acaagggacc agagtcgccg gatgactagc 3540

cgcagtggct gacgcctgga acacgcatag acgtgaggac gtggtagagc aggtgaaaat 3600

cgcctagagg gggggggggt gaatagacaa aacctaaaaa ttataaactt tgaacacaaa 3660

ctttacctga ggttaccgtt agaacgagta ttaatgaaat cggagtgcgg aaggcaagtt 3720

cttcttgcta cgagttgctt aatcaatatt gataactttg ggagtcaact caaaatgatc 3780

acaagcaaaa gaactagaga gagaggagag gaagaatcaa ctcgcaaagt aatgatcaac 3840

acaaatgaac acaatgattt atttctcgag gtttggttcc gaagaaccta ctccccgttc 3900

aggagtccac ataggacatg tctctttcaa ccctttctct ctctcaaatg gtcacataga 3960

ctggttcagt tgagagcacc tagaggggggg tgaataggtg atcttgtaaa atcaaacact 4020

aatagccaca aaacttagtt taaagtgtta gtacggctaa gtagctttga agcgagttat 4080

tgtgaacaca acaat 4095

<210> 39
<211> 21
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> oligo kìm hãm

<400> 39
ctccatcatg cggtgcaact a 21

<210> 40
<211> 21
<212> ARN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> oligo kìm hãm

<400> 40
uaguugcacc gcaugaugga g 21

<210> 41
<211> 19
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> oligo kìm hãm

<400> 41
ggtactgcga ggagatgaa 19

<210> 42
<211> 21
<212> ARN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> oligo kìm hãm

<400> 42
uucaucuccu cgcaguaccu a 21

<210> 43
<211> 19
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> oligo kìm hãm

<400> 43
caggcgccat ggtcatcaa 19

<210> 44
<211> 21
<212> ARN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> oligo kìm hãm

<400> 44
uugaugacca uggcgccugg a 21

<210> 45
<211> 19
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> oligo kìm hãm

<400> 45
tcatgcggtg caactacta 19

<210> 46
<211> 21
<212> ARN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> oligo kìm hãm

<400> 46
uaguaguugc accgcaugau a 21

<210> 47
<211> 19
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> oligo kìm hãm

<400> 47
tcgctcgcct tcttcctca 19

<210> 48
<211> 21
<212> ARN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> oligo kìm hãm

<400> 48
ugaggaagaa ggcgagcgac a 21

<210> 49
<211> 19
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> oligo kìm hãm

<400> 49
tccaacgggc ggtacaaga 19

<210> 50
<211> 21
<212> ARN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> oligo kìm hãm

<400> 50
ucuuguaccg cccguuggac c 21

<210> 51
<211> 19
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> oligo kìm hãm

<400> 51
gcatcaacag gtacaacta 19

<210> 52
<211> 21
<212> ARN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> oligo kìm hãm

<400> 52
uaguuguacc uguugaugcg a 21

<210> 53
<211> 19
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> oligo kìm hãm

<400> 53
tggacgatgg atagttcaa 19

<210> 54
<211> 21
<212> ARN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> oligo kìm hãm

<400> 54
uugaacuauc caucguccau c 21

<210> 55
<211> 19
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> oligo kìm hãm

<400> 60
uugaccucca uguacucugg a 21

<210> 61
<211> 19
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> oligo kìm hãm

<400> 61
ccatgcccta cttcttcaa 19

<210> 62
<211> 21
<212> ARN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> oligo kìm hãm

<400> 62
uugaagaagu agggcaugga a 21

<210> 63
<211> 19
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> oligo kìm hãm

<400> 63
acatggcggt caacttcta 19

<210> 64
<211> 21
<212> ARN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> oligo kìm hãm

<400> 64
uagaaguuga ccgccaugug a 21

<210> 65
<211> 726
<212> ADN
<213> Rice tungro bacilliform virus

<220>
<223> oligo kìm hãm

<400> 55
tggaccatgg atacttcaa 19

<210> 56
<211> 21
<212> ARN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> oligo kìm hãm

<400> 56
uugaaguauc caugguccau c 21

<210> 57
<211> 19
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> oligo kìm hãm

<400> 57
gcaaggtcct agatttaca 19

<210> 58
<211> 21
<212> ARN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> oligo kìm hãm

<400> 58
uguaaaucua ggaccuugca a 21

<210> 59
<211> 19
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> oligo kìm hãm

<400> 59
cagagtacat ggaggtcaa 19

<210> 60
<211> 21
<212> ARN
<213> Trình tự nhân tạo

<400> 65
tcctacaaaa gggagtagta atatttaatg agcttgaagg aggatatcaa ctctctccaa 60

ggtttattgg agacctttat gctcatggtt ttattaaaca aataaacttc acaaccaagg 120

ttcctgaagg gctaccgcca atcatagcgg aaaaacttca agactataag ttccctggat 180

caaataccgt cttaatagaa cgagagattc ctcgctggaa cttcaatgaa atgaaaagag 240

aaacacagat gaggaccaac ttatatatct tcaagaatta tcgctgtttc tatggctatt 300

caccattaag gccatacgaa cctataactc ctgaagaatt tgggtttgat tactacagtt 360

gggaaaatat ggttgatgaa gacgaaggag aagttgtata catctccaag tatactaaga 420

ttatcaaagt cactaaagag catgcatggg cttggccaga acatgatgga gacacaatgt 480

cctgcaccac atcaatagaa gatgaatgga tccatcgtat ggacaatgct taaagaagct 540

ttatcaaaag caactttaag tacgaatcaa taaagaagga ccagaagata taaagcggga 600

acatcttcac atgctaccac atggctagca tctttacttt agcatctcta ttattgtaag 660

agtgtataat gaccagtgtg cccctggact ccagtatata aggagcacca gagtagtgta 720

atagat 726

<210> 66
<211> 165
<212> ADN
<213> Rice tungro bacilliform virus

<400> 66
acgaatcaat aaagaaggac cagaagatat aaagctggaa catcttcaca tgctaccaca 60

tggctagcat ctttacttta gcatctctat tattgtaaga gtgtataatg accagtgtgc 120

ccctggactc cagtatataa ggagcaccag agtagtgtaa tagat 165

<210> 67
<211> 2000
<212> ADN
<213> Zea mays

<400> 67
ctgcaatata tacaccaaaa gtattataaa ctgtcatata tatgaccaaa acctttttat 60

tttagaaaag tatattaatc atggtatatt aatcaaagtt gttgttgggg ctgcaaaaat 120

catacccttc ttccacaagc tgttccttga actgcaggta ctcaggaact ctcagctcct 180

caacagcgag ctcactgacg ttgaccctca catactccca gacaccaggc ctagggcgga 240

tggcaagtgc aacccatggg gggatgacaa tcgcctcctg taagataata gagctagaat 300

gattaaagaa ggtgcacact acaaaaggaa cagtgctgtc cagcgagatc tgaatctgat 360

gcaaacctga gctgccctca ggacatcctc aaaagcacca tccttgagct tctcgcgctc 420

agcctcaggg atcgcattgt tgtactcggc aatgatctgg tggggctgca gcataccctt 480

tccaaggttt ttcagcctgc gcaaaacgat gtgccaaata acatcagact atgccagatc 540

tataaactca tcaaacatat acaatttcaa gaaatagttt agacgtatga tcagcagtca 600

gtagcgtggg aacatatgca acatagcgaa gaggcacaac agcaaattca ttcgaaaaaa 660

tgaaaacaaa gattcctctc ttttaactga acttctcgaa acccctttca tgcctacaca 720

tccgatctag tcagatgcct atgcgttcat gctgaacaga acgtgtcaga actaagcata 780

aactggttag caagcattat cgtattcgat agacccttta gtaacaagct atacattggg 840

taagttcaga ctccaatcat tctgttcaga aacatcgtat tgaatataaa actaaagaac 900

acacatgcag gtgcagccag atctaacagc agtttacagt cggtactaaa aaaagcatgg 960

tgtatgtatg tatcatcagt atccagtact aggtttcgac aaaatcctgg atgctaatta 1020

aatactcatc ttattaggga acacaggaac attatgtcta cagcattgaa tgatggccac 1080

atcatgctag atctaacaat acataatatg atggaactgg tcttaaaaag tcgcattcgc 1140

tcaaataata cccgtagcaa aataaatgta aacttgcaga cgaagcgggg gaaatgaggg 1200

cagacctggt gaagacggcg acaagctcat tggggtgggc agagagtgag tcgccaatgc 1260

gctccctgac gctgtggagg cggctcagga cacggtcacc tgcaccttcc cccattgctg 1320

tcctcttcct ggatcctcag gcctgcacag cgaaaccgaa acggaagcgg aagcttcagt 1380

cagcagagaa aactgaaacc gaaaaacggt tcagatccgt tgacataaaa gctgcgatga 1440

catcctaaaa ctaaaacccc tccagcaaga cataaaccca actgccaaca accagtcttt 1500

taagtctcga cacacccttg acgctgcgcc acgaaactat attgcaggca agaaaccaac 1560

agaacctaac tctggaaggg gggaaagaaa cggcagacag gagcaagacc caaaaaaaaa 1620

cgactcagat cctggtacta tagtcctagt acctagacca gaaagaagaa acaaccaata 1680

caacaagagg catacaagaa ctgaatcgat gaactgaaac gcttcagagg accgaggaat 1740

ggcggagaag ggaggcgcct atttatacag atctgacgag agaaccgaac aaaaacacat 1800

cgatgggaac catggagaag aaaagggctg gccgcatggc accaatggcc tcggcctcca 1860

aaaagccgtt gaatccaaag caggcgagga cgaagcgtga cgcggcaggg tacttctcta 1920

gaaaagcacg gcatcagcaa ggtgggggggg ctggggttcc ttattgcagg caatcacgag 1980

gtgattagca caaacggaag 2000

<210> 68
<211> 2000
<212> ADN

<213> Oryza sativa

<400> 68

ctgaaatata catcagagat attacaatga catatatatc gataaaagaa aaataataaa 60

attaagtttt aaattttaag aatatatgtt tttagtatcc caattatgca gatttcatac 120

ccttcttcca caagctgttc cttgaactgc aagtactcgg ggactgtcag caactcaaca 180

gcgagctcgc tcacattgac cctcacatac tcccagacac cgggcctcgg gcggatggca 240

agggcaaccc atggggagat aacaatcccc tcctgcatga taaaaaacaa ttacaagtta 300

agttagagca agcggtagag taaagatgga tctctgtgat gcaatgaaat ctgaatctga 360

ttcaaacctg tgcactcctc aggacatcct caaaagcacc gtccttcagc ttctcacgat 420

cagcctcaga gattgcgttg ttgtactcag caatgatctg gtgggcctga agcattccct 480

ttccgaggtt aaccagcctg cgcaaataac agtgtcaaca aaaatatcag gccagatcta 540

tcaactcagc ctataaatat ctcaataaga taattttagc acttgagcat ttgcgcataa 600

taagaaaatt tgctattagc cacttaaaaa gaccatatat gatctgtttg cattgagatg 660

aattaaaaat ttcattgtag atatgaaatg attagttttg accatttaat tggacttaat 720

gaaatatgcg cgataatcag atctacgcgc tcgcgccaat agatctagta agatgtaggt 780

tttttatttt ttttgtgaaa ctttgctacc acaacaagca tctgtaccag tgcagaattc 840

attacttgta ttcagtttgt aaaccgtata tataatataa ataacatgca catgcagtca 900

gatctagcac taccagtcca cagtaatcca aaactacatt tgtatatttc atcattattc 960

agtagtacta ggtttgtaca aaatcttggc tgcagaaggc cgcacttaaa tattcattct 1020

aatcagaaac ttaaaaaaaa agtgactaca aaatgattgc atccaattca gtaaatatga 1080

gccattcctg gccagatcta acaatctcaa caacaaagat cctatatgaa catctccttc 1140

taaaagaaaa tacagtaaca tctgaaggca gtagactaga aaccaacaaa atctaatgct 1200

gggaaatcac taaatcagca cgaacctggt gaagacggcg acgagctcat tggggtgggc 1260

ggagagggag tcgccgatgc gctccctgac gctgtggagg cggctcagga cgcggtcgcc 1320

ggcagcttcc cccattgctc tcctcttcct cttggctcct caagcctgcg tgcacaacca 1380

accaccatca tcagatacat ccagacccag tcaacacaat cactccagga aaaaaaaaag 1440

tcaagccata aaccccaacc aaaaaccacg cctttgacaa acactggaag aaaaagaaaa 1500

tcgcagcttt ttcacaagca atctagaaga aaagaaaaag aaaagactac atagcagcta 1560

taattgactg agaagcatac aggaatcaaa caatggagaa ggggagggag gaagaacaat 1620

gatgctccag gctgaggacc gaggaactgg gtgaagcggg gtaggcgcgt atttatgcag 1680

atctgaggag agaaaccacc aaaacaatcc gatggtttca acgaaaaaga tcgtcgcttc 1740

aagaaccagc tttatcaaat ggatttgttg ggttttagta agtatcattg agataccgat 1320

ggcatatctc aaactttgca aaattataat ggcatggttc caaattaccc tttagtatta 1380

gcaccagtta gatcctaatt cctaaatccg ataggacaga gcgaaagatc cctggagata 1440

tgaagatttg gctacagatt aagcagagcc aacatgaagt tccgaatatt atgaatccgc 1500

aagcggggag atcaaagaga agaatacgga aggtcgcgac tccatgaaag aatccaacca 1560

aaaacccaaa gatttttctc agttcaaaaa aaaaaaaccc ttcatttttg gttcgccatc 1620

caccgacagg caccaagaca ttcctcagga agcaaaaaag attaagcaga acaagtgata 1680

agcaagacac agtatcaacg gactacgagt cgagaaaatc actgaggcgc gattcttact 1740

gcaccaagta aaaaaaaatt tgggggcaaa aagaactctg caatggggcg gagcaacgtg 1800

gcagcaaaac taaaggtcga ggatttgagg ttttttgccg gttttcctcg aaaccccgaa 1860

tccgctcata gtaaacccac taaactgcag cagaaacccc cctcttggtt cagatttacc 1920

gaaagcagta aacccaagaa catgtcagca aaaactcctg caagattcag ctgacgaccc 1980

accaaagaat cgcaagaaat 2000

<210> 70
<211> 2000
<212> ADN
<213> Oryza sativa

<400> 70
tggcggacgc gccacgcaca aacacaaacc tgcacacccc tgtgtcagag gaggagaggc 60

caagaaagga aatcgagtgg aggaagtgag gagcggcgga gacgtaggag gaggaggggg 120

agatggaaat ggaaagccgc gcgagagagg aggcgcgtgc tggatgggag gaggaggagg 180

aggtggtggg tttgtgtttg gagagacgag cgagagaggc gaagcattta aagggaggaa 240

gaggggggaga gagagagaga gagagagaga gagagagaga gagagagaaa ggaggaatat 300

aataaagggt ggtgcacctg ccaactgcta tgctcaccaa cactttgtac acacccagtt 360

acacccccct gcctttatta tttccagtgc agtaataact tcaacaatta ttgaaatgaa 420

aatggaatta atggagttag tatcggatta gcgacacgct tgccgagctt ctagacggtg 480

cgattatttc agcgggaacg actttctgta ggtgaattta atagaggagt gttttaaatc 540

cactcgacgt tgtaatagct ggtttaattc gtttgtactg tcgagtagtt atccaaaatc 600

aattttggat atttaaaaga aaaaaaaaca gatccgaagt attggaccta ctggcaaata 660

ggaattttgc tatatatagg tgtgcgttca tttataatgg agtagcatgg agttttatta 720

atccagtaaa tgttttcatt gatttaatta atataacgaa tttcgcttga ggccatattt 780

gttaaacgct tttatctcta tcatcattca tcctaccagt aaagagcacc ggagatcgca 840

ttgctgcacc agctcaccca tagccgttga gatcgaagct aagctagcag cagcaaagct 1800

ggaacgaaga gtgacgcatt caagctcctc tcctctcctc tcctctcctc cggagcacga 1860

ggccagcatg ggatggattg gggtttcttg ttggccatgg caaaggagga ggtcattaac 1920

gttgacacgg cgtaatttaa ttaaatctta tcttaaaata tgatttaagt ggtagtaaca 1980

aggaagatta atactatgaa 2000

<210> 69
<211> 2000
<212> ADN
<213> Oryza sativa

<400> 69
gctgtttaag aaaaacagaa gtaaaattca gtcactgtta ttttgcttca gttataatct 60

gcaaatcgtc gttctggtac ttactgtcca tcaacaagct gttccttgaa tgccaagtac 120

tcagaaacac tcagctcttc cactgccaac tcacttacat tcacccgaat gtagtcccag 180

acaccaggcc ttggcctgat ggccagtgca acccagggcg gcagcacaat ggcttcctac 240

atacagtcaa ggaagtaagt tagaaagact ggtatttgac tttgagttga ctatcataac 300

catcctggct cattgccaaa tttacctgag cagcccggag aatgtcttca aagggagcat 360

atttctcttt gtcagcttcg atcaaggcat cgaactccgc aagcagctgg tgacgctgga 420

gcattccctt tccctggtta acatacctgc atagagtgat atttaagaaa tagaaccaat 480

gcttagatct cacatccttt ctgcggctga actatgttaa tggcactacc acataaacct 540

gatttttact tcttattttt aagaccacat gatctgtact taatctagct atgaacaaac 600

aatatttcaa catcatctaa gattcatgac tcaagacaaa aatgttagag ctcatcacag 660

attattatag ataccatcat taaaactaaa gagatgcata accttgtcag ctaagaattt 720

gtaacatact aacatgttat cgtttcacat ctgggttgac taagaactaa ccaactgtat 780

ggataaaatc attgaaaact caaaacaatt agtagcaggt tccaagaaga cacaagatat 840

tatattgaga tcttcaccta gagaagagtg caatcaactc attgggatga gacgagaagg 900

tggcaccgag gcgttcgcgg agactgtgga ggcgagctag cttggcagcc atgactcaat 960

ttcaggaact gcaaagaaag gttacactta gcaacacgta ccaaaaccac tcacttgcac 1020

aagaataatt agtcaacagc catcactaag cattgcaaga ctatctctga acaggaaagc 1080

catgctaaat caacactaat aacatcacac aaaagcattg gaagatcaaa acataactaa 1140

aaacagctgt ttcatctaca caactgaaag catctatggt ttacgaagca gagtgcgagt 1200

actgattcaa aataaatcaa cctgaaccaa tatactctga caatgttttc aaagggataa 1260

cttcatttaa atatatgtcc atgttggata aaccatagtt tattatagtg ttcttttata 900

tgttttgtgg ggaatttaga ttgtttaata tggcatacat atccatccat cattattata 960

ttctaacaca actggataag tgttctaaac tattgtagaa taactttgta gtatgatcga 1020

tcttgtggaa taaaaaaagt ctgacaataa cctttcataa aggaatatga atacccgtaa 1080

tcaacgcatc aaatcattca cggtgtacgc ctagcgaatt cgttggcgag tgctcgtgcg 1140

gccgtgggct cgctgtgatg catgcatggc tctctggcta cgtcgagata gcgattagta 1200

gcaaaattaa gcaagccact tattaattaa tctttggaga tatcatatga ttaaggcatt 1260

aattcgtacg tactcgtcgt cagcgttttc tgcaaagtcc actacagttt tttctttctt 1320

tgctgaaaat gctgatgtgt tggagatgga gtgacgtgca caacctgccg ccacgtggat 1380

ggttgctgga gcctacgtgt catcttaatt tgaacaaaaa aaaaagagga ataatacatc 1440

aatacatttt cgaatttcag ttctgccatt gaccagtaat acacatgtcg gcctcacatt 1500

ttaccctgat cttagtaacg ggtggtcgcc tggtcggtca ctgaaaaaag ttcaggaaat 1560

tatagtcaaa ctgaaacgaa catattcact ccttaaaaaa actaaatctt tttatatatt 1620

tgtgatattg taaaatagct acgggataat gatatagata tatatagtga taagggatag 1680

atggatcgag atatggagtt gtgctttctt taatttccac tacttgggct accatattat 1740

ggtagttggt atgaaaagat acacagcagt atagtgatgt gatcaatgac atgtatatct 1800

cacatgctcc catgttggag tcaaattttg ctagactaaa atccaattcc aagcagtccc 1860

tagccaagaa caaacaaaat tcagtgaggt cactgctgca ccaaggactg catgcatgca 1920

ggagaagggc attttctctt ttttcttttg gagactcgat tcaattcggt cggtcggtcg 1980

caatggtcag cttaattaaa 2000

<210> 71
<211> 2000
<212> ADN
<213> Oryza sativa

<400> 71
tgtgaaaggt ggcggcacca gcttagccgc agcttctctc gtcgtctccc tgaaacgaga 60

gggaggaagt tggtagcgtg atatatttag gcatgtcatc tcttgtataa gaagtcttat 120

ctgtgctaat tcacacggtt ctctaatctc tctccattct gtttttgtaa attggttcag 180

tagatagcgt agggttatgc ttatatatac tccgtgaagt atatatttaa aaattagtca 240

cacgtaaagt actatacatg ttttatcgtc taataacaat aaaaacacta atcataaaat 300

ttttttaaat aatacgaatg gttaaacgtt gaatatgaac cgtgcaaaac tatatttatt 360

ttgtaacaga gaaaatattt cacattaatt agattgttgt tttatggaag gttggagagc 420

tgcgccgccg ttgcgcagac ctaggaggct gcttataagt tataatcaat caattcacgg 480

atgccggctg ggacgcggcc catcgtccgg gaagacgaca actcaacgca aaaagccgat 540

atgcctccaa attgccattg ccacctctac ggctgtttat actgctccaa atcaaaagcg 600

tccatggaag aatctagtat ttcccgcaaa gacgatgatg atatgcagga ttggatatat 660

aggggttgt tgcatgattg ctagaactcc cgtttccgaa gttgttcgtc catttttaaa 720

gctgccaaat aggaatttat tttgttttca agtgtaatag agttctgtcc agatgagtga 780

attataattt ggttcacatt ttatttgcta agtttcagtt tgaacattct caaataactt 840

ttttcttcac tttttaaccg agtaacttag ttatttttttc cgtttggacc acccaacaat 900

ttgttgctaa gtgcatctca cccgtcaaat aattcctttg aatccaaatt caattatatc 960

ccaaaaataa aaaacttctg aattccacat caattcaaac cccaaccatt ttaatttctc 1020

tccatatttt ccatttctct atttttacct ttctcttttt tccatctatt tatttttttc 1080

cttttctatt tctttctttc tccttccttt ctctgtttcc ttcttcttct cctcggctag 1140

gcccgagcca gcccgtgccg cctcgcgcca accctgtgcc gccttacgcc gcgcttgcgt 1200

gcgctcgcgc ccacctcgtg cccaacccgc gcacgccaca cgcacacacg aggacgatcg 1260

acggacgaat gcaatcatat ccccttcctt actcagctag aaggctcaag aaccgcaact 1320

ttgatctctt ccaccctctc aaatccgccc caacccctgc tgactcaatc gccattaccg 1380

gaggaaaaat ccccgaaacc ctattaccgg cgccactaac agagctccaa aattcgtcgc 1440

ataattcgaa aatattctga aattgaaggt aaaaatggaa tctacatgcg aagtactccc 1500

tttcccctcc aatccgtcac tggaacgccg ccggcgccgc ctcccgctgc cactgccctg 1560

tttggccgcc gacagccgca cggcgcgccg ctgctccagg ccgccctagc ttcaaccacc 1620

gccacctttg gctccgcctc cctcctctta tgctcaccaa gcccgcctcc ctcgccggag 1680

atcgccggaa ccaccgccgc catggccgcc accgcctcct gcttctggcc gccgccgcca 1740

gcctcgccac cggcgcctat gccaccgccg accacggaaa cggagtccct acaccttggg 1800

gaccacaaaa ccggcggcat ccctcccaaa accggcctcc tccaccgccg gcgttcgtgg 1860

gattccggcc agttctgtgc agagcgagag aagaagagga aaaatagatt ttcctattga 1920

aagataaatc agaaaattcc tttttctttt cctatcaagt tgaccatccg tttgacctca 1980

aaatcaaaat ctgagaccta 2000

<210> 72
<211> 786
<212> ADN

<213> Zea mays

<400> 72
gacatggagg tggaaggcct gacgtagata gagaagatgc tcttagcttt cattgtcttt 60

cttttgtagt catctgattt acctctctcg tttatacaac tggtttttta aacactcctt 120

aacttttcaa attgtctctt tctttaccct agactagata attttaatgg tgattttgct 180

aatgtggcgc catgttagat agaggtaaaa tgaactagtt aaaagctcag agtgataaat 240

caggctctca aaaattcata aactgttttt taaatatcca aatattttta catggaaaat 300

aataaaattt agtttagtat taaaaaattc agttgaatat agttttgtct tcaaaaatta 360

tgaaactgat cttaattatt tttccttaaa accgtgctct atctttgatg tctagtttga 420

gacgattata taatttttt tgtgcttaac tacgacgagc tgaagtacgt agaaatacta 480

gtggagtcgt gccgcgtgtg cctgtagcca ctcgtacgct acagcccaag cgctagagcc 540

caagaggccg gaggtggaag gcgtcgcggc actatagcca ctcgccgcaa gagcccaaga 600

gaccggagct ggaaggatga gggtctgggt gttcacgaat tgcctggagg caggaggctc 660

gtcgtccgga gccacaggcg tggagacgtc cgggataagg tgagcagccg ctgcgatagg 720

ggcgcgtgtg aaccccgtcg cgccccacgg atggtataag aataaaggca ttccgcgtgc 780

aggatt 786

<210> 73
<211> 1160
<212> ADN
<213> Zea mays

<400> 73
atgtgctggt gccccataag gtaggcacct aggtctgtgt ttgaagcatc gacagatttg 60

taaacatgtt cctatgaacc tatttctgat tgataatttg tcaaaactca tcatttgtct 120

tcatccttgc ctgcttgcgt tcacgtgaca aagtacgtgt atgtcttcgg cctttgctgt 180

gtatgtttcg cattgcttag atgtggtgaa agaacatcag aagatgcatt gatggcgtgc 240

ttaaaccagt gatgtgctcc aggtgttcct gcagtctgca gagatattta ctcttgtagt 300

cttgttgaca gcacagttgt atgtgatttc ttggatgtaa tgtaaaccaa atgaaagata 360

ggaacagttc gtcctcttcc gtatacgaag gtcactgtat catttgtcgt ggcacaagat 420

gatctgcagg caggactgca acatggtttc ttggactgtc ctgaatgccc gttcttgttc 480

tttagttgag ccagagcagc agcctggtgt cggtgcctga gacctgacga agcacacggc 540

aaacaaacaa gtcgcagcag ctagcagggg cgttgccatc gccacaagcc cccaagagac 600

ccgccgagga aaagaaaaaa aaactacggc cgccgttgcc aagccgagcg tgcgaaccga 660

tccacggatg ggagatcaga gatcacccac cgcaggcggg cggcagtggc tggcgaggtg 720

cgtccacaga acctgctgca ggtccctgtc cgtcccggcg acccctttc taggcgagca 780

actccccatg gcagagctgc acgcagcagg gcccgtcgtt ggttgcagct ttaacccttt 840

ttgttttaac catacaatgc agagtcgcag aggtgaaaca ggacggaaat tacagaaaag 900

atggtggtgt gccagcagcc ccagcatgaa gaagatcagg acaaaagaaa agcttgtgat 960

tggtgacagc aacaggattg gattggagcc aagctaggca gtgagaggca ggcagcaaga 1020

cgcgtcagcc actgaaatcc agagggcaac ctcggcctca caactcatat ccccttgtgc 1080

tgttgcgcgc cgtggttagc caggtgtgct gcaggcctcc tccttgttta tatatgggag 1140

atgctctcac cctctaaggt 1160

<210> 74
<211> 1532
<212> ADN
<213> Oryza sativa

<400> 74
tagtcctcta atatatgaaa ttttgatata ggtaaagaag ggtattgcaa ggataagaat 60

gtaaaaagaa ataagagtaa tccttaccga taatagtatt ccttctctac cgttaaaagt 120

taaacctgtg cgtgtagcat tttaatccag gatctatcga atccgtccct cgttggcgtg 180

ggcgacgaac acgtgcagaa gaagctttcc ccagaaagca cctcaccgcc tcgccgtctg 240

gcagactggc acgcggggcc ctaccctcgc tgcgcctggg cccgtccgcc ttctgcacac 300

tgtcacgccc ccacccgctc gccgcctcgc gcctctctct ccgcctccgc cgcggccgcc 360

cgacgtgata gcgacacgta ggactcgcca aacacaaaaa atccatcgcg atttttggaa 420

ttttgttaca aaccaaatcc cgcattagag atttaatttg atttaattta attacgtagg 480

agtaccagat aaggagatcg agttaaaaaa gctaacggcg cggcgtggtt atctccgaat 540

cggctgtggc tccccgcgtc ggcgtcggcg cggcggcggc gcgccggccg aaccctggcc 600

gtcggatcgg gcgtcgtcct gggccccacg cgccacgggc ggctgtcgtt tgctcctcgg 660

agcggggtgg gcccaccatg gccaccacca caggtcgcgg tcgcggctga cctggcggtg 720

gtcccgtgct cgcggtgttt ttttttttc actctctttc tctcggtgga cagtagcggg 780

ggccgcggcc cgcgggggca gagattgcaa aaacagcgga aacggaagat tgcaaaattg 840

caactgcttt cctgttttta attcgggatc aaaaagattc tttcgtcggg gtccccgtgc 900

cattgttgta ttgcgcgtag gtccttgctt gtaaaagata atctccttaa ttttttcttt 960

gtactactag tgtatatgca gtaagaatat accatgagta aaatgaacca caaaactaat 1020

tacgatatac cattctcatg tagacgttct cttttctttt gctagtcata cgtgcatata 1080

taaccaaaca aaaaaatgtt tgaagtactc ctatccaatt tattactcca gtagacaaca 1140

aaagaaaatg tttgaagtaa taactgatcc atggtacagt agggttgtcg tcaatcttgt 1200

gtttctttca ttccattgta cttacaatcg tactccagct agcacagcac aatgggctta 1260

agctttggac cccaaattct gatcttgtcg gggacccgta cgaaaatact cccgtagaga 1320

tgcagatacc gtcacaacct acaaccaacg aatgttaaga aaacaaaggg aaaaaaaaag 1380

aggcgaattc ggaggagaaa aaacggtggc taaaatatag tgcgggtgtg gggacgcgac 1440

gcgagcgacg aaagaggaga gaggatgggt tggcctgccc ccccctcccc tgtctataaa 1500

tgcagaggcg ccgagtgccc tagtcgccgc tc 1532

<210> 75
<211> 841
<212> ADN
<213> Oryza sativa

<400> 75
tcgaggtcat tcatatgctt gagaagagag tcgggatagt ccaaaataaa acaaaggtaa 60

gattacctgg tcaaaagtga aaacatcagt taaaaggtgg tataaagtaa aatatcggta 120

ataaaaggtg gcccaaagtg aaatttactc ttttctacta ttataaaaat tgaggatgtt 180

tttgtcggta ctttgatacg tcatttttgt atgaattggt ttttaagttt attcgctttt 240

ggaaatgcat atctgtattt gagtcgggtt ttaagttcgt ttgcttttgt aaatacagag 300

ggatttgtat aagaaatatc tttagaaaaa cccatatgct aatttgacat aatttttgag 360

aaaaatatat attcaggcga attctcacaa tgaacaataa taagattaaa atagctttcc 420

cccgttgcag cgcatgggta ttttttctag taaaaataaa agataaactt agactcaaaa 480

catttacaaa aacaacccct aaagttccta aagcccaaag tgctatccac gatccatagc 540

aagcccagcc caacccaacc caacccaacc caccccagtc cagccaactg gacaatagtc 600

tccacacccc cccactatca ccgtgagttg tccgcacgca ccgcacgtct cgcagccaaa 660

aaaaaaaaga aagaaaaaaa agaaaaagaa aaaacagcag gtgggtccgg gtcgtggggg 720

ccggaaacgc gaggaggatc gcgagccagc gacgaggccg gccctccctc cgcttccaaa 780

gaaacgcccc ccatcgccac tatatacata ccccccccctc tcctcccatc cccccaaccc 840

t 841

<210> 76
<211> 1392
<212> ADN
<213> Oryza sativa

<400> 76
ctcgaggtca ttcatatgct tgagaagaga gtcgggatag tccaaaataa aacaaaggta 60

agattacctg gtcaaaagtg aaaacatcag ttaaaaggtg gtataagtaa aatatcggta 120

ataaaaggtg gcccaaagtg aaatttactc ttttctacta ttataaaaat tgaggatgtt 180

ttgtcggtac tttgatacgt cattttgta tgaattggtt tttaagttta ttcgcgattt 240

tggaaatgca tatctgtatt tgagtcgggt tttaagttcg tttgcttttg taaatacaga 300

gggatttgta taagaaatat ctttaaaaaa acccatatgc taatttgaca taatttttga 360

gaaaaatata tattcaggcg aattctcaca atgaacaata ataagattaa aatagcttgc 420

ccccgttgca gcgatgggta ttttttctag taaaataaaa gataaactta gactcaaaac 480

atttacaaaa acaaccccta aagtcctaaa gcccaaagtg ctatgcacga tccatagcaa 540

gcccagccca acccaaccca acccaaccca ccccagtgca gccaactggc aaatagtctc 600

cacaccccgg cactatcacc gtgagttgtc cgcaccaccg cacgtctcgc agccaaaaaa 660

aaaaaaagaa agaaaaaaaa gaaaaagaaa aaacagcagg tgggtccggg tcgtgggggc 720

cggaaaagcg aggaggatcg cgagcagcga cgaggccggc cctccctccg cttccaaaga 780

aacgcccccc atcgccacta tatacatacc ccccccctctc ctcccatccc cccaacccta 840

ccaccaccac caccaccacc tcctcccccc tcgctgccgg acgacgagct cctcccccct 900

ccccctccgc cgccgccggt aaccaccccg cgtccctctc ctctttcttt ctccgttttt 960

tttttccgtc tcgtctcgat ctttggcctt ggtagtttgg gggcgagagg cggcttcgtc 1020

gcccagatcg gtgcgcggga ggggcgggat ctcgcggctg ggtctcggcg tgcggccgga 1080

tcctcgcggg gaatggggct ctcggatgta gatctgatcc gccgttgttg ggggagatga 1140

tggggcgttt aaaatttcgc catgctaaac aagatcagga agaggggaaa agggcactat 1200

ggtttatatt tttatatatt tctgctgctg ctcgtcaggc ttagatgtgc tagatctttc 1260

tttcttcttt ttgtgggtag aatttgaatc cctcagcatt gttcatcggt agtttttctt 1320

ttcatgattt gtgacaaatg cagcctcgtg cggagctttt ttgtaggtag aagatggctg 1380

acgccgagga ta 1392

<210> 77
<211> 743
<212> ADN
<213> Oryza sativa

<400> 77
gaattcccgg acctccatgc ctacatcaac taatttgatt ccttgagttt acgtttagtg 60

atatgtctat ttttagagct tgttggggct tcggcctcag ctctagccag ccaaacatgt 120

tctaccaagt accctatgtt ggcatgatat agtgatgcat tataacaata aatgagcgag 180

ggattgctgg ctgaaaaagc tatactagct gcatttggtt atagttaacc gaactattaa 240

ttgcgtgtac aacaaaataa aaaaaatgca tgttgcacat tctttcatta acattatgtt 300

ttggtagtgt gaattagaaa tttgattgac agtagatcga caaacatagt ttcaatatgc 360

ttaagttagt tatgacttta acatatcagt ctccttgata ttttcgtttt agattcgtct 420

ctctactagt gtgtatgtcc accttccata gcagtgaagg gttccattcc atccctggta 480

aaaaaaaatc aaccactact atttatttcc taaaaagcaa aatgataaaa tatcattttt 540

ttaataaaaa taaaaaaatt ttggggtaca taattgatgt tgccccttgg gattaacctt 600

aaaaaagggc gaattttcta gggtttggcc aagttttgca atgcaccaaa ttattccccc 660

tgggccggcc gccaccccaa aaaaaacccc aacccccaac tttccattga aggccgggcc 720

cccttaaatc ctcatccccc caa 743

<210> 78
<211> 144
<212> ADN
<213> Oryza sativa

<400> 78
taaaaaaggg cgaattttct agggtttggc caagttttgc aatgcaccaa attattcccc 60

ttgggccggc cgccacccca aaaaaaaccc caacccccaa ctttccattg aaggccgggc 120

ccccttaaat cctcatcccc ccaa 144

<210> 79
<211> 612
<212> ADN
<213> Cauliflower mosaic virus

<400> 79
ggtccgattg agacttttca acaaagggta atatccggaa acctcctcgg attccattgc 60

ccagctatct gtcactttat tgtgaagata gtggaaaagg aaggtggctc ctacaaatgc 120

catcattgcg ataaaggaaa ggccatcgtt gaagatgcct ctgccgacag tggtcccaaa 180

gatggacccc cacccacgag gagcatcgtg gaaaaagaag acgttccaac cacgtcttca 240

aagcaagtgg attgatgtga tggtccgatt gagacttttc aacaaagggt aatatccgga 300

aacctcctcg gattccattg cccagctatc tgtcacttta ttgtgaagat agtggaaaag 360

gaaggtggct cctacaaatg ccatcattgc gataaaggaa aggccatcgt tgaagatgcc 420

tctgccgaca gtggtcccaa agatggaccc ccacccacga ggagcatcgt ggaaaaagaa 480

gacgttccaa ccacgtcttc aaagcaagtg gattgatgtg atatctccac tgacgtaagg 540

gatgacgcac aatcccacta tccttcgcaa gacccttcct ctatataagg aagttcattt 600

catttggaga gg 612

<210> 80
<211> 837
<212> ADN
<213> Coix lacryma-jobi

<400> 80
agcagactcg cattatcgat ggagctctac caaactggcc ctaggcatta acctaccatg 60

gatcacatcg taaaaaaaaa accctaccat ggatcctatc tgttttcttt ttgccctgaa 120

agagtgaagt catcatcata tttaccatgg cgcgcgtagg agcgcttcgt cgaagaccca 180

taggggggcg gtactcgcac cgtggttgtt tcctgttatg taatatcgga tgggggagca 240

gtcggctagg ttggtcccat cggtactggt cgtcccctag tgcgctagat gcgcgatgtt 300

tgtcctcaaa aactcttttc ttcttaataa caatcatacg caaatttttt gcgtattcga 360

gaaaaaaaga agattctatc tgtttttttt ttgaaatggc tccaatttat aggaggagcc 420

cgtttaacgg cgtcgacaaa tctaacggac accaaccagc gaatgagcga acccaccagc 480

gccaagctag ccaagcgaag cagacggccg agacgctgac acccttgcct tggcgcggca 540

tctccgtcgc tggctcgctg gctctggccc cttcgcgaga gttccggtcc acctccacct 600

gtgtcggttt ccaactccgt tccgccttcg cgtgggactt gttccgttca tccgttggcg 660

gcatccggaa attgcgtggc gtagagcacg gggccctcct ctcacacggc acggaaccgt 720

cacgagctca cggcaccggc agcacggcgg ggattccttc cccaccaccg ctccttccct 780

ttcccttcct cgcccgccat cataaatagc cacccctccc agcttccttc gccacat 837

<210> 81
<211> 947
<212> ADN
<213> Oryza sativa

<400> 81
aatccgaaaa gtttctgcac cgttttcacg tcctaactaa caatataggg aacgtgtgct 60

aaatataaaa tgagacctta tatatgtagc gctgataact agaactatgt aagaaaaact 120

catccaccta ctttagtggc aatcgggcta aataaaaaag agtcgctaca ctagtttcgt 180

tttccttagt aattaagtgg gaaaatgaaa tcattattgc ttagaatata cgttcacatc 240

tctgtcatga agttaaatta ttcgaggtag ccataattgt catcaaactc ttcttgaata 300

aaaaaatctt tctagctgaa ctcaatgggt aaagagagat attttttttt aaaaaaaaat 360

agaatgaaga tattctgaac gtatcggcaa agatttaaac atataattat ataattttat 420

agtttgtgca ttcgttatat cgcacgtcat taaggacatg tcttactcca tctcaatttt 480

tatttagtaa ttaaagacaa ttgacttatt tttattattt atctttttc gattagatgc 540

aaggtactta cgcacacact ttgtgctcat gtgcatgtgt gagtgcacct cctcaataca 600

cgttcaacta gcgacacatc tccaatatca ctcgcctatt taatacattt aggtagcaat 660

atctgaattc aagcactcca ccatcaccag accactttta ataatatcta aaatacaaaa 720

aataatttta cagaatagca tgaaaagtat gaaacgaact atttaggttt ttcacataca 780

aaaaaaaaaa gaattttgct cgtgcgcgag cgccaatctc ccatattggg cacacaggca 840

acaacagagt ggctgcccac agaacaaccc acaaaaaacg atgatctaac ggaggacagc 900

aagtccgcaa caacctttta acagcaggct ttgcggccag gagagag 947

<210> 82
<211> 721
<212> ADN
<213> Mirabilis mosaic caulimovirus

<400> 82
tggagattca gaaaaatctc catcaacaaa taatccaagt aaggattaat ggattgatca 60

acatccttac cgctatgggt aagattgatg aaaagtcaaa aacaaaaatc aattatgcac 120

accagcatgt gttgatcacc agctattgtg ggacaccaat ttcgtccaca gacatcaaca 180

tcttatcgtc ctttgaagat aagataataa tgttgaagat aagagtggga gccaccacta 240

aaacattgct ttgtcaaaag ctaaaaaaga tgatgcccga cagccacttg tgtgaagcat 300

gtgaagccgg tccctccact aagaaaatta gtgaagcatc ttccagtggt ccctccactc 360

acagctcaat cagtgagcaa caggacgaag gaaatgacgt aagccatgac gtctaatccc 420

acaagaattt ccttatataa ggaacacaaa tcagaaggaa gagatcaatc gaaatcaaaa 480

tcggaatcga aatcaaaatc ggaatcgaaa tctctcatct ctctctacct tctctctaaa 540

aaacacttag atgtgtgagt aatcacccac ttggggttgt aatatgtagt agtaaataag 600

ggaaccttag ggtataccat tgttgtaata ttattttcag tatcaataaa ataatctttc 660

agtttatctt atattcattt gtgtgacacc gtattcccat aaaaccgatc ctaatctctc 720

c 721

<210> 83
<211> 352
<212> ADN
<213> Peanut chlorotic streak caulimovirus

<400> 83
acagagggat ttctctgaag atcatgtttg ccagctatgc gaacaatcat cgggagatct 60

tgagccaatc aaagaggagt gatgtagacc taaagcaata atggagccat gacgtaaggg 120

cttacgccat tacgaaataa ttaaaggctg atgtgacctg tcggtctctc agaaccttta 180

ctttttatat ttggcgtgta tttttaaatt tccacggcaa tgacgatgtg acctgtgcat 240

ccgctttgcc tataaataag ttttagtttg tattgatcga cacgatcgag aagacacggc 300

catttggacg atcatttgag agtctaaaag aacgagtctt gtaatatgtt tt 352

<210> 84
<211> 1648
<212> ADN
<213> Sorghum bicolor

<400> 84
cactcgcaca tctcatggtg tcccaagaac ggcaagagcc agcactgcct ctgcctagca 60

acagcagcag cgccaagcga gcagccgcgt ccatggacgc cagcagcccg gccccgccgc 120

tcctcctccg cgcccccact cccagtccca gcattgacct ccccgctgcc gctggcaagg 180

ccgcggccgt gttcgacctg cggcgggagc ccaagatccc ggcgccattc ctgtggccgc 240

acgaggaggc gcgcccgacc tcggccgcgg agctggaggt tccggtggtg gacgtgggcg 300

tgctgcgcaa tggcgaccgc gcggggctgc ggcgcgccgc ggcgcaggtg gcctcggcgt 360

gcgcgacgca cgggttcttc caggtgtgcg ggcacggcgt ggacgcggcc ctggggcgcg 420

ccgcgctgga cggcgccagc gacttcttcc ggctgccgct ggccgacaag cagcgcgccc 480

ggcgcgtccc cggcaccgtg tccgggtaca cgagcgcgca cgccgaccgg ttcgcgtcca 540

agctcccctg gaaggagacc ctgtccttcg gcttccacga cggcgccgcg tcgcccgtcg 600

tcgtggacta cttcaccggc accctcggcc aagatttcga gccaatgggg cgggtgtacc 660

agaggtactg cgagaagatg aaggagctgt cgctgacgat catggagctg ctggagctga 720

gcctgggcgt ggagcgcggc tactaccggg agttcttcga ggacagccgc tccatcatgc 780

ggtgcaacta ctacccgccg tgcccggagc cggagcgcac gctgggcacg ggcccgcact 840

gcgaccctac ggcgctgacc atcctcctgc aggacgacgt cggcgggctg gaggtgctgg 900

tggacggcga gtggcgcccc gtccggcccg tcccaggcgc catggtcatc aacatcggcg 960

acaccttcat ggcgctgtcg aacgggcggt acaagagctg cctgcaccgc gcggtggtga 1020

accagcggca ggagcggcgg tcgctggcct tcttcctgtg cccgcgcgag gaccgggtgg 1080

tgcggccgcc ggccagcagc gccacgccgc ggcagtaccc ggacttcacc tgggccgacc 1140

tcatgcgctt cacgcagcgc cactaccgcg ccgacacccg cacgctggac gccttcaccc 1200

gctggctctc ccacggccca gtcccagccc aggaggcggc ggctccctgc acctagcgag 1260

cgagcgagcc gggccaaaca aacaaggggc aaaggccatc tctttcgccg gggcccgcgc 1320

gcggggttcg cccacgtgcg cgcccaggtg ggcgctggcc gcgggcaggt ggcggacatg 1380

tggcctgcgg gccccgcgcc gccttcccat ttttggacgc tgccgcgcat gccgcatgcg 1440

tgcgtcgacg gccctactac ttctactact gctactgcga ctactagtgt acatacgcaa 1500

aaatacatat atacgtattt tctatatata tatatataag caaggcggcc ccccggtgac 1560

cttttctttg tttttgtcga caactgtgtt ttgatcccat tctagctgtt ctatggacca 1620

tggatggttc gttcaatgtt tgtacgta 1648

<210> 85
<211> 1242
<212> ADN
<213> Sorghum bicolor

<400> 85
atggtgtccc aagaacggca agagccagca ctgcctctgc ctagcaacag cagcagcgcc 60

aagcgagcag ccgcgtccat ggacgccagc agcccggccc cgccgctcct cctccgcgcc 120

cccactccca gtcccagcat tgacctcccc gctgccgctg gcaaggccgc ggccgtgttc 180

gacctgcggc gggagcccaa gatcccggcg ccattcctgt ggccgcacga ggaggcgcgc 240

ccgacctcgg ccgcggagct ggaggttccg gtggtggacg tgggcgtgct gcgcaatggc 300

gaccgcgcgg ggctgcggcg cgccgcggcg caggtggcct cggcgtgcgc gacgcacggg 360

ttcttccagg tgtgcgggca cggcgtggac gcggccctgg ggcgcgccgc gctggacggc 420

gccagcgact tcttccggct gccgctggcc gacaagcagc gcgcccggcg cgtccccggc 480

accgtgtccg ggtacacgag cgcgcacgcc gaccggttcg cgtccaagct cccctggaag 540

gagaccctgt ccttcggctt ccacgacggc gccgcgtcgc ccgtcgtcgt ggactacttc 600

accggcaccc tcggccaaga tttcgagcca atggggcggg tgtaccagag gtactgcgag 660

aagatgaagg agctgtcgct gacgatcatg gagctgctgg agctgagcct gggcgtggag 720

cgcggctact accgggagtt cttcgaggac agccgctcca tcatgcggtg caactactac 780

ccgccgtgcc cggagccgga gcgcacgctg ggcacgggcc cgcactgcga ccctacggcg 840

ctgaccatcc tcctgcagga cgacgtcggc gggctggagg tgctggtgga cggcgagtgg 900

cgccccgtcc ggcccgtccc aggcgccatg gtcatcaaca tcggcgacac cttcatggcg 960

ctgtcgaacg ggcggtacaa gagctgcctg caccgcgcgg tggtgaacca gcggcaggag 1020

cggcggtcgc tggccttctt cctgtgcccg cgcgaggacc gggtggtgcg gccgccggcc 1080

agcagcgcca cgccgcggca gtacccggac ttcacctggg ccgacctcat gcgcttcacg 1140

cagcgccact accgcgccga cacccgcacg ctggacgcct tcacccgctg gctctcccac 1200

ggcccagtcc cagcccagga ggcggcggct ccctgcacct ag 1242

<210> 86
<211> 413
<212> PRT
<213> Sorghum bicolor

<400> 86

Met Val Ser Gln Glu Arg Gln Glu Pro Ala Leu Pro Leu Pro Ser Asn
1 5 10 15

Ser Ser Ser Ala Lys Arg Ala Ala Ala Ser Met Asp Ala Ser Ser Pro
20 25 30

Ala Pro Pro Leu Leu Leu Arg Ala Pro Thr Pro Ser Pro Ser Ile Asp
35 40 45

Leu Pro Ala Ala Ala Gly Lys Ala Ala Ala Val Phe Asp Leu Arg Arg
50 55 60

Glu Pro Lys Ile Pro Ala Pro Phe Leu Trp Pro His Glu Glu Ala Arg
65 70 75 80

Pro Thr Ser Ala Ala Glu Leu Glu Val Pro Val Val Asp Val Gly Val
85 90 95

Leu Arg Asn Gly Asp Arg Ala Gly Leu Arg Arg Ala Ala Ala Gln Val
100 105 110

Ala Ser Ala Cys Ala Thr His Gly Phe Phe Gln Val Cys Gly His Gly
115 120 125

Val Asp Ala Ala Leu Gly Arg Ala Ala Leu Asp Gly Ala Ser Asp Phe
130 135 140

Phe Arg Leu Pro Leu Ala Asp Lys Gln Arg Ala Arg Arg Val Pro Gly
145 150 155 160

Thr Val Ser Gly Tyr Thr Ser Ala His Ala Asp Arg Phe Ala Ser Lys
165 170 175

Leu Pro Trp Lys Glu Thr Leu Ser Phe Gly Phe His Asp Gly Ala Ala
180 185 190

Ser Pro Val Val Val Asp Tyr Phe Thr Gly Thr Leu Gly Gln Asp Phe
195 200 205

Glu Pro Met Gly Arg Val Tyr Gln Arg Tyr Cys Glu Lys Met Lys Glu
210 215 220

Leu Ser Leu Thr Ile Met Glu Leu Leu Glu Leu Ser Leu Gly Val Glu
225 230 235 240

Arg Gly Tyr Tyr Arg Glu Phe Phe Glu Asp Ser Arg Ser Ile Met Arg
245 250 255

Cys Asn Tyr Tyr Pro Pro Cys Pro Glu Pro Glu Arg Thr Leu Gly Thr
260 265 270

Gly Pro His Cys Asp Pro Thr Ala Leu Thr Ile Leu Leu Gln Asp Asp
275 280 285

Val Gly Gly Leu Glu Val Leu Val Asp Gly Glu Trp Arg Pro Val Arg
290 295 300

Pro Val Pro Gly Ala Met Val Ile Asn Ile Gly Asp Thr Phe Met Ala
305 310 315 320

Leu Ser Asn Gly Arg Tyr Lys Ser Cys Leu His Arg Ala Val Val Asn
325 330 335

Gln Arg Gln Glu Arg Arg Ser Leu Ala Phe Phe Leu Cys Pro Arg Glu
340 345 350

Asp Arg Val Val Arg Pro Pro Ala Ser Ser Ala Thr Pro Arg Gln Tyr
355 360 365

Pro Asp Phe Thr Trp Ala Asp Leu Met Arg Phe Thr Gln Arg His Tyr
370 375 380

Arg Ala Asp Thr Arg Thr Leu Asp Ala Phe Thr Arg Trp Leu Ser His
385 390 395 400

Gly Pro Val Pro Ala Gln Glu Ala Ala Ala Pro Cys Thr
405 410

<210> 87
<211> 12906
<212> ADN
<213> Sorghum bicolor

<400> 87

cactcgcaca tctcatggtg tcccaagaac ggcaagagcc agcactgcct ctgcctagca 60

acagcagcag cgccaagcga gcagccgcgt ccatggacgc cagcagcccg gccccgccgc 120

tcctcctccg cgcccccact cccagtccca gcattgacct ccccgctgcc gctggcaagg 180

ccgcggccgt gttcgacctg cggcgggagc ccaagatccc ggcgccattc ctgtggccgc 240

acgaggaggc gcgcccgacc tcggccgcgg agctggaggt tccggtggtg gacgtgggcg 300

tgctgcgcaa tggcgaccgc gcggggctgc ggcgcgccgc ggcgcaggtg gcctcggcgt 360

gcgcgacgca cgggttcttc caggtgtgcg ggcacggcgt ggacgcggcc ctggggcgcg 420

ccgcgctgga cggcgccagc gacttcttcc ggctgccgct ggccgacaag cagcgcgccc 480

ggcgcgtccc cggcaccgtg tccgggtaca cgagcgcgca cgccgaccgg ttcgcgtcca 540

agctcccctg gaaggagacc ctgtccttcg gcttccacga cggcgccgcg tcgcccgtcg 600

tcgtggacta cttcaccggc accctcggcc aagatttcga gccaatgggg taagcgaagc 660

accgatttac atttaccgcg cgtcggcccc tgaggcctgg gtcttagtct tagcactgca 720

tatacggtcg gtagctctgg atatgatacg tatatatgaa accccgttcc aatcccatgc 780

acggtgtaca caggcgggtg taccagaggt actgcgagaa gatgaaggag ctgtcgctga 840

cgatcatgga gctgctggag ctgagcctgg gcgtggagcg cggctactac cgggagttct 900

tcgaggacag ccgctccatc atgcggtgca actactaccc gccgtgcccg gagccggagc 960

gcacgctggg cacgggcccg cactgcgacc ctacggcgct gaccatcctc ctgcaggacg 1020

acgtcggcgg gctggaggtg ctggtggacg gcgagtggcg ccccgtccgg cccgtcccag 1080

gcgccatggt catcaacatc ggcgacacct tcatggtaac ccctgctctg ttttttcttg 1140

tcctcctctt gtcctgtgtg tgtgtatatt cacttctctc tgtttttttg ccccgaatcc 1200

tagtggacct aactggacgg attacagcac gcacacgtag gcatgtcatg tagcagcagt 1260

ctgcagcact gtagtactta gcgatgcaat agagacatgc gttccagtcg gttccatctc 1320

ggtgggctac agctacagtc ctacacggac gcggctcgta gtcgtaggga cgggcgcgtt 1380

ctctgtatcc acacacggct gcgcccaggc cgaggcttcc gccgcgggaa agttgcgaca 1440

acagaacggg gtttgtgccg ttggagcgtt gcggagaggc agaggcttgg ggggacgggg 1500

gcgcgatacg ctgcgatggg tgggtgaccg aggcgacgct ttcggcgggg gcccgggcct 1560

gcccaggtgc gcgcggcctc gtcgccttcc cctgtttttt tgatgccgcc gctcggtcct 1620

cggtgttctg gctccgcccg cccgctcgct gggtgcccat cccatctgat ccgatccgct 1680

ccgctccgcg gtggcggtcc tatgcgatgc cgccgcacga gcgcgggggg ccgcccgtgg 1740

aggagtagaa agtggtacaa ggttggttgg aacttggaat tgtgggggggt tactgctgct 1800

ggtggctgct gctttgcaac ttgccaggct gctgcctgtt gccccccgcg ttttctagcc 1860

gtttccgctc gcgatccggc acgcggcgcc cacaccgggg ctccagctcg gcccccttggc 1920

cgtgtaggta gcaggcactt gcatctgtcc gttcgacacg atgattcttg tgcactgtgt 1980

acgtatgtac taacccttttc tggtatgatg tacgcatggc atgcaggcgc tgtcgaacgg 2040

gcggtacaag agctgcctgc accgcgcggt ggtgaaccag cggcaggagc ggcggtcgct 2100

ggcctttcttc ctgtgcccgc gcgaggaccg ggtggtgcgg ccgccggcca gcagcgccac 2160

gccgcggcag tacccggact tcacctgggc cgacctcatg cgcttcacgc agcgccacta 2220

ccgcgccgac acccgcacgc tggacgcctt cacccgctgg ctctcccacg gcccagtccc 2280

agcccaggag gcggcggctc cctgcaccta gcgagcgagc gagccgggcc aaacaaacaa 2340

ggggcaaagg ccatctcttt cgccggggcc cgcgcgcggg gttcgcccac gtgcgcgccc 2400

aggtgggcgc tggccgcggg caggtggcgg acatgtggcc tgcgggcccc gcgccgcctt 2460

cccatttttg gacgctgccg cgcatgccgc atgcgtgcgt cgacggccct actacttcta 2520

ctactgctac tgcgactact agtgtacata cgcaaaaata catatatacg tattttctat 2580

atatatatat ataagcaagg cggcccccg gtgacctttt ctttgttttt gtcgacaact 2640

gtgttttgat cccattctag ctgttctatg gaccatggat ggttcgttca atgtttgtac 2700

gtactccacg taaccaaact actctagtgg actagtagat cgggctcatg tgatgaaact 2760

ggaccgacgc ggacgtcacg tgcgtcaccc gcgtctggta gcggtagcgc acgagcgccg 2820

aatgtttcct gggcccgcaa gagaatcgct tctcatctcc tctcaccatg aatggggaaa 2880

aatgctgcgt cgaaagttcc agacgtttcc aaattccaaa cggttttgtg gcgtccgatc 2940

catggggcgc cccaaacttc caagacgttt tcaggttcca aatcttcgtg ctccacatca 3000

ccttcttccc agattcattt gcctcgtcgc ttgctctcct gtgttattca cgggtcccac 3060

tgttgccccg tctgcgagaa agaaatttat tagagttgaa gcattcgaca tttcgactga 3120

ctgattgtta gtatcactaa attttgtgca catgtttctt tggtcattca tctctggata 3180

ttttttttag ataatggata taaatatcgg gcctctacat ctgaggaagt acacagccaa 3240

ttattttcat ctctggacat gggacgatgg aagaggcaga tagatttagg agacccttca 3300

attcagaatt tcaggtgcac aaggcctgcc tggcttgccc ggattcttgt ttcggacatg 3360

accaactagg ccgcactact tgcactgata gctggagaaa aaacaaaact ttgcaaacag 3420

caggattatc tacaagggaa actccatcca cgtgaaccag catttcaggg agagatgcga 3480

caaaaaaaaa gaggcggcaa caaaaaaatc ttactgcaat tttatctctg cattgaacct 3540

cttccaacca tgccgcatcc tgtactgttt tgtatctttc ccggtggtcc gttgcgttct 3600

cacgcagttg ataacatgca gtcacgcacc accgaatcca gtgtactagg ggtagtgact 3660

tgtcacgcgg aacaacaggt cggtagcacc aagcaagtcg ctgtagactt gggcgtttaa 3720

caacgacttg cacaacagtt caaatatagc atatgcaatt atgcacaaga ttgttcgact 3780

gctatccgac aaactgaaga agctgcccaa ttgaacagaa tgtaccagtg atttccagca 3840

cactatctta cagcagcgtt gagaatgaaa caacaaatgg gggaaaacag atgtgtatta 3900

ttctacagtt acaccaaaga gtttgtcctt tcagcatcaa caagaatcat atgcatatct 3960

agtgacaaaa attcctctaa ttttacccta cttggtaaca gttctcttca acacatatat 4020

ttcacgtgct tgcatcgagt tccttgggcc gccacatcga cttctcgacg caaagcaagc 4080

cctcgttgcc cttggtgtag gtcattcgca cctcccactg cagggacttg gccatgcttt 4140

ccagttcgtt tattgtgtcc gcagtgtccc tcacaatcag tttgccttgg ggcctcagta 4200

cacgatcaac ctcggcaaaa actgccatca atttgcatct gtaaacaagc aacacagatt 4260

tagcatctgt aaacaccaca ggtttcattg caagaagcat aaagcatgca aacatgctac 4320

ttgtacatgt caaagaaaca tgtcaaactc aaacacatga aaatcattat tattgttttc 4380

ttgctgaact gatcacatta gttggtttca atttctgagt tccactagta atctatacca 4440

gaaggataga ataatgtcaa gaacaagaga tacaaacctc tttgtgagct ttgagaatag 4500

atggtccgcg tgcagaaggt cataagttct tgggtaagtg ctcaaagact cgcaccagtc 4560

atggtacata ccaaacaaac cacgctcgta aatgatgggc agtgtgtctg gtgaatcaat 4620

cggcacaata ttcatgaccc agacctttg gtccctcaga gctgcagcaa aactgccatg 4680

caacgatgta aagcattagt aaaaatattg ggtttttaa accaaaacca agaaagataa 4740

ttcctccagc ttaactgaaa gaaagaaaga aaaaaactgc ttaatgactt atggtggaca 4800

agttgcctgt tatgttttat gatagctatg tgccagcttg gctaactggt agttatgtag 4860

tgtgatctga attaccaaaa aagagaagaa aaaaaaatca tgcccaagaa actgagaaag 4920

acacccattt acttaccctc catacacagc tctcatgtcc attacatttc tcactttgga 4980

ccagtcaatt cccatgccat tcacatacga tttacttaca acccttttcc agtgagcatt 5040

atctgcctcg aaatcttcat ttgcaggctt tccatagacc ccaaccttgg aaccatcaat 5100

ccagaaagga gtcttctcaa gcctttgtgg ccaaaactct ggccattttg accctcgaac 5160

tttcgagcca acaggcagtt tgtgcatgca tgcttccaaa ggtacattcc tgcaaatcaa 5220

aagattgtgt aagcaaagca gaggaagcac ttcgccgcat tgaaaatacg ttcttctcaa 5280

agaaacaaaa ccataccaag ctgcatctgc atcatcagat tccttgcaca atggtgggtt 5340

gttttcggat cttttctcat agcaaatgtt gtccattggt ttctgaaata tgaccatacc 5400

aacttgattt aacttatcct tagtcttgtt gaccatcttc cagcacatgg actttgtcaa 5460

agtggacatc gctgaaaaga ttaaggggtc atatgttatg atagaaataa aattcaattt 5520

tgcactgttg gtacatagca tctgttttga acaaatgcaa tccttcctta tccatgaaag 5580

aagttaaccc ctgatactta ggattattca gtactttcac tcatgaactg ctgaatttgt 5640

tctgccagta gttgctatac tagaaatgtt cagtgtacca aacataaatt tggtacgggt 5700

tccttattaa agatgggagg ctgtatggta tttcgacgta acaaatcaag ttagcagcta 5760

ccctacttat ggatatacac ttctcaaaat gaatatacat agttttgata ggtgacatta 5820

attaatataa gaacttcatg cagttagggt gaaactaaac taagcagtta cggaaatacc 5880

attccaaatc tcaacatcct ctgggagctt ttggtaaaca ggagtggcag accagacaaa 5940

gtaaccacca gggcgtaaca agcggttcaa ttccagcaaa agcatgccac ctaaaaggag 6000

tcagtaataa gattcagttc tatagcaaat caataaatga aaggaagaca tgtcaccaac 6060

aagacaaacc ttcaatgtgc caagggaccc tgcagcgagc gcaatgaatg acatcaaaga 6120

ctctgctggg gtatggaagt ctcttggtgc ccatcacagc tgatattgct ggaattcccc 6180

tttctaatgc aaattgtact tgagcttcat gctcatcttt cggagcaaaa gacatggtaa 6240

gcacatctct atcaaacatg tagcctccaa agctggcaac tccacaaccg acatctagaa 6300

tgacgcggct tcgtttgccc catgcaatat caggcagtgc ctgtgaatga cagtttaatc 6360

agcatatgat gaaagcaagt gtgataatat caagttcaaa gatgcaacat gaaactttca 6420

taatcatgga cagtactaag cttgcttgat agattaatgt atggatgaga ctaaaaaaaa 6480

ggaaagttgt atccatcaga acgagaggct gaaaacacat ggctggctgt gaaagcctga 6540

tgtcgtttag tctagcataa acaaactgtc ctcagcatgt agatttccat agggtggcat 6600

ttgacaaatt atgattgtgg actagcgaat caatcactga ttctcaaaag tgtgagacag 6660

atgagttcaa gtctaagggg tgactaatat gggatgctgg gatgatgatg atgatatata 6720

cctgctgaat agtatcaata tagtggaggg caccattctt gaactgagtc ccacccccag 6780

ggaacaggag gtagtcacct gatactttaa cccaattttg atgtcccttg tactctgcga 6840

gcctagtgtg aggaacattg ctgtaccata cctgcaaaaa gcagcacaag atggtaataa 6900

gtaaacagag atcttggtca gctaaagatg attcagtgtc gtacaattta gaatagacag 6960

aatcaccttg tccctgctcc ttggccactc aattgggcgt ttatatcctt ctgggagtgg 7020

aacaaggcag gtaggaggct cctcagggca atgcctctca cgatgttcat aatgtttagt 7080

agttcgaagc ttcttgatag ccttctcgtt gtcaaggcaa ggtatgtaat ctgtcgaggc 7140

actgctatta catagtttcc aggaatagct agtcgcatca cctgaagact ttgatgacgc 7200

ttggacttcc ttttcattct tggactctgc agcctgtgtg gggaatgaac cattctgggt 7260

atttgactcc ttcagaagct ctgattgggc cccatcagga aatacctcgt tggagtttga 7320

gctctgatcc ttctctccat tttcttccac cttctcttct atctgaggtt gctcctcctg 7380

agtggcatca ccttcaggct tctcttcttg atcatccttg ctctctccat caggtttttc 7440

atcaccactc tcatttgtga tttcatcatc tttcttctcc ccactcttct ccccgtcacc 7500

atcgttcttc atgtcatctg accgcccttc tgattttcca tttgcatcat caaacatatc 7560

cttggtctca gctttctctg tcggcacttc cggctccttc tcttcaggct tctcctctgg 7620

cttctcagtg aacttctctt ccatcgtggc atccttgtta ttcggctcct ccggcatcgt 7680

ggcatcattg ttgtcggtgt cctcaaattt ctcagaacct tcaccagcat tgtcctgtga 7740

ggccccaaaa ttgacaggcg caggctgctg cttcaccacc ggcttcttat tcgaggagat 7800

ctccagcggg aagacagtgg acgaggtcat catccacgcg ccgaccaggc agagcgccac 7860

aaagacgacg accgtggtgg tcgtgcagaa cgacgacgac gtcgaggacg gccggcggcc 7920

gtccatcttc ccacctcggc caaatgccat tagtgcctgg cgaacatgta ccagagcacc 7980

gaccttcacg cgatttatct ccaccaacta ctgctggacc aagaaccccc aaaaaaatcg 8040

caccttttgtc tgctttgtgc tgctacagcc gcgcggcacc tgaagcaaac cacaaaaaaa 8100

acttaaatcg ccgcggacat aaatcaaggt gctggatcta aagaacaaac gctggatcta 8160

ctcaagcaac aacggaagga agatccgcta ttggtgctag tattagcttc ttgtttccta 8220

gtactacagc ggctctttcc cagtataaga acacgggaaa acgcggagaa atccccccttc 8280

gtggccaaac atggaaagaa aattagtaaa gcgtgtgctt taaaaccccc tcgttctgtt 8340

ccttccgcgg agagctaccg catcttccaa ttgagctggt tctcagctgg gcgcaaaacg 8400

cgcactaatc aatgtccgat tccatccaca aagaaaaaaa agacgggaac agctaatcca 8460

gcagctcgct cgctagctag ctagctcatc ggcggaagga cggaaccagc tttgctggat 8520

ccaggacagc aagagtgtgc aaggagaaag aacggagcag caatgcggat tgcggaggcg 8580

gtggattggt acctcgccgg aaccgaccgg agtggtcgcg gtggccctcc gcgcggatct 8640

cgaagaggag cgaggaaggg gaaggcggat gcgcgtcctt gggttctctg ccaccgcact 8700

gggcctcgcc gcgttataaa ggcgggcggg cgggcgggca gcgcagtgtg agtggagtgc 8760

aatctgttgt gtagtgtgtg aagaggcgga agcggaagcg gaggagatgg gttcgcatta 8820

gacgaccgta cgtaattata cgctatacta gtacttgggt tagattactc gggagatctt 8880

ggccaaaatg tccggtctga gtgtttggta gttttatgga tttgcccttt taagatgttg 8940

gtatttctcc gggagcttag aaagaagaaa tggcgatgct ttaggccttg tttagatgcg 9000

aaaaaaattt ggatttcgct actgtggcat ttttatttgt ttgtagcaaa tattgtccaa 9060

acacggacta actaagattc atctcgcgat ttacagttaa actgtacaat tagtttttat 9120

tttcatttat atttaatgtt tcatggatgt gtcgaaagat acgatatgat agaaaatttt 9180

gaaaactttt tagttattga ggttaactaa acaatgcctt aattgagaat ttactcgagc 9240

aaaaagagtt aggtcagtct cagtggagag tttcatggtg ttgtttccaa gactgccata 9300

tcatgtgaaa tgaaatgaaa cttggttgaa acactcactc tcaatggaga gtttcatttt 9360

atagtttcat gggcatttaa tttcaatact catagagagt tgatatcgtg ccaactcatt 9420

tcttctctct cttcttaaat acacagtcat atcatcaaaa aaaatcctat gtagcaacat 9480

atttaatgca aataaaactc atatggtgga ctgtaggagt agcattaggc caagggcaca 9540

cacacggtca cggtgtgagt gcgacggtgc gagtgggccc gcggcggtag taagtgcgtg 9600

cgcgcccggc gccccccctcc gcggcgacga cgcagcggca gcgcgtcgtc cagtgcaccg 9660

tctgctgttc ggcgctgcgg gtcctccgcg ccacggcgca gtgaaccggg cgcgtgcatc 9720

ccgggagcgg cggcttggca ctcccctgct tgtcggtggc ggccgtcggc atcgctcggc 9780

cccggagcgt cacgaggctg ctgattggga gcgagagcga gtagtggggc tggttgggga 9840

caatcccatt cccacccggc ccaccaggct gggactggcc cactagtcac tagtgggtgg 9900

ctcatgggtg tgggtgggct ggctaatgcc gcctgcccaa caaccaaccc aacccctgtg 9960

gacgctggta ccggtagttg ccgcgccatg gtggactgct gccgcctgat gcctttgcct 10020

gccacgctcc acgagttgag gcgcaccaaa ctgtgctgtg ctcctgattt gtgctaatcg 10080

gccgacgcgt accattcttt ctttctttcg tctacgcgca gagaggccgg ttgactgttt 10140

cttcgttgga gggccatgtt gactcgtact aataataaaa ataataatac taggttgact 10200

ttttcaattc caacgcagca gtgcaaagct gcccacctat gagcacaggt ccttttttaa 10260

ctccgttttt gtacgtacac acgtactgtc cagcctgtgt ctaataatct taccaaaaac 10320

ctgtcatctc actatcaacc aatcaggctc tccgcctgtt cgtcgaggaa cagcagttgt 10380

tttccctact ccaacataga gtacactatg gacgcacatt accatgccag cttgagctta 10440

gcattgccca ccgttggata actgccatgc cattctcagg ccctgtttag ttcccatcta 10500

aaaatttttc atccattcca tcgaatcttt ggacacatgc atggaacatt aaatgtagat 10560

aaaaaaataa actaattaca cagtttagtt gagaatcgcg agacgaatct tttaagtcta 10620

gttactccat aattagcctt aagtgctaca gtaatccaca tatactaatg acagattaat 10680

tatgcttaat aaatttgtct tacagtttcc tgacgagcta tgtaatttgt ttttttatta 10740

gtttctaaaa acccctcccg acatccttcc gacatatccg atgtgacaac caaaaaattt 10800

tcatcttcaa tctaaacagg ccctcactct catcatctca tgccggggca gcaggtccgt 10860

cgtcaggtct gtcgtcccgt cccgtgccgt ctgaagcaac aggcgagaga aacgccgttc 10920

catcggtttg ccgagcgtgc agaggataga gctatactcg atccggagag gattgtgaaa 10980

cgaagcacgg ttaagcagtg ccgcgcacgt gctgctctgc tcctggatcc gatccagatc 11040

gactcggggc gtctcggcct cagcggcgat ggcaatcatc gcgcgcgctg ctggagctgg 11100

acgttttcgt cttgcattgc aggaggcgga acagaacgga gaaagccacg gcgcgctttg 11160

ccgacgccac gcgctgacac gagggacccg ttcagcggcc agcacgcagc ctaatcatgc 11220

ctgtcggggg gagctcatcc gttcctgaat ttgggtcatg ctccagtatc aggtattcag 11280

gtactagtac tcctgagcca tgtgctgcga caaaaaagcg aggctcctgt agtagagcct 11340

tgtttactta caaaattttt tacattctca gttatattaa atcttgtgac acatgcataa 11400

agcattaaat atacataaaa gaaataatta tttacacagt tacttataat ttgcgaaacg 11460

aatcttttaa gactggttag tttatgatta gataatattt attaaataca aatgaaagta 11520

atattattta tattttgcaa aaagtaaata agacctaggt agctaggcca acgtgagcat 11580

gtcggacccg gaccggttcg ttctacggcg cgtcccgcaa acctgcagcc aggtagtagt 11640

agtacaccgt gcacgggaga ggtgcgccat gcatgctcgg gcaaaagatc atagagaaag 11700

gtgcagcgtt tcagttgcac acctgaccga gtgacgcctc gccttgtttg gctttgttcc 11760

caaaattttt taaaattcct catcacatta aatctttgaa cgaatatatg gagcattaaa 11820

tataaataaa agaaataatt aatcatacaa tttgtctgta atttgcgaga cgaatctttt 11880

gagcctagtt agtttataat taaataatat ttgttaaata caaacgaaaa tgctacgtta 11940

gccaaaacta aaatttttct ccaaacgtga cccagcacct tccgatcaat catcactcag 12000

cgggtcacgt cagaagatca gatggacctt gccgtccggg cctgtctctc ggcctcctcc 12060

ccatctggaa cgaacagagg tccagtcctg tttcgagtcg agctgagtcg atcagatggg 12120

cctaaatagg ccgaagacgt aggcaaaggg cccgctgatt tatctgattc ttctaggacc 12180

gtgcatgcgc ggatgggcct aggtggaaac ccaacagatg tgaggcttca aagaggaaga 12240

agtccgttac acatggagag ttagtctata atgggataat atttaccaca aacaaataaa 12300

aatactacag tagcgaaatc caaaattttt cacatctaaa caaggcccta gatgttttgt 12360

cagtgccaga ccagagaaaa tctcgtcttc tgctgtcaat agctttgatg attcctggcg 12420

gcagaggtaa agcttgcctg ggccttgttt agttccgaaa agtgaaaagt tttcggtact 12480

gtagcacttt tgtttgttcg tgacaaatat catccaatta tggactaact agaattaaaa 12540

gattcgtctc gtgatctaca gctaaactgt gtaattagtt tttgttttcg tctatattta 12600

atgtttcatg catgtgccac aagattcgat gtgacggaga attttgaaaa ttttttggtt 12660

ttcagagtga actaaacaag gcccagatgt aattgaccat gccatcgagc gcgagttgac 12720

tagagtgagt cggccctgat ggttaagtag tgcagactgc caagtggaca accgtctatc 12780

aactttgcag agtggggcga atgcactgag gatgttggag aggggcaagc caaggtaaac 12840

ttgaggaaag atgcttgttg acactgtagt atgtgaacaa tcctgtttaa ttttgtgtcc 12900

tcgacg 12906

<210> 88
<211> 1790
<212> ADN
<213> Setaria italica

<400> 88
tctcatggtg tcccaagcac agcaagagcc agctctgcct cacagcagca gcaccgccaa 60

gcgcgcagcc gcgtcactca tggacgcccg cccggcccag cctctcctcc tccgcgcccc 120

gactcccagc attgacctcc ccgcgtccaa gccggacagg gccgccgcgg cggccggcaa 180

ggccgccgcc gcctccgtgt tcgacctgcg gcgggagccc aagatcccgg cgccattcgt 240

gtggccgcac gacgacgcgc ggccggcgtc ggcggcggag ctggacgtgc cgttggtgga 300

cgtgggcgtg ctgcgcaatg gcgaccgcgc ggggctgcgg cgcgctgcgg cgcaggtggc 360

cgcggcgtgc gcgacgcacg ggttcttcca ggtgtgcggg cacggcgtgg gcgcggacct 420

ggcgcgcgcg gcgctggacg gcgccagtga cttcttccgg ctgccgctgg cggagaagca 480

gcgcgcccgg cgcgtcccgg ggaccgtgtc cgggtacacg agcgcgcacg ccgaccggtt 540

cgcgtccaag ctcccctgga aggagaccct ctccttcggg ttccacgacg gcgccgcgtc 600

gcccgtcgtc gtcgactact tcgccggcac cctcgggcag gacttcgagg cagtggggcg 660

ggtgtaccag aggtactgcg aggagatgaa ggctctgtcg ctgacgatca tggagctcct 720

ggagctgagc ctgggcgtgg agcgcggcta ctaccgcgac ttcttcgagg acagccgctc 780

catcatgcgg tgcaactact acccgccgtg cccggagccg gagcgcacgc tgggcacggg 840

cccgcactgc gaccccaccg cgctgaccat cctcctccag gacgacgtcg gcgggctcga 900

ggtcctcgtc gacggcgact ggcgccccgt ccgccccgtc cccggcgcca tggtcatcaa 960

catcggcgac accttcatgg ctctgtccaa cgggcggtac aagagctgcc tgcaccgggc 1020

ggtggtgaac cagcggcagg agcggcggtc gctggccttc ttcctgtgcc cgcgcgagga 1080

ccgggtggtg cgcccgccgg ccagcggcgc cgtcggcgag gcgccccgcc gctacccgga 1140

cttcacctgg gccgacctca tgcgcttcac gcagcgccac taccgcgccg acacccgcac 1200

gctggacgcc ttcacacgct ggctctccca cggcccggcc caggacgcgc cagtggcggc 1260

ggcggcttcc acctagctag cggcgcggat ccgaccgagc ccattgacga cgccgtccct 1320

ttccgccgcc gccggggccc gcgcgggggt tcaccccacg tgcgcgccca ggtgggcgag 1380

gtggcggcct cgtggcccgc gggccccgcg ccgccttccc atttttgggc gctgccgccc 1440

cgcgcgcatg ccggatgcgt gcgtccacgg cctactgctg ctactagtgt acatatacaa 1500

acatacatat atacgtagta taaatatata agcaagcggc ccggtgcccc ttttcgtttt 1560

cttgttttgt cgatcacaat ctctggattc gatggatgga taaatgtttg tacgcatgca 1620

tgtagatggg ctcatgaaat ttcagaatct ggaacggacg aggagctcac gtgcctcttc 1680

cgtgtctggt agcggtagct gcgtgccaaa tgtctggtgg gcccaaagaa attctagtgc 1740

cacccgtccg gatccggcat ccgaaagttc ccgacggttc gacacccgaa 1790

<210> 89
<211> 1272
<212> ADN
<213> Setaria italica

<400> 89
atggtgtccc aagcacagca agagccagct ctgcctcaca gcagcagcac cgccaagcgc 60

gcagccgcgt cactcatgga cgcccgcccg gcccagcctc tcctcctccg cgccccgact 120

cccagcattg acctccccgc gtccaagccg gacagggccg ccgcggcggc cggcaaggcc 180

gccgccgcct ccgtgttcga cctgcggcgg gagcccaaga tcccggcgcc attcgtgtgg 240

ccgcacgacg acgcgcggcc ggcgtcggcg gcggagctgg acgtgccgtt ggtggacgtg 300

ggcgtgctgc gcaatggcga ccgcgcgggg ctgcggcgcg ctgcggcgca ggtggccgcg 360

gcgtgcgcga cgcacgggtt cttccaggtg tgcgggcacg gcgtgggcgc ggacctggcg 420

cgcgcggcgc tggacggcgc cagtgacttc ttccggctgc cgctggcgga gaagcagcgc 480

gcccggcgcg tcccggggac cgtgtccggg tacacgagcg cgcacgccga ccggttcgcg 540

tccaagctcc cctggaagga gaccctctcc ttcgggttcc acgacggcgc cgcgtcgccc 600

gtcgtcgtcg actacttcgc cggcaccctc gggcaggact tcgaggcagt ggggcgggtg 660

taccagaggt actgcgagga gatgaaggct ctgtcgctga cgatcatgga gctcctggag 720

ctgagcctgg gcgtggagcg cggctactac cgcgacttct tcgaggacag ccgctccatc 780

atgcggtgca actactaccc gccgtgcccg gagccggagc gcacgctggg cacgggcccg 840

cactgcgacc ccaccgcgct gaccatcctc ctccaggacg acgtcggcgg gctcgaggtc 900

ctcgtcgacg gcgactggcg ccccgtccgc cccgtccccg gcgccatggt catcaacatc 960

ggcgacacct tcatggctct gtccaacggg cggtacaaga gctgcctgca ccgggcggtg 1020

gtgaaccagc ggcaggagcg gcggtcgctg gccttcttcc tgtgcccgcg cgaggaccgg 1080

gtggtgcgcc cgccggccag cggcgccgtc ggcgaggcgc cccgccgcta cccggacttc 1140

acctgggccg acctcatgcg cttcacgcag cgccactacc gcgccgacac ccgcacgctg 1200

gacgccttca cacgctggct ctcccacggc ccggcccagg acgcgccagt ggcggcggcg 1260

gcttccacct ag 1272

<210> 90
<211> 423
<212> PRT
<213> Setaria italica

<400> 90

Met Val Ser Gln Ala Gln Gln Glu Pro Ala Leu Pro His Ser Ser Ser
1 5 10 15

Thr Ala Lys Arg Ala Ala Ala Ser Leu Met Asp Ala Arg Pro Ala Gln
20 25 30

Pro Leu Leu Leu Arg Ala Pro Thr Pro Ser Ile Asp Leu Pro Ala Ser
35 40 45

Lys Pro Asp Arg Ala Ala Ala Ala Ala Gly Lys Ala Ala Ala Ala Ser
50 55 60

Val Phe Asp Leu Arg Arg Glu Pro Lys Ile Pro Ala Pro Phe Val Trp
65 70 75 80

Pro His Asp Asp Ala Arg Pro Ala Ser Ala Ala Glu Leu Asp Val Pro
85 90 95

Leu Val Asp Val Gly Val Leu Arg Asn Gly Asp Arg Ala Gly Leu Arg
100 105 110

Arg Ala Ala Ala Gln Val Ala Ala Ala Cys Ala Thr His Gly Phe Phe
115 120 125

Gln Val Cys Gly His Gly Val Gly Ala Asp Leu Ala Arg Ala Ala Leu
130 135 140

Asp Gly Ala Ser Asp Phe Phe Arg Leu Pro Leu Ala Glu Lys Gln Arg
145 150 155 160

Ala Arg Arg Val Pro Gly Thr Val Ser Gly Tyr Thr Ser Ala His Ala
165 170 175

```
Asp Arg Phe Ala Ser Lys Leu Pro Trp Lys Glu Thr Leu Ser Phe Gly
            180                 185                 190

Phe His Asp Gly Ala Ala Ser Pro Val Val Val Asp Tyr Phe Ala Gly
        195                 200                 205

Thr Leu Gly Gln Asp Phe Glu Ala Val Gly Arg Val Tyr Gln Arg Tyr
    210                 215                 220

Cys Glu Glu Met Lys Ala Leu Ser Leu Thr Ile Met Glu Leu Leu Glu
225                 230                 235                 240

Leu Ser Leu Gly Val Glu Arg Gly Tyr Tyr Arg Asp Phe Phe Glu Asp
                245                 250                 255

Ser Arg Ser Ile Met Arg Cys Asn Tyr Tyr Pro Pro Cys Pro Glu Pro
            260                 265                 270

Glu Arg Thr Leu Gly Thr Gly Pro His Cys Asp Pro Thr Ala Leu Thr
        275                 280                 285

Ile Leu Leu Gln Asp Asp Val Gly Gly Leu Glu Val Leu Val Asp Gly
    290                 295                 300

Asp Trp Arg Pro Val Arg Pro Val Pro Gly Ala Met Val Ile Asn Ile
305                 310                 315                 320

Gly Asp Thr Phe Met Ala Leu Ser Asn Gly Arg Tyr Lys Ser Cys Leu
                325                 330                 335

His Arg Ala Val Val Asn Gln Arg Gln Glu Arg Arg Ser Leu Ala Phe
            340                 345                 350

Phe Leu Cys Pro Arg Glu Asp Arg Val Val Arg Pro Pro Ala Ser Gly
        355                 360                 365

Ala Val Gly Glu Ala Pro Arg Arg Tyr Pro Asp Phe Thr Trp Ala Asp
    370                 375                 380

Leu Met Arg Phe Thr Gln Arg His Tyr Arg Ala Asp Thr Arg Thr Leu
385                 390                 395                 400

Asp Ala Phe Thr Arg Trp Leu Ser His Gly Pro Ala Gln Asp Ala Pro
                405                 410                 415
```

Val Ala Ala Ala Ala Ser Thr
420

<210> 91
<211> 2888
<212> ADN
<213> Setaria italica

<400> 91
tctcatggtg tcccaagcac agcaagagcc agctctgcct cacagcagca gcaccgccaa 60

gcgcgcagcc gcgtcactca tggacgcccg cccggcccag cctctcctcc tccgcgcccc 120

gactcccagc attgacctcc ccgcgtccaa gccggacagg gccgccgcgg cggccggcaa 180

ggccgccgcc gcctccgtgt tcgacctgcg gcgggagccc aagatcccgg cgccattcgt 240

gtggccgcac gacgacgcgc ggccggcgtc ggcggcggag ctggacgtgc cgttggtgga 300

cgtgggcgtg ctgcgcaatg gcgaccgcgc ggggctgcgg cgcgctgcgg cgcaggtggc 360

cgcggcgtgc gcgacgcacg ggttcttcca ggtgtgcggg cacggcgtgg gcgcggacct 420

ggcgcgcgcg gcgctggacg gcgccagtga cttcttccgg ctgccgctgg cggagaagca 480

gcgcgcccgg cgcgtcccgg ggaccgtgtc cgggtacacg agcgcgcacg ccgaccggtt 540

cgcgtccaag ctcccctgga aggagaccct ctccttcggg ttccacgacg gcgccgcgtc 600

gcccgtcgtc gtcgactact tcgccggcac cctcgggcag gacttcgagg cagtggggta 660

agtatgtagg aatgaacttg gcacgcattg catccacatg gcgtgctgat cgaacgagct 720

gagccaaccg gcatgcacac atggcgtggc aggcgggtgt accagaggta ctgcgaggag 780

atgaaggctc tgtcgctgac gatcatggag ctcctggagc tgagcctggg cgtggagcgc 840

ggctactacc gcgacttctt cgaggacagc cgctccatca tgcggtgcaa ctactacccg 900

ccgtgcccgg agccggagcg cacgctgggc acgggcccgc actgcgaccc caccgcgctg 960

accatcctcc tccaggacga cgtcggcggg ctcgaggtcc tcgtcgacgg cgactggcgc 1020

cccgtccgcc ccgtccccgg cgccatggtc atcaacatcg gcgacacctt catggtacgg 1080

ccgccgctaa tccatccttt tgttgctctt atctcctctg gcgagtgcga gtaacgaaag 1140

cgctagctcc cctgctcctt gtcctgctct gtttcccaag tcctaatgga gctaaccggg 1200

cagactgcaa cacgcacgcg taggcatgtc acgtagccac cacttgcact gtgctgcgca 1260

gcgacgacgc aacgcggacg tgcgttcgag tcggttccat ctcggcgccg ctacacgcgg 1320

ccgcggctcc tagcctccta gggctccctg atccctatcc ccgagccctt ccgcgggaaa 1380

agttcgttgg cgacggcaga ggagagccga cgggtccgtg ccgttggagc gtggcggcag 1440

gagaggccgg gagggtgttt tgttgcgttg cgcggcggcg cggaggatgc gatggcgcgg 1500

gcgggcggcg ctttcggcgg tggccccccgc gacccacgtg cgcgcgcggt ctcgtcgcct 1560

tccctgtttt ggtgccacct ctctgtgtcc gggaatgggt tggcttagcg gcgaccgaga 1620

ccgggcggtg gtctggcctg ctcccggcgc ccatcccgcc tggtctctca tcctgctcct 1680

cctatgcgcg agggggcctg tagcggctgg agtacaagca gattggttgg gttgggttgc 1740

tgctgcttgg ctgttgcccg cccgctttct agccgtttcc gctcgccatc cggcacgcgg 1800

cgcccacgcc ggggctccag ctcggcccct ttggccgtgt gggtggcagg cacccctgca 1860

tcgtctcgtg cgtccggttt ccgcgcctgg ccccccgcct tgaggtttcc ctgtgctttt 1920

gacaagactt tcgtagatat atgtgtgtgt atgtgtgtgt gtgcgtgcgc gcgtgtgtgt 1980

atatatatat ataaataaat aacatctgtg aatgatggat tacacgtgta gctgaccggc 2040

tgattgtgtt cgcgtgtgtg tcttcgatgc attgcaggct ctgtccaacg ggcggtacaa 2100

gagctgcctg caccgggcgg tggtgaacca gcggcaggag cggcggtcgc tggccttctt 2160

cctgtgcccg cgcgaggacc gggtggtgcg cccgccggcc agcggcgccg tcggcgaggc 2220

gccccgccgc tacccggact tcacctgggc cgacctcatg cgcttcacgc agcgccacta 2280

ccgcgccgac acccgcacgc tggacgcctt cacacgctgg ctctcccacg gcccggccca 2340

ggacgcgcca gtggcggcgg cggcttccac ctagctagcg gcgcggatcc gaccgagccc 2400

attgacgacg ccgtcccttt ccgccgccgc cggggcccgc gcgggggttc accccacgtg 2460

cgcgcccagg tgggcgaggt ggcggcctcg tggcccgcgg gccccgcgcc gccttcccat 2520

ttttgggcgc tgccgccccg cgcgcatgcc ggatgcgtgc gtccacggcc tactgctgct 2580

actagtgtac atatacaaac atacatatat acgtagtata aatatataag caagcggccc 2640

ggtgcccctt ttcgttttct tgttttgtcg atcacaatct ctggattcga tggatggata 2700

aatgtttgta cgcatgcatg tagatgggct catgaaattt cagaatctgg aacggacgag 2760

gagctcacgt gcctcttccg tgtctggtag cggtagctgc gtgccaaatg tctggtgggc 2820

ccaaagaaat tctagtgcca cccgtccgga tccggcatcc gaaagttccc gacggttcga 2880

cacccgaa 2888

<210> 92
<211> 1567
<212> ADN
<213> Oryza sativa

<400> 92
tgcccagaca gctcgccctg cacacacaca cacactcaca ctcacacacg ctctcaactc 60

actcccgctc aacacagcgc tcacttctca tctccaatct catggtggcc gagcacccca 120

cgccaccaca gccgcaccaa ccaccgccca tggactccac cgccggctct ggcattgccg 180

ccccggcggc ggcggcggtg tgcgacctga ggatggagcc caagatcccg gagccattcg 240

tgtggccgaa cggcgacgcg aggccggcgt cggcggcgga gctggacatg cccgtggtcg 300

acgtgggcgt gctccgcgac ggcgacgccg aggggctgcg ccgcgccgcg gcgcaggtgg 360

ccgccgcgtg cgccacgcac gggttcttcc aggtgtccga gcacggcgtc gacgccgctc 420

tggcgcgcgc cgcgctcgac ggcgccagcg acttcttccg cctcccgctc gccgagaagc 480

gccgcgcgcg ccgcgtcccg ggcaccgtgt ccggctacac cagcgcccac gccgaccgct 540

tcgcctccaa gctcccatgg aaggagaccc tctccttcgg cttccacgac cgcgccgccg 600

cccccgtcgt cgccgactac ttctccagca ccctcggccc cgacttcgcg ccaatgggga 660

gggtgtacca gaagtactgc gaggagatga aggagctgtc gctgacgatc atggaactcc 720

tggagctgag cctgggcgtg gagcgaggct actacaggga gttcttcgcg gacagcagct 780

caatcatgcg gtgcaactac tacccgccat gcccggagcc ggagcggacg ctcggcacgg 840

gcccgcactg cgaccccacc gccctcacca tcctcctcca ggacgacgtc ggcggcctcg 900

aggtcctcgt cgacggcgaa tggcgccccg tcagccccgt ccccggcgcc atggtcatca 960

acatcggcga caccttcatg gcgctgtcga acgggaggta taagagctgc ctgcacaggg 1020

cggtggtgaa ccagcggcgg gagcggcggt cgctggcgtt cttcctgtgc ccgcgggagg 1080

acagggtggt gcggccgccg ccgagcgccg ccacgccgca gcactacccg gacttcacct 1140

gggccgacct catgcgcttc acgcagcgcc actaccgcgc cgacacccgc acgctcgacg 1200

ccttcacgcg ctggctcgcg ccgccggccg ccgacgccgc cgcgacggcg caggtcgagg 1260

cggccagctg atcgccgaac ggaacgaaac ggaacgaaca gaagccgatt tttggcgggg 1320

cccacgccca cgtgaggccc cacgtggaca gtgggcccgg gcggaggtgg cacccacgtg 1380

gaccgcgggc cccgcgccgc cttccaattt tggaccctac cgctgtacat attcatatat 1440

tgcaagaaga agcaaaacgt acgtgtgggt tgggttgggc ttctctctat tactaaaaaa 1500

aatataatgg aacgacggat gaatggatgc ttatttattt atctaaattg aattcgaatt 1560

cggctca 1567

<210> 93
<211> 1170
<212> ADN
<213> Oryza sativa

<400> 93
atggtggccg agcaccccac gccaccacag ccgcaccaac caccgcccat ggactccacc 60

gccggctctg gcattgccgc cccggcggcg gcggcggtgt gcgacctgag gatggagccc 120

aagatcccgg agccattcgt gtggccgaac ggcgacgcga ggccggcgtc ggcggcggag 180

ctggacatgc ccgtggtcga cgtgggcgtg ctccgcgacg gcgacgccga ggggctgcgc 240

cgcgccgcgg cgcaggtggc cgccgcgtgc gccacgcacg ggttcttcca ggtgtccgag 300

cacggcgtcg acgccgctct ggcgcgcgcc gcgctcgacg gcgccagcga cttcttccgc 360

ctcccgctcg ccgagaagcg ccgcgcgcgc cgcgtcccgg gcaccgtgtc cggctacacc 420

agcgcccacg ccgaccgctt cgcctccaag ctcccatgga aggagaccct ctccttcggc 480

ttccacgacc gcgccgccgc ccccgtcgtc gccgactact tctccagcac cctcggcccc 540

gacttcgcgc caatggggag ggtgtaccag aagtactgcg aggagatgaa ggagctgtcg 600

ctgacgatca tggaactcct ggagctgagc ctgggcgtgg agcgaggcta ctacagggag 660

ttcttcgcgg acagcagctc aatcatgcgg tgcaactact acccgccatg cccggagccg 720

gagcggacgc tcggcacggg cccgcactgc gaccccaccg ccctcaccat cctcctccag 780

gacgacgtcg gcggcctcga ggtcctcgtc gacggcgaat ggcgccccgt cagccccgtc 840

cccggcgcca tggtcatcaa catcggcgac accttcatgg cgctgtcgaa cgggaggtat 900

aagagctgcc tgcacagggc ggtggtgaac cagcggcggg agcggcggtc gctggcgttc 960

ttcctgtgcc cgcgggagga cagggtggtg cggccgccgc cgagcgccgc cacgccgcag 1020

cactacccgg acttcacctg ggccgacctc atgcgcttca cgcagcgcca ctaccgcgcc 1080

gacacccgca cgctcgacgc cttcacgcgc tggctcgcgc cgccggccgc cgacgccgcc 1140

gcgacggcgc aggtcgaggc ggccagctga 1170

<210> 94
<211> 389
<212> PRT
<213> Oryza sativa

<400> 94

Met Val Ala Glu His Pro Thr Pro Pro Gln Pro His Gln Pro Pro Pro
1 5 10 15

Met Asp Ser Thr Ala Gly Ser Gly Ile Ala Ala Pro Ala Ala Ala Ala
20 25 30

Val Cys Asp Leu Arg Met Glu Pro Lys Ile Pro Glu Pro Phe Val Trp
35 40 45

Pro Asn Gly Asp Ala Arg Pro Ala Ser Ala Ala Glu Leu Asp Met Pro
50 55 60

Val Val Asp Val Gly Val Leu Arg Asp Gly Asp Ala Glu Gly Leu Arg
65 70 75 80

Arg Ala Ala Ala Gln Val Ala Ala Ala Cys Ala Thr His Gly Phe Phe
85 90 95

Gln Val Ser Glu His Gly Val Asp Ala Ala Leu Ala Arg Ala Ala Leu
100 105 110

Asp Gly Ala Ser Asp Phe Phe Arg Leu Pro Leu Ala Glu Lys Arg Arg
115 120 125

Ala Arg Arg Val Pro Gly Thr Val Ser Gly Tyr Thr Ser Ala His Ala
130 135 140

Asp Arg Phe Ala Ser Lys Leu Pro Trp Lys Glu Thr Leu Ser Phe Gly
145 150 155 160

Phe His Asp Arg Ala Ala Ala Pro Val Val Ala Asp Tyr Phe Ser Ser
165 170 175

Thr Leu Gly Pro Asp Phe Ala Pro Met Gly Arg Val Tyr Gln Lys Tyr
180 185 190

Cys Glu Glu Met Lys Glu Leu Ser Leu Thr Ile Met Glu Leu Leu Glu
195 200 205

Leu Ser Leu Gly Val Glu Arg Gly Tyr Tyr Arg Glu Phe Phe Ala Asp
210 215 220

Ser Ser Ser Ile Met Arg Cys Asn Tyr Tyr Pro Pro Cys Pro Glu Pro
225 230 235 240

Glu Arg Thr Leu Gly Thr Gly Pro His Cys Asp Pro Thr Ala Leu Thr
245 250 255

Ile Leu Leu Gln Asp Asp Val Gly Gly Leu Glu Val Leu Val Asp Gly
260 265 270

Glu Trp Arg Pro Val Ser Pro Val Pro Gly Ala Met Val Ile Asn Ile
275 280 285

Gly Asp Thr Phe Met Ala Leu Ser Asn Gly Arg Tyr Lys Ser Cys Leu
290 295 300

His Arg Ala Val Val Asn Gln Arg Arg Glu Arg Arg Ser Leu Ala Phe
305 310 315 320

Phe Leu Cys Pro Arg Glu Asp Arg Val Val Arg Pro Pro Pro Ser Ala
325 330 335

Ala Thr Pro Gln His Tyr Pro Asp Phe Thr Trp Ala Asp Leu Met Arg
340 345 350

Phe Thr Gln Arg His Tyr Arg Ala Asp Thr Arg Thr Leu Asp Ala Phe
355 360 365

Thr Arg Trp Leu Ala Pro Pro Ala Ala Asp Ala Ala Ala Thr Ala Gln
370 375 380

Val Glu Ala Ala Ser
385

<210> 95
<211> 3140
<212> ADN
<213> Oryza sativa

<400> 95
tgcccagaca gctcgccctg cacacacaca cacactcaca ctcacacacg ctctcaactc 60

actcccgctc aacacagcgc tcacttctca tctccaatct catggtggcc gagcacccca 120

cgccaccaca gccgcaccaa ccaccgccca tggactccac cgccggctct ggcattgccg 180

ccccggcggc ggcggcggtg tgcgacctga ggatggagcc caagatcccg gagccattcg 240

tgtggccgaa cggcgacgcg aggccggcgt cggcggcgga gctggacatg cccgtggtcg 300

acgtgggcgt gctccgcgac ggcgacgccg aggggctgcg ccgcgccgcg gcgcaggtgg 360

ccgccgcgtg cgccacgcac gggttcttcc aggtgtccga gcacggcgtc gacgccgctc 420

tggcgcgcgc cgcgctcgac ggcgccagcg acttcttccg cctcccgctc gccgagaagc 480

gccgcgcgcg ccgcgtcccg ggcaccgtgt ccggctacac cagcgcccac gccgaccgct 540

tcgcctccaa gctcccatgg aaggagaccc tctccttcgg cttccacgac cgcgccgccg 600

cccccgtcgt cgccgactac ttctccagca ccctcggccc cgacttcgcg ccaatggggt 660

aattaaaacg atggtggacg acattgcatt tcaaattcaa aacaaattca aaacacaccg 720

accgagatta tgctgaattc aaacgcgttt gtgcgcgcag gagggtgtac cagaagtact 780

gcgaggagat gaaggagctg tcgctgacga tcatggaact cctggagctg agcctgggcg 840

tggagcgagg ctactacagg gagttcttcg cggacagcag ctcaatcatg cggtgcaact 900

actacccgcc atgcccggag ccggagcgga cgctcggcac gggcccgcac tgcgacccca 960

ccgccctcac catcctcctc caggacgacg tcggcggcct cgaggtcctc gtcgacggcg 1020

aatggcgccc cgtcagcccc gtccccggcg ccatggtcat caacatcggc gacaccttca 1080

tggtaaacca tctcctattc tcctctcctc tgttctcctc tgcttcgaag caacagaaca 1140

agtaattcaa gctttttttt ctctctcgcg cgaaattgac gagaaaaata agatcgtggt 1200

aggggcgggg ctttcagctg aaagcgggaa gaaaccgacc tgacgtgatt tctctgttcc 1260

aatcacaaac aatggaatgc cccactcctc catgtgttat gatttatctc acatcttata 1320

gttaatagga gtaagtaaca agctactttt ttcatattat agttcgtttg attttttttt 1380

tttaaagttt ttttagtttt atccaaattt attgaaaaac ttagcaacgt ttataatacc 1440

aaattagtct catttagttt aatattgtat atattttgat aatatattta tgttatatta 1500

aaaatattac tatatttttc tataaacatt attaaaagcc atttataata taaaatggaa 1560

ggagtaatta atatggatct cccccgacat gagaatattt tccgatggtg tgacgacgcc 1620

atgtaagctt cggtgggcct ggacggccag aggtgccaac agccacgtcc aacaacccct 1680

gggtcccccc ctaacactcc aaacagtagt gagtagtgtc tcgtcgcgtt ttagtatttg 1740

atgacaaaca aagtgtgagt tgagttagcc accaccaact tgcacacgag cacatacatt 1800

tgtgtccatt ctcgccagtc acttccatct ctagtcctaa ctcctatcta gcgatgtaag 1860

cggataattt catcatccgt atataaacct gtttgttata gttaatttcc tatataatac 1920

tataacagta tacattttaa aagaaaacaa aattaggata aacaggccct gctcctatcc 1980

atccatggca cttggaagga ccagactcgg tcatgccatg ccaagccaag atatgggtta 2040

tggaagagta gagaagagga gagatgagag ataagcatgc gttctcctcc tcgttggatg 2100

tgtattttgg agggatttgt gtagtagtag cagcggcgcc gcggggacgg atgcggatgg 2160

tggcgctttc ggtggcgttt tcccgggggg gttttggttt ggcgcttggg ggggatggca 2220

tggcgcggcg tgcggctgca cgccacacac acgcgcgcgc acgcacgtac gtcgtcgtcg 2280

ccgcgggcgg acggtagctt agggtggtgt gttccgcgcg cgggcgcgga ttgttccatg 2340

ccgatcgatt tggcgccacc ctcgccgcgg ctcttgtcgc gtcgtgcgcc tctctcgcgc 2400

ggtttgtcct tgtcgcgttg ctcagccggc gacgggggca cggacattgg cgatgtagcc 2460

ctgcacgtgt cggcctctcc gttgatgaat gatgatgtat gtatgtattt ttttttgtct 2520

gaaggaattt gtggggaatt gttgtgtgtg caggcgctgt cgaacgggag gtataagagc 2580

tgcctgcaca gggcggtggt gaaccagcgg cgggagcggc ggtcgctggc gttcttcctg 2640

tgcccgcggg aggacagggt ggtgcggccg ccgccgagcg ccgccacgcc gcagcactac 2700

ccggacttca cctgggccga cctcatgcgc ttcacgcagc gccactaccg cgccgacacc 2760

cgcacgctcg acgccttcac gcgctggctc gcgccgccgg ccgccgacgc cgccgcgacg 2820

gcgcaggtcg aggcggccag ctgatcgccg aacggaacga aacggaacga acagaagccg 2880

atttttggcg gggcccacgc ccacgtgagg ccccacgtgg acagtgggcc cgggcggagg 2940

tggcacccac gtggaccgcg ggccccgcgc cgccttccaa ttttggaccc taccgctgta 3000

catattcata tattgcaaga agaagcaaaa cgtacgtgtg ggttgggttg ggcttctctc 3060

tattactaaa aaaaatataa tggaacgacg gatgaatgga tgcttattta tttatctaaa 3120

ttgaattcga attcggctca 3140

<210> 96
<211> 1170
<212> ADN
<213> Triticum aestivum

<400> 96
atggacacca gccctgcaac tcccctgctc ctccagcctc ctgctcccag cattgacccg 60

ttcgccgcca aggcggccgt caacaagggc ggcggcgcgg caaccgcggt gtacgacctc 120

cggagggagc cgaagatccc cgccccgttc gtgtggccgc acgccgaggt gcgccccacc 180

acggcccagg agctggccgt gccggtggtg gacgtgggcg tgctgcgcaa tggcgacgcc 240

gcggggctcc gccgcgccgt ggcgcaggtg gccgcggcgt gcgccacgca cgggttcttc 300

caggtgtccg ggcacggcgt ggacgaggcc ctggcgcgcg cggcgctgga cggcgcgagc 360

ggcttcttcc ggctgccgct ggccgagaag cagcgcgcgc ggcgcgtccc ggggaccgtg 420

tccgggtaca cgagcgcgca cgccgaccgg ttcgcctcca agctcccctg gaaggagacc 480

ctctccttcg gcttccacga ccgcgccggc gccgcgcccg tcgtggtgga ctacttcacc 540

agcaccctcg ggccggacta cgagccaatg gggagggtgt accaggagta ctgcgggaag 600

atgaaggagc tgtcgctgag gatcatggag ctgctggagc tgagccaggg cgtggagaag 660

cgcgggtact accgggagtt cttcgcggac agcagctcca tcatgcggtg caactactac 720

ccgccgtgcc cggagccgga gcgcacgctg ggcacgggcc cgcactgcga ccccacggcg 780

ctcaccatcc tactgcagga cgacgtgggc gggctggagg tcctcgtcga cggcgactgg 840

cgccccgtcc gccccgtccc cggcgccatg gtcatcaaca tcggcgacac cttcatggcg 900

ctgtcgaacg ggcggtacaa gagctgcctg caccgcgcgg tggtgaaccg gcggcaggag 960

cggcggtcgc tggccttctt cctgtgcccg cgcgaggacc gcgtggtgcg gccgccgccg 1020

ggcctgagga gcccgcggcg gtacccggac ttcacctggg ctgacctcat gcgcttcacg 1080

cagcgccact accgcgccga cacgcgcacc ctcgacgcct tcacccagtg gttctcctcc 1140

tcctcctcct cggcccagga ggcggcctga 1170

<210> 97
<211> 389
<212> PRT
<213> Triticum aestivum

<400> 97

Met Asp Thr Ser Pro Ala Thr Pro Leu Leu Leu Gln Pro Pro Ala Pro
1 5 10 15

Ser Ile Asp Pro Phe Ala Ala Lys Ala Ala Val Asn Lys Gly Gly Gly
20 25 30

Ala Ala Thr Ala Val Tyr Asp Leu Arg Arg Glu Pro Lys Ile Pro Ala
35 40 45

Pro Phe Val Trp Pro His Ala Glu Val Arg Pro Thr Thr Ala Gln Glu
50 55 60

Leu Ala Val Pro Val Val Asp Val Gly Val Leu Arg Asn Gly Asp Ala
65 70 75 80

Ala Gly Leu Arg Arg Ala Val Ala Gln Val Ala Ala Ala Cys Ala Thr
85 90 95

His Gly Phe Phe Gln Val Ser Gly His Gly Val Asp Glu Ala Leu Ala
100 105 110

Arg Ala Ala Leu Asp Gly Ala Ser Gly Phe Phe Arg Leu Pro Leu Ala
115 120 125

Glu Lys Gln Arg Ala Arg Arg Val Pro Gly Thr Val Ser Gly Tyr Thr
130 135 140

Ser Ala His Ala Asp Arg Phe Ala Ser Lys Leu Pro Trp Lys Glu Thr
145 150 155 160

Leu Ser Phe Gly Phe His Asp Arg Ala Gly Ala Ala Pro Val Val Val
165 170 175

Asp Tyr Phe Thr Ser Thr Leu Gly Pro Asp Tyr Glu Pro Met Gly Arg
180 185 190

gtcgccagcg cgcgctcgcc ggcggccatg gacaccagcc ctgcaactcc cctgctcctc 120

cagcctcctg ctcccagcat tgacccgttc gccgccaagg cggccgtcaa caagggcggc 180

ggcgcggcaa ccgcggtgta cgacctccgg agggagccga agatccccgc cccgttcgtg 240

tggccgcacg ccgaggtgcg ccccaccacg gcccaggagc tggccgtgcc ggtggtggac 300

gtgggcgtgc tgcgcaatgg cgacgccgcg gggctccgcc gcgccgtggc gcaggtggcc 360

gcggcgtgcg ccacgcacgg gttcttccag gtgtccgggc acggcgtgga cgaggccctg 420

gcgcgcgcgg cgctggacgg cgcgagcggc ttcttccggc tgccgctggc cgagaagcag 480

cgcgcgcggc gcgtcccggg gaccgtgtcc gggtacacga gcgcgcacgc cgaccggttc 540

gcctccaagc tcccctggaa ggagaccctc tccttcggct tccacgaccg cgccggcgcc 600

gcgcccgtcg tggtggacta cttcaccagc accctcgggc cggactacga gccaatgggg 660

taatatatcc acccgcccac acccctatcc ggccagcacg aatccatccc cgccactgca 720

ttttttttcct tttgtttccg cgcgaccgta cgttcgatcg gcgcccacgt acgtacgtgc 780

gtacgcagta gcagtacttg aagccgccgt actacgtgct gagtagtgac aactgaacac 840

gtgcaggagg gtgtaccagg agtactgcgg gaagatgaag gagctgtcgc tgaggatcat 900

ggagctgctg gagctgagcc agggcgtgga gaagcgcggg tactaccggg agttcttcgc 960

ggacagcagc tccatcatgc ggtgcaacta ctacccgccg tgcccggagc cggagcgcac 1020

gctgggcacg ggcccgcact gcgaccccac ggcgctcacc atcctactgc aggacgacgt 1080

gggcgggctg gaggtcctcg tcgacggcga ctggcgcccc gtccgccccg tccccggcgc 1140

catggtcatc aacatcggcg acaccttcat ggtaattact cctctctcag cgttgctttc 1200

gctgattaat tgcagaaaca gtagtcaact acccatgctc tgttccgctg tgctctgctt 1260

cccaacgagc gaaccggccc ataaaaactg ccttgctgtc ttggaaccaa gaggaaaggg 1320

accgtgggag cctaccgaca cgacgtgatt gcactctgct tcctaacaag cgagccgccg 1380

gtagggctat caccgtaagg gctcctttga ttcaaaggaa tttcttagga tttctgaagg 1440

attgaaatcc ttaggatttt ttcctatgtt ggtacttcga ttcataggat tgaatcccat 1500

aggatttttt tcctatgaaa tcttctgtac tacatttcat aggaaatcta acatccactc 1560

caacctttt ttatatttcc tttgtttttc atgtgccatc aaacactcct tgttaatcct 1620

ataggattca agtgggcatg ccactccaat cctatacttt tcccattcct acgttttcaa 1680

aatcctacga atcaaagagg ccctaaagct gctgacatga cgtgattttt tttttctttt 1740

ctttctttct ttctcagctc caatcaacgc tggttattag atcattagag tggacaggtt 1800

gaattaacat gcagtagtta gtagttagca gccacaaacg ggtcccgttc tctgaagtct 1860

Val Tyr Gln Glu Tyr Cys Gly Lys Met Lys Glu Leu Ser Leu Arg Ile
195 200 205

Met Glu Leu Leu Glu Leu Ser Gln Gly Val Glu Lys Arg Gly Tyr Tyr
210 215 220

Arg Glu Phe Phe Ala Asp Ser Ser Ser Ile Met Arg Cys Asn Tyr Tyr
225 230 235 240

Pro Pro Cys Pro Glu Pro Glu Arg Thr Leu Gly Thr Gly Pro His Cys
245 250 255

Asp Pro Thr Ala Leu Thr Ile Leu Leu Gln Asp Asp Val Gly Gly Leu
260 265 270

Glu Val Leu Val Asp Gly Asp Trp Arg Pro Val Arg Pro Val Pro Gly
275 280 285

Ala Met Val Ile Asn Ile Gly Asp Thr Phe Met Ala Leu Ser Asn Gly
290 295 300

Arg Tyr Lys Ser Cys Leu His Arg Ala Val Val Asn Arg Arg Gln Glu
305 310 315 320

Arg Arg Ser Leu Ala Phe Phe Leu Cys Pro Arg Glu Asp Arg Val Val
325 330 335

Arg Pro Pro Pro Gly Leu Arg Ser Pro Arg Arg Tyr Pro Asp Phe Thr
340 345 350

Trp Ala Asp Leu Met Arg Phe Thr Gln Arg His Tyr Arg Ala Asp Thr
355 360 365

Arg Thr Leu Asp Ala Phe Thr Gln Trp Phe Ser Ser Ser Ser Ser Ser
370 375 380

Ala Gln Glu Ala Ala
385

<210> 98
<211> 3050
<212> ADN
<213> Triticum aestivum

<400> 98
ctcatggtgc tccagaccgc tcagcaagaa ccatccctga cgcgtccgcc tcactgcagc 60

gaactgacat aagtcctgat catcgaccat tctttgcttc ctaggacgat gcctgttgga 1920

acttgcgtcc aatgcccgtt agggagtggt aattgtcatc acttttagac tcgtcgattc 1980

cactgatgaa gacgtagcac atggatgagc caacgtatcc gtttctagtg gtctcgaaaa 2040

gtagggtttc attcattcta tctatctatc cgtccgtcca aaagggctgc gatgcgagca 2100

cttgagtcgg agccaatcag agcgcgagaa aagatagggg gggtagcaag ccatgtcgga 2160

ggggcgtttg cttccggcag gtttggattc ttgtggtagg cgggcggctc tgtacagtag 2220

cggcggtgac ggtgaggtgg cggcgctttc ggtggcgggc caacccaggt gcatgcacgc 2280

gcgctcgtcg ttttcccgcc tgaatctgcc gctgcgccca tggcaagggg gtgggtgctg 2340

ccgccgggcg atggagtaga tcacggtcgc cgtcgggctc ggccagttga tcacggttcg 2400

ttcgtgcggt actaggttcc cccacggcac tgtgactgca tcgttccggc cctcgccatt 2460

ggcgatcggg caatctcctg ttcatccgtc gctgttgatt cctcggccac gatagaccat 2520

gcgcgtgccg gtcgtcgccc cgtcgcgctc gcttcacgtg ctcgtcgcgt ggctcccgtc 2580

ccacacgagg ccgccgcttt ctgacccagt ggagcgcgtg atttacagtt tatatatgtc 2640

gctgcatttt tctttttgtg tgctgctcat tttgcttgga cggagaccgg gaacgattag 2700

ccacggatct aacgcgttgt tgcttgtttt caatgcatgc atgcaggcgc tgtcgaacgg 2760

gcggtacaag agctgcctgc accgcgcggt ggtgaaccgg cggcaggagc ggcggtcgct 2820

ggccttcttc ctgtgcccgc gcgaggaccg cgtggtgcgg ccgccgccgg gcctgaggag 2880

cccgcggcgg tacccggact tcacctgggc tgacctcatg cgcttcacgc agcgccacta 2940

ccgcgccgac acgcgcaccc tcgacgcctt cacccagtgg ttctcctcct cctcctcctc 3000

ggcccaggag gcggcctgat tctgctctgc cacgaaacga tcggtccaca 3050

<210> 99
<211> 1486
<212> ADN
<213> Hordeum vulgare

<400> 99
gaccagtagc atatagtttt tcttgtgttt gccatggtgg acgtgtcgaa ctttgtagaa 60

gccaatggca atgcagcagt atcgattcct gccatggaag ttgctgggag tcctcacgtc 120

ccgttcgttc ctcgggacgc gaacgcgaca gacagcaaga atgccaagga cgtcctcgac 180

ctctggcggc agcagaaaca aatcccggct cccttcatct ggccccacgc cgacgcgcgg 240

ccgtcgtcga tcttggagct ggacgtgccc gtggtcgaca tcggcgcggc cctgcacagc 300

gccgccggga tggcccgcgc cgcggcgcag gtggccgagg catgcgcgag ccacggcttc 360

ttccaggtga ccgggcacgg cgtcgacccc gcgctggccc aagcagcgct cgacggcgca 420

gcggacttct tccgcctgcc gctcgccacc aagcagcgcg cccgccgatc cccggggacc 480

gtcaaagggt acgcctccgc ccacgccgac cgcttcgccg ccaagcttcc ctggaaggag 540

actctctcct tcatccacaa ccacgtccac gaggacgtcg gcgcccgcgc aagcagtcac 600

gtcgtcgact acttcacctc cgcccttggc gacgacttca tgcacctagg ggaggtgtac 660

caggagtact gtgaggcgat ggaggacgcg tcgctggcga taatggaggt gctgggggtg 720

agcctggggc tggggagagg gtactacagg gacttcttcg ccgacggcag ctccatcatg 780

aggtgcaact actacccgcg gtgcccggag ccggaccgga cgctggggac ggggccgcac 840

tgcgacccgt cggcgctgac catcctgctg caggacggcg aggtggacgg gctccaggtg 900

ctcgtcgacg gcgcatggcg ctccgtgcgg cccaagcccg gcgagctcgt cgtaaacatc 960

ggcgacacct tcatggcgct gtcgaacggc cggtacaaga gctgcctcca ccgcgcggtg 1020

gtgcaccggg agaaggagcg ccggtcgctg gcctacttcc tcgccccgcg ggaggaccgg 1080

gtggttcgcc cgccgccttc gccggcgccg gcgccgcggc tctacccgga cttcacctgg 1140

gcggagctca tgcgattcac gcagcgccac taccgcgccg acgcccgcac gctcgacgcc 1200

ttcgcgtgct ggctcgacct gcccagctgc cccaccacgc cccaggccca agggactgtc 1260

tagtgtctgt gatgtatcat ctgtctcagc tgttgtatac gaccacttgt gtctgctagc 1320

tctgcgcttg tgtttcttat gtgagctaac taactaaata gtgtgtatat ttcttgccgc 1380

gccttatgca agccctagtc tagaacatgt aataattaac ttaagcatat acgttgatct 1440

ttggtgtatt tttcatattt ccttcataat gaataatcta ttatgc 1486

<210> 100
<211> 1230
<212> ADN
<213> Hordeum vulgare

<400> 100
atggtggacg tgtcgaactt tgtagaagcc aatggcaatg cagcagtatc gattcctgcc 60

atggaagttg ctgggagtcc tcacgtcccg ttcgttcctc gggacgcgaa cgcgacagac 120

agcaagaatg ccaaggacgt cctcgacctc tggcggcagc agaaacaaat cccggctccc 180

ttcatctggc cccacgccga cgcgcggccg tcgtcgatct tggagctgga cgtgcccgtg 240

gtcgacatcg gcgcggccct gcacagcgcc gccgggatgg cccgcgccgc ggcgcaggtg 300

gccgaggcat gcgcgagcca cggcttcttc caggtgaccg ggcacggcgt cgaccccgcg 360

ctggcccaag cagcgctcga cggcgcagcg gacttcttcc gcctgccgct cgccaccaag 420

cagcgcgccc gccgatcccc ggggaccgtc aaagggtacg cctccgccca cgccgaccgc 480

ttcgccgcca agcttccctg gaaggagact ctctccttca tccacaacca cgtccacgag 540

gacgtcggcg cccgcgcaag cagtcacgtc gtcgactact tcacctccgc ccttggcgac 600

gacttcatgc acctagggga ggtgtaccag gagtactgtg aggcgatgga ggacgcgtcg 660

ctggcgataa tggaggtgct gggggtgagc ctggggctgg ggagagggta ctacagggac 720

ttcttcgccg acggcagctc catcatgagg tgcaactact acccgcggtg cccggagccg 780

gaccggacgc tggggacggg gccgcactgc gacccgtcgg cgctgaccat cctgctgcag 840

gacggcgagg tggacgggct ccaggtgctc gtcgacggcg catggcgctc cgtgcggccc 900

aagcccggcg agctcgtcgt aaacatcggc gacaccttca tggcgctgtc gaacggccgg 960

tacaagagct gcctccaccg cgcggtggtg caccgggaga aggagcgccg gtcgctggcc 1020

tacttcctcg ccccgcggga ggaccgggtg gttcgcccgc cgccttcgcc ggcgccggcg 1080

ccgcggctct acccggactt cacctgggcg gagctcatgc gattcacgca gcgccactac 1140

cgcgccgacg cccgcacgct cgacgccttc gcgtgctggc tcgacctgcc cagctgcccc 1200

accacgcccc aggcccaagg gactgtctag 1230

<210> 101
<211> 409
<212> PRT
<213> Hordeum vulgare

<400> 101

Met Val Asp Val Ser Asn Phe Val Glu Ala Asn Gly Asn Ala Ala Val
1 5 10 15

Ser Ile Pro Ala Met Glu Val Ala Gly Ser Pro His Val Pro Phe Val
20 25 30

Pro Arg Asp Ala Asn Ala Thr Asp Ser Lys Asn Ala Lys Asp Val Leu
35 40 45

Asp Leu Trp Arg Gln Gln Lys Gln Ile Pro Ala Pro Phe Ile Trp Pro
50 55 60

His Ala Asp Ala Arg Pro Ser Ser Ile Leu Glu Leu Asp Val Pro Val
65 70 75 80

Val Asp Ile Gly Ala Ala Leu His Ser Ala Ala Gly Met Ala Arg Ala
85 90 95

Ala Ala Gln Val Ala Glu Ala Cys Ala Ser His Gly Phe Phe Gln Val

100 105 110

Thr Gly His Gly Val Asp Pro Ala Leu Ala Gln Ala Ala Leu Asp Gly
115 120 125

Ala Ala Asp Phe Phe Arg Leu Pro Leu Ala Thr Lys Gln Arg Ala Arg
130 135 140

Arg Ser Pro Gly Thr Val Lys Gly Tyr Ala Ser Ala His Ala Asp Arg
145 150 155 160

Phe Ala Ala Lys Leu Pro Trp Lys Glu Thr Leu Ser Phe Ile His Asn
165 170 175

His Val His Glu Asp Val Gly Ala Arg Ala Ser Ser His Val Val Asp
180 185 190

Tyr Phe Thr Ser Ala Leu Gly Asp Asp Phe Met His Leu Gly Glu Val
195 200 205

Tyr Gln Glu Tyr Cys Glu Ala Met Glu Asp Ala Ser Leu Ala Ile Met
210 215 220

Glu Val Leu Gly Val Ser Leu Gly Leu Gly Arg Gly Tyr Tyr Arg Asp
225 230 235 240

Phe Phe Ala Asp Gly Ser Ser Ile Met Arg Cys Asn Tyr Tyr Pro Arg
245 250 255

Cys Pro Glu Pro Asp Arg Thr Leu Gly Thr Gly Pro His Cys Asp Pro
260 265 270

Ser Ala Leu Thr Ile Leu Leu Gln Asp Gly Glu Val Asp Gly Leu Gln
275 280 285

Val Leu Val Asp Gly Ala Trp Arg Ser Val Arg Pro Lys Pro Gly Glu
290 295 300

Leu Val Val Asn Ile Gly Asp Thr Phe Met Ala Leu Ser Asn Gly Arg
305 310 315 320

Tyr Lys Ser Cys Leu His Arg Ala Val Val His Arg Glu Lys Glu Arg
325 330 335

Arg Ser Leu Ala Tyr Phe Leu Ala Pro Arg Glu Asp Arg Val Val Arg

340 345 350

Pro Pro Pro Ser Pro Ala Pro Ala Pro Arg Leu Tyr Pro Asp Phe Thr
355 360 365

Trp Ala Glu Leu Met Arg Phe Thr Gln Arg His Tyr Arg Ala Asp Ala
370 375 380

Arg Thr Leu Asp Ala Phe Ala Cys Trp Leu Asp Leu Pro Ser Cys Pro
385 390 395 400

Thr Thr Pro Gln Ala Gln Gly Thr Val
405

<210> 102
<211> 1423
<212> ADN
<213> Sorghum bicolor

<400> 102
cctctcatca caggccccag cctcactctt ctcacagcaa gacatcgcag cctcacaacc 60

acacagcaac gtgatcgcca tgggcgggct caccatggag caggccttcg tgcaggcccc 120

cgagcaccgc cccaagccca ccgtcaccga ggccaccggc atcctggtca tcgacctctc 180

gcctctcacc gccagcgaca ccgacgcggc cgcggtggac gcgctggccg ccgaggtggg 240

cgcggcgagc cgggactggg gcttcttcgt ggtggttggc cacggcgtgc ccgcggagac 300

cgtggcgcgc gcgacggcgg cgcagcgcgc gttcttcgcg ctgccggcgg agcggaaggc 360

cgccgtgcgg aggagcgagg cggagccgct cgggtactac gagtcggagc acaccaagaa 420

cgtcagggac tggaaggagg tgttcgacct cgtcccgcgc gatccgccgc cgccagcagc 480

cgtggccgac ggcgagctcg tcttcaagaa caagtggccc caggatctgc cgggcttcag 540

agaggcgctg gaggagtacg cggcagcgat ggaggagctg tcgttcaagc tgctggagct 600

gatcgcccgg agcttgaagc tgaggcccga ccggctgcac ggcttcttca aggaccagac 660

gacgttcatc cggctgaacc actaccctcc atgcccgagc ccggacctgg cgctgggagt 720

ggggcggcac aaggacgcgg gggcgctgac catcctgtac caggacgaag tgggcgggct 780

ggacgtccgg cggcgctcct ccgacggcgg cggcggcgag tgggtgcggg tgaggcccgt 840

gccggagtcg ttcgtcatca acgtcggcga cctcgtccag gtgtggagca acgacaggta 900

cgagagcgcg gagcaccggg tgtcggtgaa ctcggcgagg gagaggttct ccatgcccta 960

cttcttcaac ccggcgagct acaccatggt ggagccggtg gaggagctgg tgagcgacga 1020

cgacccgccc aggtacgacg cctacagctg gggcgagttc ttcagcacca ggaagaacag 1080

caacttcaag aagctcagcg tggagaacat tcagatcgcg catttcaaga agaccctcgt 1140

cctcgcctag ataagcagca ggatactaca ggtctacagg actaggacaa gccgatcgag 1200

gtgaccggcc gtcgtcttca gattcagtat atgcgtgtcg ccgttcgtgt tagaacaaat 1260

taataatgtg cgcgctgtgt gctgtgtgtg tggagtaaaa aaaaactaaa catggatgtg 1320

catgttcaaa aaaaaaaaca tggatgcgag tatgtttggg aataataaca ggcttgtgac 1380

ggtctggttt atttgcaaat tcaaaccgaa ttggttgatc ttc 1423

<210> 103
<211> 1071
<212> ADN
<213> Sorghum bicolor

<400> 103
atgggcgggc tcaccatgga gcaggccttc gtgcaggccc ccgagcaccg ccccaagccc 60

accgtcaccg aggccaccgg catcctggtc atcgacctct cgcctctcac cgccagcgac 120

accgacgcgg ccgcggtgga cgcgctggcc gccgaggtgg gcgcggcgag ccgggactgg 180

ggcttcttcg tggtggttgg ccacggcgtg cccgcggaga ccgtggcgcg cgcgacggcg 240

gcgcagcgcg cgttcttcgc gctgccggcg gagcggaagg ccgccgtgcg gaggagcgag 300

gcggagccgc tcgggtacta cgagtcggag cacaccaaga acgtcaggga ctggaaggag 360

gtgttcgacc tcgtcccgcg cgatccgccg ccgccagcag ccgtggccga cggcgagctc 420

gtcttcaaga acaagtggcc ccaggatctg ccgggcttca gagaggcgct ggaggagtac 480

gcggcagcga tggaggagct gtcgttcaag ctgctggagc tgatcgcccg gagcttgaag 540

ctgaggcccg accggctgca cggcttcttc aaggaccaga cgacgttcat ccggctgaac 600

cactaccctc catgcccgag cccggacctg gcgctgggag tggggcggca caaggacgcg 660

ggggcgctga ccatcctgta ccaggacgaa gtgggcgggc tggacgtccg gcggcgctcc 720

tccgacggcg gcggcggcga gtgggtgcgg gtgaggcccg tgccggagtc gttcgtcatc 780

aacgtcggcg acctcgtcca ggtgtggagc aacgacaggt acgagagcgc ggagcaccgg 840

gtgtcggtga actcggcgag ggagaggttc tccatgccct acttcttcaa cccggcgagc 900

tacaccatgg tggagccggt ggaggagctg gtgagcgacg acgacccgcc caggtacgac 960

gcctacagct ggggcgagtt cttcagcacc aggaagaaca gcaacttcaa gaagctcagc 1020

gtggagaaca ttcagatcgc gcatttcaag aagaccctcg tcctcgccta g 1071

<210> 104
<211> 356
<212> PRT

<213> Sorghum bicolor

<400> 104

Met Gly Gly Leu Thr Met Glu Gln Ala Phe Val Gln Ala Pro Glu His
1 5 10 15

Arg Pro Lys Pro Thr Val Thr Glu Ala Thr Gly Ile Leu Val Ile Asp
20 25 30

Leu Ser Pro Leu Thr Ala Ser Asp Thr Asp Ala Ala Ala Val Asp Ala
35 40 45

Leu Ala Ala Glu Val Gly Ala Ala Ser Arg Asp Trp Gly Phe Phe Val
50 55 60

Val Val Gly His Gly Val Pro Ala Glu Thr Val Ala Arg Ala Thr Ala
65 70 75 80

Ala Gln Arg Ala Phe Phe Ala Leu Pro Ala Glu Arg Lys Ala Ala Val
85 90 95

Arg Arg Ser Glu Ala Glu Pro Leu Gly Tyr Tyr Glu Ser Glu His Thr
100 105 110

Lys Asn Val Arg Asp Trp Lys Glu Val Phe Asp Leu Val Pro Arg Asp
115 120 125

Pro Pro Pro Pro Ala Ala Val Ala Asp Gly Glu Leu Val Phe Lys Asn
130 135 140

Lys Trp Pro Gln Asp Leu Pro Gly Phe Arg Glu Ala Leu Glu Glu Tyr
145 150 155 160

Ala Ala Ala Met Glu Glu Leu Ser Phe Lys Leu Leu Glu Leu Ile Ala
165 170 175

Arg Ser Leu Lys Leu Arg Pro Asp Arg Leu His Gly Phe Phe Lys Asp
180 185 190

Gln Thr Thr Phe Ile Arg Leu Asn His Tyr Pro Pro Cys Pro Ser Pro
195 200 205

Asp Leu Ala Leu Gly Val Gly Arg His Lys Asp Ala Gly Ala Leu Thr
210 215 220

Ile Leu Tyr Gln Asp Glu Val Gly Gly Leu Asp Val Arg Arg Arg Ser
225 230 235 240

Ser Asp Gly Gly Gly Gly Glu Trp Val Arg Val Arg Pro Val Pro Glu
245 250 255

Ser Phe Val Ile Asn Val Gly Asp Leu Val Gln Val Trp Ser Asn Asp
260 265 270

Arg Tyr Glu Ser Ala Glu His Arg Val Ser Val Asn Ser Ala Arg Glu
275 280 285

Arg Phe Ser Met Pro Tyr Phe Phe Asn Pro Ala Ser Tyr Thr Met Val
290 295 300

Glu Pro Val Glu Glu Leu Val Ser Asp Asp Asp Pro Pro Arg Tyr Asp
305 310 315 320

Ala Tyr Ser Trp Gly Glu Phe Phe Ser Thr Arg Lys Asn Ser Asn Phe
325 330 335

Lys Lys Leu Ser Val Glu Asn Ile Gln Ile Ala His Phe Lys Lys Thr
340 345 350

Leu Val Leu Ala
355

<210> 105
<211> 1499
<212> ADN
<213> Sorghum bicolor

<400> 105
cctctcatca caggccccag cctcactctt ctcacagcaa gacatcgcag cctcacaacc 60

acacagcaac gtgatcgcca tgggcgggct caccatggag caggccttcg tgcaggcccc 120

cgagcaccgc cccaagccca ccgtcaccga ggccaccggc atcctggtca tcgacctctc 180

gcctctcacc gccagcgaca ccgacgcggc cgcggtggac gcgctggccg ccgaggtggg 240

cgcggcgagc cgggactggg gcttcttcgt ggtggttggc cacggcgtgc ccgcggagac 300

cgtggcgcgc gcgacggcgg cgcagcgcgc gttcttcgcg ctgccggcgg agcggaaggc 360

cgccgtgcgg aggagcgagg cggagccgct cgggtactac gagtcggagc acaccaagaa 420

cgtcagggac tggaaggagg tgttcgacct cgtcccgcgc gatccgccgc cgccagcagc 480

cgtggccgac ggcgagctcg tcttcaagaa caagtggccc caggatctgc cgggcttcag 540

cagactgcac ggcttcttca aggaccagac caccttcatc cggctcaacc actaccctcc 720

ctgcccgagc cccgacctcg ccctcggcgt cggccggcac aaggacgccg gagcactgac 780

catcctctac caggacgacg tcggcgggct cgacgtccgg cgccgttccg acggcgattg 840

ggtccgcgtc aagcctgtcc ccgactcctt catcatcaac gtcggcgacc tcatccaggt 900

ttggagcaac gacaggtacg agagcgcgga gcaccgggtt acggtgaact cggccaagga 960

gaggttctcc aggccctact tcttcaaccc ggcgggctac accatggtgg agccggtgga 1020

ggagctggtg agcgaggagg acccgccccg gtacgacgcc tacaactggg gcaacttctt 1080

cagcaccagg aagaacagca acttcaagaa gctgagcgtg gagaacatcc agatcgcgca 1140

tttcaagagg agcgtcgccg cctaggatac gcacagaaag atcccatatg ctgacttgct 1200

gatgaggcga caggcggccg tgtcgtcttc agattcagag actgggagta aacatttgtg 1260

cggtgttctg taatcgtgat gtgacgagaa ctttagatat atgtttggaa ataacagcct 1320

tgtgttggtc tggcttatcc gcaaagtcaa gattttcttc tacattttgg gattattgtt 1380

ggtaagcatt aagcaacgtc cagttcttac ttcttagctc gatcagtgga cgtaggaccg 1440

gcctctgatg acaagggtga tttatgagaa atgtcatgta tatatgttcc 1490

<210> 107
<211> 1059
<212> ADN
<213> Setaria italica

<400> 107
atgggcggct tctccatgga tcagtccttc gtgcaggccc ccgagcaccg ccccaagccc 60

accgtcaccg aggccacggg catcccgctc atcgacctct cgccactcac cggcggtggc 120

ggcggcgacg cggccgccgt ggacgcgctg gccgccgagg tgggcgcggc gagccgggac 180

tggggcttct tcgtggtggt ggggcacggt gtgccggcgg agaccgtggc gcgcgccacg 240

gaggcgcagc gcgcgttctt cgccctgccg gcggagcgga aagccgccgt gcggaggagc 300

gaggcggagc cgctcgggta ctacgagtcg gagcacacca agaacgtcag ggactggaag 360

gaggtgtacg acctcgtccc gggcgggctt cagccgccga tagccgtggc cgacggcgag 420

gtcgtgttcg aaaacaagtg gcccgaagac ctgccgggat tcagagaggc gttggaggag 480

tacatgcaag cgatggaaga gctggcattc aagatactgg agctgatcgc ccggagcctg 540

aacctgaggc ctgacagact gcacggcttc ttcaaggacc agaccacctt catccggctc 600

aaccactacc ctccctgccc gagccccgac ctcgccctcg gcgtcggccg gcacaaggac 660

gccggagcac tgaccatcct ctaccaggac gacgtcggcg ggctcgacgt ccggcgccgt 720

gtgacgaaat caacttatct tttcgatcat attttaccat ttaatagttt aacaataatt 600

gaacttttt ttgcagagag gcgctggagg agtacgcggc agcgatggag gagctgtcgt 660

tcaagctgct ggagctgatc gcccggagct tgaagctgag gcccgaccgg ctgcacggct 720

tcttcaagga ccagacgacg ttcatccggc tgaaccacta ccctccatgc ccgagcccgg 780

acctggcgct gggagtgggg cggcacaagg acgcgggggc gctgaccatc ctgtaccagg 840

acgaagtggg cgggctggac gtccggcggc gctcctccga cggcggcggc ggcgagtggg 900

tgcgggtgag gcccgtgccg gagtcgttcg tcatcaacgt cggcgacctc gtccaggtgt 960

ggagcaacga caggtacgag agcgcggagc accgggtgtc ggtgaactcg gcgagggaga 1020

ggttctccat gccctacttc ttcaacccgg cgagctacac catggtggag ccggtggagg 1080

agctggtgag cgacgacgac ccgcccaggt acgacgccta cagctggggc gagttcttca 1140

gcaccaggaa gaacagcaac ttcaagaagc tcagcgtgga gaacattcag atcgcgcatt 1200

tcaagaagac cctcgtcctc gcctagataa gcagcaggat actacaggtc tacaggacta 1260

ggacaagccg atcgaggtga ccggccgtcg tcttcagatt cagtatatgc gtgtcgccgt 1320

tcgtgttaga acaaattaat aatgtgcgcg ctgtgtgctg tgtgtgtgga gtaaaaaaaa 1380

actaaacatg gatgtgcatg ttcaaaaaaa aaaacatgga tgcgagtatg tttgggaata 1440

ataacaggct tgtgacggtc tggtttattt gcaaattcaa accgaattgg ttgatcttc 1499

<210> 106
<211> 1490
<212> ADN
<213> Setaria italica

<400> 106
accccacaca cacacccgca ctgcatgcgg cgtcctagct aatcagtcgc tgctggcagc 60

ctcacaagtc acacaactcc gacgcaggaa agctcgatcc atcgccatgg gcggcttctc 120

catggatcag tccttcgtgc aggcccccga gcaccgcccc aagcccaccg tcaccgaggc 180

cacgggcatc ccgctcatcg acctctcgcc actcaccggc ggtggcggcg gcgacgcggc 240

cgccgtggac gcgctggccg ccgaggtggg cgcggcgagc cgggactggg gcttcttcgt 300

ggtggtgggg cacggtgtgc cggcggagac cgtggcgcgc gccacggagg cgcagcgcgc 360

gttcttcgcc ctgccggcgg agcggaaagc cgccgtgcgg aggagcgagg cggagccgct 420

cgggtactac gagtcggagc acaccaagaa cgtcagggac tggaaggagg tgtacgacct 480

cgtcccgggc gggcttcagc cgccgatagc cgtggccgac ggcgaggtcg tgttcgaaaa 540

caagtggccc gaagacctgc cgggattcag agaggcgttg gaggagtaca tgcaagcgat 600

ggaagagctg gcattcaaga tactggagct gatcgcccgg agcctgaacc tgaggcctga 660

tccgacggcg attgggtccg cgtcaagcct gtccccgact ccttcatcat caacgtcggc 780

gacctcatcc aggtttggag caacgacagg tacgagagcg cggagcaccg ggttacggtg 840

aactcggcca aggagaggtt ctccaggccc tacttcttca acccggcggg ctacaccatg 900

gtggagccgg tggaggagct ggtgagcgag gaggacccgc cccggtacga cgcctacaac 960

tggggcaact tcttcagcac caggaagaac agcaacttca agaagctgag cgtggagaac 1020

atccagatcg cgcatttcaa gaggagcgtc gccgcctag 1059

<210> 108
<211> 352
<212> PRT
<213> Setaria italica

<400> 108

Met Gly Gly Phe Ser Met Asp Gln Ser Phe Val Gln Ala Pro Glu His
1 5 10 15

Arg Pro Lys Pro Thr Val Thr Glu Ala Thr Gly Ile Pro Leu Ile Asp
20 25 30

Leu Ser Pro Leu Thr Gly Gly Gly Gly Gly Asp Ala Ala Ala Val Asp
35 40 45

Ala Leu Ala Ala Glu Val Gly Ala Ala Ser Arg Asp Trp Gly Phe Phe
50 55 60

Val Val Val Gly His Gly Val Pro Ala Glu Thr Val Ala Arg Ala Thr
65 70 75 80

Glu Ala Gln Arg Ala Phe Phe Ala Leu Pro Ala Glu Arg Lys Ala Ala
85 90 95

Val Arg Arg Ser Glu Ala Glu Pro Leu Gly Tyr Tyr Glu Ser Glu His
100 105 110

Thr Lys Asn Val Arg Asp Trp Lys Glu Val Tyr Asp Leu Val Pro Gly
115 120 125

Gly Leu Gln Pro Pro Ile Ala Val Ala Asp Gly Glu Val Val Phe Glu
130 135 140

Asn Lys Trp Pro Glu Asp Leu Pro Gly Phe Arg Glu Ala Leu Glu Glu
145 150 155 160

Tyr Met Gln Ala Met Glu Glu Leu Ala Phe Lys Ile Leu Glu Leu Ile
165 170 175

Ala Arg Ser Leu Asn Leu Arg Pro Asp Arg Leu His Gly Phe Phe Lys
180 185 190

Asp Gln Thr Thr Phe Ile Arg Leu Asn His Tyr Pro Pro Cys Pro Ser
195 200 205

Pro Asp Leu Ala Leu Gly Val Gly Arg His Lys Asp Ala Gly Ala Leu
210 215 220

Thr Ile Leu Tyr Gln Asp Asp Val Gly Gly Leu Asp Val Arg Arg Arg
225 230 235 240

Ser Asp Gly Asp Trp Val Arg Val Lys Pro Val Pro Asp Ser Phe Ile
245 250 255

Ile Asn Val Gly Asp Leu Ile Gln Val Trp Ser Asn Asp Arg Tyr Glu
260 265 270

Ser Ala Glu His Arg Val Thr Val Asn Ser Ala Lys Glu Arg Phe Ser
275 280 285

Arg Pro Tyr Phe Phe Asn Pro Ala Gly Tyr Thr Met Val Glu Pro Val
290 295 300

Glu Glu Leu Val Ser Glu Glu Asp Pro Pro Arg Tyr Asp Ala Tyr Asn
305 310 315 320

Trp Gly Asn Phe Phe Ser Thr Arg Lys Asn Ser Asn Phe Lys Lys Leu
325 330 335

Ser Val Glu Asn Ile Gln Ile Ala His Phe Lys Arg Ser Val Ala Ala
340 345 350

<210> 109
<211> 1886
<212> ADN
<213> Setaria italica

<400> 109
accccacaca cacacccgca ctgcatgcgg cgtcctagct aatcagtcgc tgctggcagc 60

ctcacaagtc acacaactcc gacgcaggaa agctcgatcc atcgccatgg gcggcttctc 120

catggatcag tccttcgtgc aggccccga gcaccgcccc aagcccaccg tcaccgaggc 180

cacgggcatc ccgctcatcg acctctcgcc actcaccggc ggtggcggcg gcgacgcggc 240

cgccgtggac gcgctggccg ccgaggtggg cgcggcgagc cgggactggg gcttcttcgt 300

ggtggtgggg cacggtgtgc cggcggagac cgtggcgcgc gccacggagg cgcagcgcgc 360

gttcttcgcc ctgccggcgg agcggaaagc cgccgtgcgg aggagcgagg cggagccgct 420

cgggtactac gagtcggagc acaccaagaa cgtcagggac tggaaggagg tgtacgacct 480

cgtcccgggc gggcttcagc cgccgatagc cgtggccgac ggcgaggtcg tgttcgaaaa 540

caagtggccc gaagacctgc cgggattcag gtgaatcaac ttgcgcatat tgttgtttct 600

ggcattgcat atgatcgtcg tgccagtatg ttttgacaat atttttgttt tcatattttt 660

ggtgaagatg ggaaaatctt tgttgaaata atcagggaat tttcacatct ttttttaatc 720

aaagatagaa taggttcggt tactgaattt tgatgatgga cagaaaaagc tgtgttttca 780

ctttccatct cagcgatgtt tttttgtgga tgaattctcc taaatttttg tcttttcatg 840

ttaaaacttg aacgggaatt ctcgcagaga ggcgttggag gagtacatgc aagcgatgga 900

agagctggca ttcaagatac tggagctgat cgcccggagc ctgaacctga ggcctgacag 960

actgcacggc ttcttcaagg accagaccac cttcatccgg ctcaaccact accctccctg 1020

cccgagcccc gacctcgccc tcggcgtcgg ccggcacaag gacgccggag cactgaccat 1080

cctctaccag gacgacgtcg gcgggctcga cgtccggcgc cgttccgacg gcgattgggt 1140

ccgcgtcaag cctgtccccg actccttcat catcaacgtc ggcgacctca tccaggtaca 1200

acaaacaaaa acacacgtca ttctcaaatc ttttcgtgct gttaatgctc attcacgaat 1260

tgatatctta catgaacgac tgagactttt tcaggtttgg agcaacgaca ggtacgagag 1320

cgcggagcac cgggttacgg tgaactcggc caaggagagg ttctccaggc cctacttctt 1380

caacccggcg ggctacacca tggtggagcc ggtggaggag ctggtgagcg aggaggaccc 1440

gccccggtac gacgcctaca actggggcaa cttcttcagc accaggaaga acagcaactt 1500

caagaagctg agcgtggaga acatccagat cgcgcatttc aagaggagcg tcgccgccta 1560

ggatacgcac agaaagatcc catatgctga cttgctgatg aggcgacagg cggccgtgtc 1620

gtcttcagat tcagagactg ggagtaaaca tttgtgcggt gttctgtaat cgtgatgtga 1680

cgagaacttt agatatatgt ttggaaataa cagccttgtg ttggtctggc ttatccgcaa 1740

agtcaagatt ttcttctaca ttttgggatt attgttggta agcattaagc aacgtccagt 1800

tcttacttct tagctcgatc agtggacgta ggaccggcct ctgatgacaa gggtgattta 1860

tgagaaatgt catgtatata tgttcc 1886

<210> 110

tccgtcgccg aggccgacgg catcccggtc atcgacctct cccctctcct cgccgccggc 120

gatggcgacg ccgacggggt ggacgcgctc gcggcggagg tcgggagggc gagccgggac 180

tggggcttct tcgtggtggt gcgccacggt gtgcccgcgg aggcggtggc gcgcgcggcg 240

gaggcgcaga ggacgttctt cgcgctgccg ccggagcgga gggcggccgt ggcgcggagc 300

gaggcggcgc cgatggggta ctacgcgtcc gagcacacca agaacgtcag ggactggaag 360

gaggtgttcg acctcgtccc gcgccagacg ccgccgccgc cgacgaccgc cgtggccgac 420

ggcgacctgg tgttcgacaa caagtggccc gacgacctgc cgggattcag ggaggcaatg 480

gaggagtacg gcgaagcggt ggaggagctg gcgttcaagc tgctggagct gatcgccagg 540

agcctcggcc tgagacccga ccgcctccat ggcttcttca aggacgacca gaccaccttc 600

atccggctca accactaccc tccctgcccg agccccgacc tcgccctcgg cgtcggccgc 660

cacaaggacg ccggcgcgct caccgtgctc taccaggacg atgtcggcgg cctcgacgtc 720

cgccgccgat ccgacggcga gtgggtgcgc gtcaggcccg tccctcactc cttcatcatc 780

aacgtcggcg acatcatcca ggtgtggagc aatgacaggt acgagagcgc ggagcaccgg 840

gtggcggtga acgtggagaa ggagaggttc tccatccctt tcttcttcaa cccggcgggc 900

cacaccatgg tggagccact ggaggaggtc gtgagcgacg agagcccggc caggtacaac 960

ccctacaact ggggcgaatt cttcagcacc aggaagaaca gcaacttcaa gaagctggac 1020

gtggagaacg tccagatcac gcatttcagg aagaattaa 1059

<210> 112
<211> 352
<212> PRT
<213> Oryza sativa

<400> 112

Met Gly Gly Leu Ser Met Asp Gln Ala Phe Val Gln Ala Pro Glu His
1 5 10 15

Arg Pro Lys Ala Ser Val Ala Glu Ala Asp Gly Ile Pro Val Ile Asp
20 25 30

Leu Ser Pro Leu Leu Ala Ala Gly Asp Gly Asp Ala Asp Gly Val Asp
35 40 45

Ala Leu Ala Ala Glu Val Gly Arg Ala Ser Arg Asp Trp Gly Phe Phe
50 55 60

Val Val Val Arg His Gly Val Pro Ala Glu Ala Val Ala Arg Ala Ala
65 70 75 80

<211> 1379
<212> ADN
<213> Oryza sativa

<400> 110
aagccacacg cacacacaca cacacgctga cacacgagac gaacacttgt gctacagctt 60

ctcgccacca gctactgatc gaccatgggc ggcctctcca tggaccaggc gttcgtgcag 120

gcccccgagc accgccccaa ggcgtccgtc gccgaggccg acggcatccc ggtcatcgac 180

ctctcccctc tcctcgccgc cggcgatggc gacgccgacg gggtggacgc gctcgcggcg 240

gaggtcggga gggcgagccg ggactggggc ttcttcgtgg tggtgcgcca cggtgtgccc 300

gcggaggcgg tggcgcgcgc ggcggaggcg cagaggacgt tcttcgcgct gccgccggag 360

cggagggcgg ccgtggcgcg gagcgaggcg gcgccgatgg ggtactacgc gtccgagcac 420

accaagaacg tcagggactg gaaggaggtg ttcgacctcg tcccgcgcca gacgccgccg 480

ccgccgacga ccgccgtggc cgacggcgac ctggtgttcg acaacaagtg gcccgacgac 540

ctgccgggat tcagggaggc aatggaggag tacggcgaag cggtggagga gctggcgttc 600

aagctgctgg agctgatcgc caggagcctc ggcctgagac ccgaccgcct ccatggcttc 660

ttcaaggacg accagaccac cttcatccgg ctcaaccact accctccctg cccgagcccc 720

gacctcgccc tcggcgtcgg ccgccacaag gacgccggcg cgctcaccgt gctctaccag 780

gacgatgtcg gcggcctcga cgtccgccgc cgatccgacg gcgagtgggt gcgcgtcagg 840

cccgtccctc actccttcat catcaacgtc ggcgacatca tccaggtgtg gagcaatgac 900

aggtacgaga gcgcggagca ccgggtggcg gtgaacgtgg agaaggagag gttctccatc 960

cctttcttct tcaacccggc gggccacacc atggtggagc cactggagga ggtcgtgagc 1020

gacgagagcc cggccaggta caacccctac aactggggcg aattcttcag caccaggaag 1080

aacagcaact tcaagaagct ggacgtggag aacgtccaga tcacgcattt caggaagaat 1140

taacgcgccg gctagatcat gttcagtaaa ttttcagatg atgatgcgtg gacaaccata 1200

tagcctttgc gtcataagtt aataatgtct gtgacagtat atcatgtaaa caatcgtatg 1260

atgtggcttc tctatctgcc ggtgatggta atgtgacatt gtagaagagg gtttgtgaga 1320

tacttccttc acttaacttt tacgaatgaa tatagacaac cacaacatcc ttgtcgtga 1379

<210> 111
<211> 1059
<212> ADN
<213> Oryza sativa

<400> 111
atgggcggcc tctccatgga ccaggcgttc gtgcaggccc ccgagcaccg ccccaaggcg 60

Glu Ala Gln Arg Thr Phe Phe Ala Leu Pro Pro Glu Arg Arg Ala Ala
85 90 95

Val Ala Arg Ser Glu Ala Ala Pro Met Gly Tyr Tyr Ala Ser Glu His
100 105 110

Thr Lys Asn Val Arg Asp Trp Lys Glu Val Phe Asp Leu Val Pro Arg
115 120 125

Gln Thr Pro Pro Pro Pro Thr Thr Ala Val Ala Asp Gly Asp Leu Val
130 135 140

Phe Asp Asn Lys Trp Pro Asp Asp Leu Pro Gly Phe Arg Glu Ala Met
145 150 155 160

Glu Glu Tyr Gly Glu Ala Val Glu Glu Leu Ala Phe Lys Leu Leu Glu
165 170 175

Leu Ile Ala Arg Ser Leu Gly Leu Arg Pro Asp Arg Leu His Gly Phe
180 185 190

Phe Lys Asp Asp Gln Thr Thr Phe Ile Arg Leu Asn His Tyr Pro Pro
195 200 205

Cys Pro Ser Pro Asp Leu Ala Leu Gly Val Gly Arg His Lys Asp Ala
210 215 220

Gly Ala Leu Thr Val Leu Tyr Gln Asp Asp Val Gly Gly Leu Asp Val
225 230 235 240

Arg Arg Arg Ser Asp Gly Glu Trp Val Arg Val Arg Pro Val Pro His
245 250 255

Ser Phe Ile Ile Asn Val Gly Asp Ile Ile Gln Val Trp Ser Asn Asp
260 265 270

Arg Tyr Glu Ser Ala Glu His Arg Val Ala Val Asn Val Glu Lys Glu
275 280 285

Arg Phe Ser Ile Pro Phe Phe Phe Asn Pro Ala Gly His Thr Met Val
290 295 300

Glu Pro Leu Glu Glu Val Val Ser Asp Glu Ser Pro Ala Arg Tyr Asn
305 310 315 320

Pro Tyr Asn Trp Gly Glu Phe Phe Ser Thr Arg Lys Asn Ser Asn Phe
325 330 335

Lys Lys Leu Asp Val Glu Asn Val Gln Ile Thr His Phe Arg Lys Asn
340 345 350

<210> 113
<211> 2027
<212> ADN
<213> Oryza sativa

<400> 113
aagccacacg cacacacaca cacacgctga cacacgagac gaacacttgt gctacagctt 60

ctcgccacca gctactgatc gaccatgggc ggcctctcca tggaccaggc gttcgtgcag 120

gcccccgagc accgccccaa ggcgtccgtc gccgaggccg acggcatccc ggtcatcgac 180

ctctcccctc tcctcgccgc cggcgatggc gacgccgacg gggtggacgc gctcgcggcg 240

gaggtcggga gggcgagccg ggactggggc ttcttcgtgg tggtgcgcca cggtgtgccc 300

gcggaggcgg tggcgcgcgc ggcggaggcg cagaggacgt tcttcgcgct gccgccggag 360

cggagggcgg ccgtggcgcg gagcgaggcg gcgccgatgg ggtactacgc gtccgagcac 420

accaagaacg tcagggactg gaaggaggtg ttcgacctcg tcccgcgcca gacgccgccg 480

ccgccgacga ccgccgtggc cgacggcgac ctggtgttcg acaacaagtg gcccgacgac 540

ctgccgggat tcaggtcagg tcaccacatc gatcgatcgt cttcttcatc ctcgcatcaa 600

ttcagttcaa cctcatcgaa ttcttgagca gggaggcaat ggaggagtac ggcgaagcgg 660

tggaggagct ggcgttcaag ctgctggagc tgatcgccag gagcctcggc ctgagacccg 720

accgcctcca tggcttcttc aaggacgacc agaccacctt catccggctc aaccactacc 780

ctccctgccc gagccccgac ctcgccctcg gcgtcggccg ccacaaggac gccggcgcgc 840

tcaccgtgct ctaccaggac gatgtcggcg gcctcgacgt ccgccgccga tccgacggcg 900

agtgggtgcg cgtcaggccc gtccctcact ccttcatcat caacgtcggc gacatcatcc 960

aggtactttt ttttttgagc agctacatat ttatcaacaa attttcttct aacaatttat 1020

cggacataaa tatattacaa tgaaagaata attgtatcat aacttgtgtg tccttatatg 1080

taagttttag aaatcctata gtaacatggt attttcgcga aagcggagat tgtgagaccg 1140

tatcttttca cccatgcgcg tcatatgatt tttttttctt gccaacttaa ataaatttca 1200

aagtaaatct aatagattaa aattatgtga aacttacata taagttttct acggtaacac 1260

gctattttca cgaaacggag gtcgttccaa gttgaatgaa tcttgaagta aatctaacga 1320

tttaaaatta tgtgcataca cgttatatta cagttatata caagttataa tataattaca 1380

ctacaattat aacggtattc atagttgaca aacttttaaa agagaattag ttaataaata 1440

tataacaaca ttgtagttta attgttacta tttgacatca tttttatttg cattttgaat 1500

ttgactgaaa aaattgagag tgcgcttgtc caggtgtgga gcaatgacag gtacgagagc 1560

gcggagcacc gggtggcggt gaacgtggag aaggagaggt tctccatccc tttcttcttc 1620

aacccggcgg gccacaccat ggtggagcca ctggaggagg tcgtgagcga cgagagcccg 1680

gccaggtaca acccctacaa ctggggcgaa ttcttcagca ccaggaagaa cagcaacttc 1740

aagaagctgg acgtggagaa cgtccagatc acgcatttca ggaagaatta acgcgccggc 1800

tagatcatgt tcagtaaatt ttcagatgat gatgcgtgga caaccatata gcctttgcgt 1860

cataagttaa taatgtctgt gacagtatat catgtaaaca atcgtatgat gtggcttctc 1920

tatctgccgg tgatggtaat gtgacattgt agaagagggt ttgtgagata cttccttcac 1980

ttaactttta cgaatgaata tagacaacca caacatcctt gtcgtga 2027

<210> 114
<211> 1747
<212> ADN
<213> Triticum aestivum

<400> 114
tcactcaagg ccacaacaca ctcgccagtc catcgccacc atacgtgaca acttgagtta 60

cttgatctgt tgctcatcga tctcgacatc gccatgggcg gcctctccat ggaccaggcc 120

ttcgtgcagg cccccgagca tcgcaccaag gcgaacctcg ccgacgcggc cggcatcccg 180

gtcatcgacc tctcccctct cgccgccggc gacaaggccg gcctggacgc cctcgcggcc 240

gaggtgggca gggcgagccg tgactggggg ttcttcgtgg tggtgcgcca cggcgtgccg 300

gcggagacgg tggcgcgggc gctggaggcg cagagggcct tcttcgcgct gcccgcggac 360

cggaaggcgg ccgtgcggag ggacgaggcg gcgccgctgg ggtactacga gtcggagcac 420

accaagaacg tcagggactg gaaggaggtg ttcgacctcg tcccccgcga gccgccgccg 480

cctgccgcgg ttgccgacgg cgagctcatg ttcgagaaca agtggcccga ggacctgccg 540

gggttcagag aggctctcga agagtacgag aaagcgatgg aggagctggc gttcaagctg 600

ctggagctga tcgcccggag cctgggactg agaccggacc ggctgcacgg cttcttcaag 660

gaccagacca ccttcatccg gctgaaccac tacccgccct gccccagccc cgacctcgcc 720

ctcggcgtcg gtcgccacaa ggacgccggc gcgctcacca tcctctacca ggacgacgtc 780

ggcgggctcg acgtccggcg ccgctccgac ggcgagtggg tgcgcgtcag gcctgtcccg 840

gactcctacg tcatcaacgt cggcgacatc atccaggtgt ggagcaacga caggtacgag 900

ctcaccatcc tctaccagga cgacgtcggc gggctcgacg tccggcgccg ctccgacggc 720

gagtgggtgc gcgtcaggcc tgtcccggac tcctacgtca tcaacgtcgg cgacatcatc 780

caggtgtgga gcaacgacag gtacgagagc gcggagcaca gggtgtcggt gaactcgcac 840

aaggagaggt tctccatgcc ctacttcttc gaccccggga gcgacgccat gatcgagccg 900

ttggaggaga tggtgagcga cgaaaggccg gccaggtacg acgcctacaa ctggggcaac 960

ttcttcagca ccaggaagaa cagcaacttc aggaagctcg ccgtcgaaaa cgtccagatc 1020

gcacacttca gaaaggaccg accttaa 1047

<210> 116
<211> 348
<212> PRT
<213> Triticum aestivum

<400> 116

Met Gly Gly Leu Ser Met Asp Gln Ala Phe Val Gln Ala Pro Glu His
1 5 10 15

Arg Thr Lys Ala Asn Leu Ala Asp Ala Ala Gly Ile Pro Val Ile Asp
20 25 30

Leu Ser Pro Leu Ala Ala Gly Asp Lys Ala Gly Leu Asp Ala Leu Ala
35 40 45

Ala Glu Val Gly Arg Ala Ser Arg Asp Trp Gly Phe Phe Val Val Val
50 55 60

Arg His Gly Val Pro Ala Glu Thr Val Ala Arg Ala Leu Glu Ala Gln
65 70 75 80

Arg Ala Phe Phe Ala Leu Pro Ala Asp Arg Lys Ala Ala Val Arg Arg
85 90 95

Asp Glu Ala Ala Pro Leu Gly Tyr Tyr Glu Ser Glu His Thr Lys Asn
100 105 110

Val Arg Asp Trp Lys Glu Val Phe Asp Leu Val Pro Arg Glu Pro Pro
115 120 125

Pro Pro Ala Ala Val Ala Asp Gly Glu Leu Met Phe Glu Asn Lys Trp
130 135 140

Pro Glu Asp Leu Pro Gly Phe Arg Glu Ala Leu Glu Glu Tyr Glu Lys
145 150 155 160

agcgcggagc acagggtgtc ggtgaactcg cacaaggaga ggttctccat gccctacttc 960

ttcgaccccg ggagcgacgc catgatcgag ccgttggagg agatggtgag cgacgaaagg 1020

ccggccaggt acgacgccta caactggggc aacttcttca gcaccaggaa gaacagcaac 1080

ttcaggaagc tcgccgtcga aaacgtccag atcgcacact tcagaaagga ccgaccttaa 1140

atgaaggatc cctcatgaat tcatgatcct tccgctctcc tcagtgatcc tagtgctaca 1200

actacaagca tctccccgtt tgtagtaatc atatataaat aagtattccc tccgtaaact 1260

aatataagag catttaaaac actactctag tgatctaaat gctcttatat tagtttacag 1320

agagagtatt gtgtattaat aatgactttc tctgtttcaa aataagtgat gacgtggttt 1380

tagttcaatt ttttttagag aggaggcatc tgacgggcct taaactgagg accttagagt 1440

acaaacaagg ttcgacgaaa gtaagtttaa gggatacaag gccgtagcca acaaaacgcg 1500

acgcagcgcg caatctaaaa tcagcgtgct gtcaaggtag ctggagacgt ccatgccgtt 1560

aatctctctc aagaagctcg ccgaagctca gtgcaccttg cgtgcactct tgtgaagagc 1620

accttcacgt gtcctttgtc ctgagatttt gtcaacagtt tccatgactg caagaaaaac 1680

actagtttgt ataatagctc agcgggatgt cgaatgaatt gcccctcaat caaagcttta 1740

tttctag 1747

<210> 115
<211> 1047
<212> ADN
<213> Triticum aestivum

<400> 115
atgggcggcc tctccatgga ccaggccttc gtgcaggccc ccgagcatcg caccaaggcg 60

aacctcgccg acgcggccgg catcccggtc atcgacctct cccctctcgc cgccggcgac 120

aaggccggcc tggacgccct cgcggccgag gtgggcaggg cgagccgtga ctgggggttc 180

ttcgtggtgg tgcgccacgg cgtgccggcg gagacggtgg cgcgggcgct ggaggcgcag 240

agggccttct tcgcgctgcc cgcggaccgg aaggcggccg tgcggaggga cgaggcggcg 300

ccgctggggt actacgagtc ggagcacacc aagaacgtca gggactggaa ggaggtgttc 360

gacctcgtcc cccgcgagcc gccgccgcct gccgcggttg ccgacggcga gctcatgttc 420

gagaacaagt ggcccgagga cctgccgggg ttcagagagg ctctcgaaga gtacgagaaa 480

gcgatggagg agctggcgtt caagctgctg gagctgatcg cccggagcct gggactgaga 540

ccggaccggc tgcacggctt cttcaaggac cagaccacct tcatccggct gaaccactac 600

ccgccctgcc ccagccccga cctcgccctc ggcgtcggtc gccacaagga cgccggcgcg 660

Ala Met Glu Glu Leu Ala Phe Lys Leu Leu Glu Leu Ile Ala Arg Ser
165 170 175

Leu Gly Leu Arg Pro Asp Arg Leu His Gly Phe Phe Lys Asp Gln Thr
180 185 190

Thr Phe Ile Arg Leu Asn His Tyr Pro Pro Cys Pro Ser Pro Asp Leu
195 200 205

Ala Leu Gly Val Gly Arg His Lys Asp Ala Gly Ala Leu Thr Ile Leu
210 215 220

Tyr Gln Asp Asp Val Gly Gly Leu Asp Val Arg Arg Arg Ser Asp Gly
225 230 235 240

Glu Trp Val Arg Val Arg Pro Val Pro Asp Ser Tyr Val Ile Asn Val
245 250 255

Gly Asp Ile Ile Gln Val Trp Ser Asn Asp Arg Tyr Glu Ser Ala Glu
260 265 270

His Arg Val Ser Val Asn Ser His Lys Glu Arg Phe Ser Met Pro Tyr
275 280 285

Phe Phe Asp Pro Gly Ser Asp Ala Met Ile Glu Pro Leu Glu Glu Met
290 295 300

Val Ser Asp Glu Arg Pro Ala Arg Tyr Asp Ala Tyr Asn Trp Gly Asn
305 310 315 320

Phe Phe Ser Thr Arg Lys Asn Ser Asn Phe Arg Lys Leu Ala Val Glu
325 330 335

Asn Val Gln Ile Ala His Phe Arg Lys Asp Arg Pro
340 345

<210> 117
<211> 1863
<212> ADN
<213> Triticum aestivum

<400> 117
tcactcaagg ccacaacaca ctcgccagtc catcgccacc atacgtgaca acttgagtta 60

cttgatctgt tgctcatcga tctcgacatc gccatgggcg gcctctccat ggaccaggcc 120

ttcgtgcagg cccccgagca tcgcaccaag gcgaacctcg ccgacgcggc cggcatcccg 180

gtcatcgacc tctcccctct cgccgccggc gacaaggccg gcctggacgc cctcgcggcc 240

gaggtgggca gggcgagccg tgactggggg ttcttcgtgg tggtgcgcca cggcgtgccg 300

gcggagacgg tggcgcgggc gctggaggcg cagagggcct tcttcgcgct gcccgcggac 360

cggaaggcgg ccgtgcggag ggacgaggcg gcgccgctgg ggtactacga gtcggagcac 420

accaagaacg tcagggactg gaaggaggtg ttcgacctcg tcccccgcga gccgccgccg 480

cctgccgcgg ttgccgacgg cgagctcatg ttcgagaaca agtggcccga ggacctgccg 540

gggttcaggt acggtcatca actcaatcaa ttctgcgacc ccgagagaaa tggttcacta 600

ttattcgtgg ttcatacgta tgattcagac gttaatctcg atgcaaattg atttgtgcat 660

gcagagaggc tctcgaagag tacgagaaag cgatggagga gctggcgttc aagctgctgg 720

agctgatcgc ccggagcctg ggactgagac cggaccggct gcacggcttc ttcaaggacc 780

agaccacctt catccggctg aaccactacc cgccctgccc cagccccgac ctcgccctcg 840

gcgtcggtcg ccacaaggac gccggcgcgc tcaccatcct ctaccaggac gacgtcggcg 900

ggctcgacgt ccggcgccgc tccgacggcg agtgggtgcg cgtcaggcct gtcccggact 960

cctacgtcat caacgtcggc gacatcatcc aggtgtggag caacgacagg tacgagagcg 1020

cggagcacag ggtgtcggtg aactcgcaca aggagaggtt ctccatgccc tacttcttcg 1080

accccgggag cgacgccatg atcgagccgt tggaggagat ggtgagcgac gaaaggccgg 1140

ccaggtacga cgcctacaac tggggcaact tcttcagcac caggaagaac agcaacttca 1200

ggaagctcgc cgtcgaaaac gtccagatcg cacacttcag aaaggaccga ccttaaatga 1260

aggatccctc atgaattcat gatccttccg ctctcctcag tgatcctagt gctacaacta 1320

caagcatctc cccgtttgta gtaatcatat ataaataagt attccctccg taaactaata 1380

taagagcatt taaaacacta ctctagtgat ctaaatgctc ttatattagt ttacagagag 1440

agtattgtgt attaataatg actttctctg tttcaaaata agtgatgacg tggttttagt 1500

tcaatttttt ttagagagga ggcatctgac gggccttaaa ctgaggacct tagagtacaa 1560

acaaggttcg acgaaagtaa gtttaaggga tacaaggccg tagccaacaa aacgcgacgc 1620

agcgcgcaat ctaaaatcag cgtgctgtca aggtagctgg agacgtccat gccgttaatc 1680

tctctcaaga agctcgccga agctcagtgc accttgcgtg cactcttgtg aagagcacct 1740

tcacgtgtcc tttgtcctga gattttgtca acagtttcca tgactgcaag aaaaacacta 1800

gtttgtataa tagctcagcg ggatgtcgaa tgaattgccc ctcaatcaaa gctttatttc 1860

tag 1863

<210> 118
<211> 349
<212> PRT
<213> Hordeum vulgare

<400> 118

Met Gly Gly Leu Ser Met Gly Gln Ala Phe Val Gln Ala Pro Glu His
1 5 10 15

Arg Thr Lys Pro Thr Leu Ala Asp Ala Asp Gly Ile Pro Val Ile Asp
20 25 30

Leu Ser Pro Leu Ala Ala Gly Asp Glu Ala Gly Val Asp Ala Leu Ala
35 40 45

Ala Glu Val Gly Arg Ala Ser Arg Asp Trp Gly Phe Phe Val Val Val
50 55 60

Arg His Gly Val Pro Ala Glu Thr Val Ala Arg Ala Leu Glu Ala Gln
65 70 75 80

Arg Ala Phe Phe Ala Leu Pro Ala Glu Arg Lys Ala Ala Val Arg Arg
85 90 95

Asp Glu Ala Ala Pro Leu Gly Tyr Tyr Glu Ser Glu His Thr Lys Asn
100 105 110

Val Arg Asp Trp Lys Glu Val Phe Asp Phe Val Pro Arg Glu Pro Pro
115 120 125

Pro Pro Ala Ala Val Ala Asp Gly Glu Leu Val Phe Glu Asn Lys Trp
130 135 140

Pro Glu Asp Leu Pro Gly Phe Arg Val Ala Phe Glu Glu Tyr Ala Lys
145 150 155 160

Ala Met Glu Glu Leu Ala Phe Lys Leu Leu Glu Leu Ile Ala Arg Ser
165 170 175

Leu Gly Leu Thr Pro Asp Arg Leu Asn Gly Phe Phe Lys Asp His Gln
180 185 190

Thr Thr Phe Ile Arg Leu Asn His Tyr Pro Pro Cys Pro Ser Pro Asp
195 200 205

atgcgcgccg tgcgcgggcc tggcgacgcc tgcggctacg gctccccgcc catctcctcc 600

ttcttctcca agtgcatgtg gtcggaggga tacaccttct cgccggccaa cctccgcgcc 660

gacctccgca agctctggcc taaggccggc gacgactaca ccagcttctg tgatgtgatg 720

gaggagttcc acaagcacat gcgtgccctc gcggacaagc tgctggagct gttcctcatg 780

gcgctggggc tcaccgacga gcaggtcggc ggcgtggagg cggagcggag gatcgccgag 840

acgatgaccg ccaccatgca cctcaactgg taccctcggt gcccggaccc gcgccgcgcg 900

ctggggctga tcgcgcacac cgactcgggc ttcttcacct tcgtgctgca gagcctcgtc 960

ccggggctgc agctcttccg ccacgccccg gaccggtggg tggcggtgcc ggcggtaccg 1020

ggcgccttcg tcgtcaacgt gggcgacctc ttccacatcc tcaccaacgg ccggttccac 1080

agcgtgtacc accgcgccgt cgtgaaccgg gacctcgaca ggatatctct cggctacttc 1140

ctcggcccgc cgccgcacgc caaggtggcg ccgctaaggg aggccgtgcc gcccggccgc 1200

acccccgcgt accgcgccgt cacgtggccc gagtacatgg gcgtccgcaa gaaggccttc 1260

accaccggcg catccgcgct caagatggtc gccctcgccg ccgccgccgc cgccgccgac 1320

ctcgacgatg acgccggtgc tggcgccgcc gccgaacctg tcgtccatca gcagctactc 1380

gtctcgtcgt agccgatcga tcgccggatc ggtcgagact gatgatgatg atgcatatat 1440

actcgtcgat ggagtagaca gactaatcaa gcaaccctga aactatgaat gcatgcgtgc 1500

gcttcgtgct tgcttgcgca tgcagctagc aggcttcatt ccgttccgca gctgctctgc 1560

tccaacctgc tctgctggat tgatgtatat ggtagaagaa ttaagagatc gatggatgac 1620

ggaggaagaa gaagacgaag acgacgatga ggaaaaggac acgctgtacg tagctggttc 1680

ttctagtcta gtttacagca ggccgggcgg ccggctgctg cttccaatcg agtttgtcgt 1740

tactgacgat tgttagtgga tcgattaact aatctggaat tctggattat taatataatg 1800

catgtggttt ggcatctggc gtaaagcagg taatggtacc tagccagtag ccagtagcca 1860

ggctggtcaa tgataggtct ataccctgat cctgtactgt tgtttctttc ggtctttctg 1920

agagagaaaa aaaacgaata tatggcgtac tcaattcatc aaa 1963

<210> 120
<211> 1170
<212> ADN
<213> Sorghum bicolor

<400> 120
atgccgacgc cgtcgcacct cgcgaacccg cgctacttcg acttccgtgc ggcgcggcgg 60

gtgccggaga cgcacgcctg gccggggctg cacgaccacc ccgtcgtgga cggcggcgcg 120

ccggggccag acgccgtccc cgtggtggac ctcgcggggg cggcggacga gccgagagcc 180

Leu Ala Leu Gly Val Gly Arg His Lys Asp Ala Gly Ala Leu Thr Val
210 215 220

Leu Tyr Gln Asp Asp Val Gly Gly Leu Asp Val Arg His Arg Ser Asp
225 230 235 240

Gly Glu Trp Val Arg Val Arg Pro Val Pro Asp Ser Tyr Val Ile Asn
245 250 255

Val Gly Asp Ile Ile Gln Val Trp Ser Asn Asp Arg Tyr Glu Ser Ala
260 265 270

Glu His Arg Val Ser Val Asn Ser Asp Lys Glu Arg Phe Ser Met Pro
275 280 285

Tyr Phe Phe Asn Pro Gly Ser Asp Ala Met Val Glu Pro Leu Glu Glu
290 295 300

Met Val Ser Asp Glu Arg Pro Ala Arg Tyr Asp Ala Tyr Asn Trp Gly
305 310 315 320

His Phe Phe Ser Thr Arg Lys Asn Ser Asn Phe Lys Lys Leu Asp Val
325 330 335

Glu Asn Val Gln Ile Ala His Phe Arg Lys Leu His Leu
340 345

<210> 119
<211> 1963
<212> ADN
<213> Sorghum bicolor

<400> 119
tataaatacc acgccatgta cttctctgct tctacacttc tccagcttct ctcatgccat 60

accactagtg caaggtccta gatttacact tggtgctaca gcttcttcct ccctccctcc 120

cctctctagg cagctagcac gcagcgcagc acacgaaaca tctattgacc ggccgcctcc 180

gccggggatc cataattact atactaccaa tcggccagcg tcatgccgac gccgtcgcac 240

ctcgcgaacc cgcgctactt cgacttccgt gcggcgcggc gggtgccgga gacgcacgcc 300

tggccggggc tgcacgacca ccccgtcgtg gacggcggcg cgccggggcc agacgccgtc 360

cccgtggtgg acctcgcggg ggcggcggac gagccgagag ccgcggtggt ggcccaagtg 420

gcgcgcgccg ccgagcaatg gggcgcgttc ctgctcacgg ggcacggcgt ccccgcggag 480

ctgctggcgc gcgtcgagga ccggatcgcc accatgttcg cgctgccagc ggacgacaag 540

gcggtggtgg cccaagtggc gcgcgccgcc gagcaatggg gcgcgttcct gctcacgggg 240

cacggcgtcc ccgcggagct gctggcgcgc gtcgaggacc ggatcgccac catgttcgcg 300

ctgccagcgg acgacaagat gcgcgccgtg cgcgggcctg gcgacgcctg cggctacggc 360

tccccgccca tctcctcctt cttctccaag tgcatgtggt cggagggata caccttctcg 420

ccggccaacc tccgcgccga cctccgcaag ctctggccta aggccggcga cgactacacc 480

agcttctgtg atgtgatgga ggagttccac aagcacatgc gtgccctcgc ggacaagctg 540

ctggagctgt tcctcatggc gctggggctc accgacgagc aggtcggcgg cgtggaggcg 600

gagcggagga tcgccgagac gatgaccgcc accatgcacc tcaactggta ccctcggtgc 660

ccggacccgc gccgcgcgct ggggctgatc gcgcacaccg actcgggctt cttcaccttc 720

gtgctgcaga gcctcgtccc ggggctgcag ctcttccgcc acgccccgga ccggtgggtg 780

gcggtgccgg cggtaccggg cgccttcgtc gtcaacgtgg gcgacctctt ccacatcctc 840

accaacggcc ggttccacag cgtgtaccac cgcgccgtcg tgaaccggga cctcgacagg 900

atatctctcg gctacttcct cggcccgccg ccgcacgcca aggtggcgcc gctaagggag 960

gccgtgccgc ccggccgcac ccccgcgtac cgcgccgtca cgtggcccga gtacatgggc 1020

gtccgcaaga aggccttcac caccggcgca tccgcgctca agatggtcgc cctcgccgcc 1080

gccgccgccg ccgccgacct cgacgatgac gccggtgctg gcgccgccgc cgaacctgtc 1140

gtccatcagc agctactcgt ctcgtcgtag 1170

<210> 121
<211> 389
<212> PRT
<213> Sorghum bicolor

<400> 121

Met Pro Thr Pro Ser His Leu Ala Asn Pro Arg Tyr Phe Asp Phe Arg
1 5 10 15

Ala Ala Arg Arg Val Pro Glu Thr His Ala Trp Pro Gly Leu His Asp
20 25 30

His Pro Val Val Asp Gly Gly Ala Pro Gly Pro Asp Ala Val Pro Val
35 40 45

Val Asp Leu Ala Gly Ala Ala Asp Glu Pro Arg Ala Ala Val Val Ala
50 55 60

Gln Val Ala Arg Ala Ala Glu Gln Trp Gly Ala Phe Leu Leu Thr Gly

65 70 75 80

His Gly Val Pro Ala Glu Leu Leu Ala Arg Val Glu Asp Arg Ile Ala
85 90 95

Thr Met Phe Ala Leu Pro Ala Asp Asp Lys Met Arg Ala Val Arg Gly
100 105 110

Pro Gly Asp Ala Cys Gly Tyr Gly Ser Pro Pro Ile Ser Ser Phe Phe
115 120 125

Ser Lys Cys Met Trp Ser Glu Gly Tyr Thr Phe Ser Pro Ala Asn Leu
130 135 140

Arg Ala Asp Leu Arg Lys Leu Trp Pro Lys Ala Gly Asp Asp Tyr Thr
145 150 155 160

Ser Phe Cys Asp Val Met Glu Glu Phe His Lys His Met Arg Ala Leu
165 170 175

Ala Asp Lys Leu Leu Glu Leu Phe Leu Met Ala Leu Gly Leu Thr Asp
180 185 190

Glu Gln Val Gly Gly Val Glu Ala Glu Arg Arg Ile Ala Glu Thr Met
195 200 205

Thr Ala Thr Met His Leu Asn Trp Tyr Pro Arg Cys Pro Asp Pro Arg
210 215 220

Arg Ala Leu Gly Leu Ile Ala His Thr Asp Ser Gly Phe Phe Thr Phe
225 230 235 240

Val Leu Gln Ser Leu Val Pro Gly Leu Gln Leu Phe Arg His Ala Pro
245 250 255

Asp Arg Trp Val Ala Val Pro Ala Val Pro Gly Ala Phe Val Val Asn
260 265 270

Val Gly Asp Leu Phe His Ile Leu Thr Asn Gly Arg Phe His Ser Val
275 280 285

Tyr His Arg Ala Val Val Asn Arg Asp Leu Asp Arg Ile Ser Leu Gly
290 295 300

Tyr Phe Leu Gly Pro Pro Pro His Ala Lys Val Ala Pro Leu Arg Glu

305 310 315 320

Ala Val Pro Pro Gly Arg Thr Pro Ala Tyr Arg Ala Val Thr Trp Pro
325 330 335

Glu Tyr Met Gly Val Arg Lys Lys Ala Phe Thr Thr Gly Ala Ser Ala
340 345 350

Leu Lys Met Val Ala Leu Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Asp Leu Asp
355 360 365

Asp Asp Ala Gly Ala Gly Ala Ala Ala Glu Pro Val Val His Gln Gln
370 375 380

Leu Leu Val Ser Ser
385

<210> 122
<211> 2321
<212> ADN
<213> Sorghum bicolor

<400> 122
tataaatacc acgccatgta cttctctgct tctacacttc tccagcttct ctcatgccat 60

accactagtg caaggtccta gatttacact tggtgctaca gcttcttcct ccctccctcc 120

cctctctagg cagctagcac gcagcgcagc acacgaaaca tctattgacc ggccgcctcc 180

gccggggatc cataattact atactaccaa tcggccagcg tcatgccgac gccgtcgcac 240

ctcgcgaacc cgcgctactt cgacttccgt gcggcgcggc gggtgccgga gacgcacgcc 300

tggccggggc tgcacgacca ccccgtcgtg gacggcggcg cgccggggcc agacgccgtc 360

cccgtggtgg acctcgcggg ggcggcggac gagccgagag ccgcggtggt ggcccaagtg 420

gcgcgcgccg ccgagcaatg gggcgcgttc ctgctcacgg ggcacggcgt ccccgcggag 480

ctgctggcgc gcgtcgagga ccggatcgcc accatgttcg cgctgccagc ggacgacaag 540

atgcgcgccg tgcgcgggcc tggcgacgcc tgcggctacg gctccccgcc catctcctcc 600

ttcttctcca agtgcatgtg gtcggaggga tacaccttct cgccggccaa cctccgcgcc 660

gacctccgca agctctggcc taaggccggc gacgactaca ccagcttctg gtacgtgcac 720

ccgccggccg cgcgccgcca cacaccgtac ccacacacgt gcgcgctcgc gcctagctac 780

tagtagctgc tttgctttgc ttacctttga ttctcgcctt tgccatgcat atgcatgatg 840

cacgtacagg tactgcaggt acaacatgtc acacgcacgc acgcacgcac aacccatagt 900

ccgatacgat acatcatcga tcgacgtgtc gtcaccgtct aaggccatgc atgcatgcaa 960

gaacccgctc tacttcgact tccgcgccgc gcggcgggtg ccggagtccc acgcctggcc 240

ggggctcgac gaccaccccg tggtggacgg cggcggcgcg ccggggtccc cggacgccgt 300

gccggtggtg gacctgcgcg agccgggcgc cgcggcggtg gcccgcgtgg cgcgcgccgc 360

cgagcagtgg ggcgcgttcc tgctcaccgg ccacggcgtc cccgcggagc tcctggcgcg 420

cgtcgaggac cgcgtcgcgt gcatgttcgc gctgccggcc gccgacaaga tgcgcgccgt 480

gcgcgggccg ggggacgcct gcggctacgg ctcgccgccc atctcctcct tcttctccaa 540

gtgcatgtgg tccgagggct acaccttctc gccggcctcc ctccgccgcg acctccgcaa 600

gctctggccc aaggccggcg acgactacga cagcttctgt gacgtgatgg aggagttcca 660

caaggagatg cgcgccctcg ccgacaggct cctggagctg ttcctcaggg cgctcgggct 720

caccggcgag caggtcggcg ccgtcgaggc ggagcggagg atcggcgaga cgatgaccgc 780

caccatgcac ctcaactggt atccgaggtg cccggacccg cggcgcgcgc tggggctgat 840

cgcgcacacg gactcgggct tcttcacctt cgtgctgcag agcctcgtgc cggggctgca 900

gctgttccgg cacggcccca accggtgggt ggcggtgccg gccgtgccgg gcgccttcgt 960

cgtcaacgtc ggcgacctct tccacatcct cacgaacggc cgcttccaca gcgtgtacca 1020

ccgcgccgtc gtcaaccggg acctcgaccg gatatcgctc ggctacttcc tcggcccgcc 1080

gccccacgcc aaggtggcgc cgctccggga ggtcgtgccg ccgggccggg cccccgccta 1140

ccgcgccgtc acgtggcccg agtacatggg cgtccgcaag aaggccttca ccaccggcgc 1200

ctccgcgctc aagatggtcg ccgccgccgc cgccgccacc gaatccgacg acaccgacgc 1260

agccgccgcc gccgttcacc agccgccggt cgtcgtctca tcgtagccga tcgatcgccg 1320

gaaacacaga cgatgcatac cgtaccccga gcaatctaat caaaacaagg catccattct 1380

cgcgcgcatg cagcggccag ccgggcttcc gcagctgctc ggcctcctct gctggctgtg 1440

gaaatggaaa attttaatct gagatgaaga cgaagacgaa gacgaaacgg agaggaaaag 1500

gacatgctgt agctgtttct tctagttgcg caggccgctc ccagtcgagt ttgtcgttac 1560

tgacgattat tactctgatg aaaactaatc tgaattaatg catgtagttt ggcaatttgg 1620

tactaaaggt aggcacctag ccaggctggt caatgatagg tctataacct gatcctgttc 1680

tctgttgttt tcctttgtct gagaaaaaat ggaaataatt gatccggccg gacgggtgta 1740

ctgataggtg atgctgaatt gctgatgcaa gaggttgcga gctgcagtga gcagca 1796

<210> 124
<211> 1149
<212> ADN
<213> Setaria italica

gcacacgcct agacctttt agcatgctgg ctgacgagga gtatactagc taataagcta 1020

cttgtcactg cgcgtcttgc ttaattacac tagtgcatat ttctacagtg atgtgatgga 1080

ggagttccac aagcacatgc gtgccctcgc ggacaagctg ctggagctgt tcctcatggc 1140

gctggggctc accgacgagc aggtcggcgg cgtggaggcg gagcggagga tcgccgagac 1200

gatgaccgcc accatgcacc tcaactggta ccctcggtgc ccggacccgc gccgcgcgct 1260

ggggctgatc gcgcacaccg actcgggctt cttcaccttc gtgctgcaga gcctcgtccc 1320

ggggctgcag ctcttccgcc acgccccgga ccggtgggtg gcggtgccgg cggtaccggg 1380

cgccttcgtc gtcaacgtgg gcgacctctt ccacatcctc accaacggcc ggttccacag 1440

cgtgtaccac cgcgccgtcg tgaaccggga cctcgacagg atatctctcg gctacttcct 1500

cggcccgccg ccgcacgcca aggtggcgcc gctaagggag gccgtgccgc ccggccgcac 1560

ccccgcgtac cgcgccgtca cgtggcccga gtacatgggc gtccgcaaga aggccttcac 1620

caccggcgca tccgcgctca agatggtcgc cctcgccgcc gccgccgccg ccgccgacct 1680

cgacgatgac gccggtgctg gcgccgccgc cgaacctgtc gtccatcagc agctactcgt 1740

ctcgtcgtag ccgatcgatc gccggatcgg tcgagactga tgatgatgat gcatatatac 1800

tcgtcgatgg agtagacaga ctaatcaagc aaccctgaaa ctatgaatgc atgcgtgcgc 1860

ttcgtgcttg cttgcgcatg cagctagcag gcttcattcc gttccgcagc tgctctgctc 1920

caacctgctc tgctggattg atgtatatgg tagaagaatt aagagatcga tggatgacgg 1980

aggaagaaga agacgaagac gacgatgagg aaaaggacac gctgtacgta gctggttctt 2040

ctagtctagt ttacagcagg ccgggcggcc ggctgctgct tccaatcgag tttgtcgtta 2100

ctgacgattg ttagtggatc gattaactaa tctggaattc tggattatta atataatgca 2160

tgtggtttgg catctggcgt aaagcaggta atggtaccta gccagtagcc agtagccagg 2220

ctggtcaatg ataggtctat accctgatcc tgtactgttg tttctttcgg tctttctgag 2280

agagaaaaaa aacgaatata tggcgtactc aattcatcaa a 2321

<210> 123
<211> 1796
<212> ADN
<213> Setaria italica

<400> 123
actagtgcaa ggtcctagat ttacacttgg tgcttgcttg tttcttccta gttgctactg 60

gtagcacgca gtggctggct ggccgtaatc tattgtctgg gctcgatcgg tgattaggaa 120

gtagccaaag caagctaagg ccgccgccgc cgccgccatg ccgacgccgt cgcacctcaa 180

<400> 124
atgccgacgc cgtcgcacct caagaacccg ctctacttcg acttccgcgc cgcgcggcgg 60

gtgccggagt cccacgcctg gccggggctc gacgaccacc ccgtggtgga cggcggcggc 120

gcgccggggt ccccggacgc cgtgccggtg gtggacctgc gcgagccggg cgccgcggcg 180

gtggcccgcg tggcgcgcgc cgccgagcag tggggcgcgt tcctgctcac cggccacggc 240

gtccccgcgg agctcctggc gcgcgtcgag gaccgcgtcg cgtgcatgtt cgcgctgccg 300

gccgccgaca agatgcgcgc cgtgcgcggg ccgggggacg cctgcggcta cggctcgccg 360

cccatctcct ccttcttctc caagtgcatg tggtccgagg gctacacctt ctcgccggcc 420

tccctccgcc gcgacctccg caagctctgg cccaaggccg gcgacgacta cgacagcttc 480

tgtgacgtga tggaggagtt ccacaaggag atgcgcgccc tcgccgacag gctcctggag 540

ctgttcctca gggcgctcgg gctcaccggc gagcaggtcg gcgccgtcga ggcggagcgg 600

aggatcggcg agacgatgac cgccaccatg cacctcaact ggtatccgag gtgcccggac 660

ccgcggcgcg cgctggggct gatcgcgcac acggactcgg gcttcttcac cttcgtgctg 720

cagagcctcg tgccggggct gcagctgttc cggcacggcc ccaaccggtg ggtggcggtg 780

ccggccgtgc cgggcgcctt cgtcgtcaac gtcggcgacc tcttccacat cctcacgaac 840

ggccgcttcc acagcgtgta ccaccgcgcc gtcgtcaacc gggacctcga ccggatatcg 900

ctcggctact tcctcggccc gccgccccac gccaaggtgg cgccgctccg ggaggtcgtg 960

ccgccgggcc gggcccccgc ctaccgcgcc gtcacgtggc ccgagtacat gggcgtccgc 1020

aagaaggcct tcaccaccgg cgcctccgcg ctcaagatgg tcgccgccgc cgccgccgcc 1080

accgaatccg acgacaccga cgcagccgcc gccgccgttc accagccgcc ggtcgtcgtc 1140

tcatcgtag 1149

<210> 125
<211> 382
<212> PRT
<213> Setaria italica

<400> 125

Met Pro Thr Pro Ser His Leu Lys Asn Pro Leu Tyr Phe Asp Phe Arg
1 5 10 15

Ala Ala Arg Arg Val Pro Glu Ser His Ala Trp Pro Gly Leu Asp Asp
20 25 30

His Pro Val Val Asp Gly Gly Gly Ala Pro Gly Ser Pro Asp Ala Val
35 40 45

Pro Val Val Asp Leu Arg Glu Pro Gly Ala Ala Ala Val Ala Arg Val
50 55 60

Ala Arg Ala Ala Glu Gln Trp Gly Ala Phe Leu Leu Thr Gly His Gly
65 70 75 80

Val Pro Ala Glu Leu Leu Ala Arg Val Glu Asp Arg Val Ala Cys Met
85 90 95

Phe Ala Leu Pro Ala Ala Asp Lys Met Arg Ala Val Arg Gly Pro Gly
100 105 110

Asp Ala Cys Gly Tyr Gly Ser Pro Pro Ile Ser Ser Phe Phe Ser Lys
115 120 125

Cys Met Trp Ser Glu Gly Tyr Thr Phe Ser Pro Ala Ser Leu Arg Arg
130 135 140

Asp Leu Arg Lys Leu Trp Pro Lys Ala Gly Asp Asp Tyr Asp Ser Phe
145 150 155 160

Cys Asp Val Met Glu Glu Phe His Lys Glu Met Arg Ala Leu Ala Asp
165 170 175

Arg Leu Leu Glu Leu Phe Leu Arg Ala Leu Gly Leu Thr Gly Glu Gln
180 185 190

Val Gly Ala Val Glu Ala Glu Arg Arg Ile Gly Glu Thr Met Thr Ala
195 200 205

Thr Met His Leu Asn Trp Tyr Pro Arg Cys Pro Asp Pro Arg Arg Ala
210 215 220

Leu Gly Leu Ile Ala His Thr Asp Ser Gly Phe Phe Thr Phe Val Leu
225 230 235 240

Gln Ser Leu Val Pro Gly Leu Gln Leu Phe Arg His Gly Pro Asn Arg
245 250 255

Trp Val Ala Val Pro Ala Val Pro Gly Ala Phe Val Val Asn Val Gly
260 265 270

Asp Leu Phe His Ile Leu Thr Asn Gly Arg Phe His Ser Val Tyr His
275 280 285

Arg Ala Val Val Asn Arg Asp Leu Asp Arg Ile Ser Leu Gly Tyr Phe
290 295 300

Leu Gly Pro Pro Pro His Ala Lys Val Ala Pro Leu Arg Glu Val Val
305 310 315 320

Pro Pro Gly Arg Ala Pro Ala Tyr Arg Ala Val Thr Trp Pro Glu Tyr
325 330 335

Met Gly Val Arg Lys Lys Ala Phe Thr Thr Gly Ala Ser Ala Leu Lys
340 345 350

Met Val Ala Ala Ala Ala Ala Ala Thr Glu Ser Asp Asp Thr Asp Ala
355 360 365

Ala Ala Ala Ala Val His Gln Pro Pro Val Val Val Ser Ser
370 375 380

<210> 126
<211> 2146
<212> ADN
<213> Setaria italica

<400> 126
actagtgcaa ggtcctagat ttacacttgg tgcttgcttg tttcttccta gttgctactg 60

gtagcacgca gtggctggct ggccgtaatc tattgtctgg gctcgatcgg tgattaggaa 120

gtagccaaag caagctaagg ccgccgccgc cgccgccatg ccgacgccgt cgcacctcaa 180

gaacccgctc tacttcgact tccgcgccgc gcggcgggtg ccggagtccc acgcctggcc 240

ggggctcgac gaccaccccg tggtggacgg cggcggcgcg ccggggtccc cggacgccgt 300

gccggtggtg gacctgcgcg agccgggcgc cgcggcggtg gcccgcgtgg cgcgcgccgc 360

cgagcagtgg ggcgcgttcc tgctcaccgg ccacggcgtc cccgcggagc tcctggcgcg 420

cgtcgaggac cgcgtcgcgt gcatgttcgc gctgccggcc gccgacaaga tgcgcgccgt 480

gcgcgggccg ggggacgcct gcggctacgg ctcgccgccc atctcctcct tcttctccaa 540

gtgcatgtgg tccgagggct acaccttctc gccggcctcc ctccgccgcg acctccgcaa 600

gctctggccc aaggccggcg acgactacga cagcttctgg tacgtcgtcg tctatagcta 660

gtagctagcc gccggcacac gtgcgcctga cctgctccgc catgcatggt gcacgtatgc 720

agatcgatca cacgcaccga tcgatcgacg tgtcccggtc aaggccatgc atgcatgcaa 780

gcaaccaaca gcacgcctcc tgatactgct tgttgcttac accgttggta tgtgcctgtt 840

gcctacagtg acgtgatgga ggagttccac aaggagatgc gcgccctcgc cgacaggctc 900

cggggcgggc gacgcggcgg cgcgggtggc gcgggcggcg gagcagtggg gcgcgttcct 360

tctggtcggg cacggcgtgc cggcggcgct gctgtcgcgc gtcgaggagc gcgtcgcccg 420

cgtgttctcc ctgccggcgt cggagaagat gcgcgccgtc cgcggccccg gcgagccctg 480

cggctacggc tcgccgccca tctcctcctt cttctccaag ctcatgtggt ccgagggcta 540

caccttctcc ccttcctccc tccgctccga gctccgccgc ctctggccca agtccggcga 600

cgactacctc ctcttctgtg acgtgatgga ggagtttcac aaggagatgc ggcggctagc 660

cgacgagttg ctgaggttgt tcttgagggc gctggggctc accggcgagg aggtcgccgg 720

agtcgaggcg gagaggagga tcggcgagag gatgacggcg acggtgcacc tcaactggta 780

cccgaggtgc ccggagccgc ggcgagcgct ggggctcatc gcgcacacgg actcgggctt 840

cttcaccttc gtgctccaga gcctcgtccc ggggctgcag ctgttccgtc gagggcccga 900

ccggtgggtg gcggtgccgg cggtggcggg ggccttcgtc gtcaacgtcg gcgacctctt 960

ccacatcctc accaacggcc gcttccacag cgtctaccac cgcgccgtcg tgaaccgcga 1020

ccgcgaccgg gtctcgctcg gctacttcct cggcccgccg ccggacgccg aggtggcgcc 1080

gctgccggag gccgtgccgg ccggccggag ccccgcctac cgcgctgtca cgtggccgga 1140

gtacatggcc gtccgcaaga aggccttcgc caccggcggc tccgccctca agatggtctc 1200

caccgacgcc gccgccgccg ccgacgaaca cgacgacgtc gccgccgccg ccgacgtcca 1260

cgcataagct atagctacta gctacctcga tctcacgcaa aaaaaaaaag aaacaattaa 1320

tagagcaaaa aaaaaaagaa gagaaaatgg tggtacttgt gtttaaggtt tcctccatgc 1380

aaaatggttt gcatgcatgc atgcaaagct agcatctgca gctgcaagaa ttacaagagc 1440

agagaagcag acagctagat ggagataatt aattaattaa ttaatctaat taagcatgca 1500

ataattaaga ttattattct gatttcagaa ctgaaaaaaa aagtgtggtt aattaattat 1560

tggttaggct taattttatc tagatgtaga aaaagaatca agatcttcaa gcaagagaga 1620

agaggatcga agaagaagga aaagaaaacg aaaaggacat gctgtgttgt ctcttctagt 1680

tgtaccctgg ctgctgatta agtgctttgt tttgttgctg caagcttgtc gttactgatt 1740

attagttagt tatgcatcta attgattaaa ctaatctgtt tggcattttg gctcgagcta 1800

agctatagcc aggctggtca atgataggaa cttgtacaat ttaagcaatt gaacctgatc 1860

ctgtactggc atgtatgtat atatgcaagt gatgagaacc actagctagt atagctagac 1920

atgtatttgt ata 1933

<210> 128
<211> 1122
<212> ADN

ctggagctgt tcctcagggc gctcgggctc accggcgagc aggtcggcgc cgtcgaggcg 960

gagcggagga tcggcgagac gatgaccgcc accatgcacc tcaactggta tgtgccatgc 1020

catgaccacc tgcgtctatg aactaacgga agcttccatc gcgtgtccat gacgatttag 1080

aagctgtagt ccagagcttg agacaaacga aacgaagctt acatggtggc gtgacgtgtc 1140

gcgtgcaggt atccgaggtg cccggacccg cggcgcgcgc tggggctgat cgcgcacacg 1200

gactcgggct tcttcacctt cgtgctgcag agcctcgtgc cggggctgca gctgttccgg 1260

cacggcccca accggtgggt ggcggtgccg gccgtgccgg gcgccttcgt cgtcaacgtc 1320

ggcgacctct tccacatcct cacgaacggc cgcttccaca gcgtgtacca ccgcgccgtc 1380

gtcaaccggg acctcgaccg gatatcgctc ggctacttcc tcggcccgcc gccccacgcc 1440

aaggtggcgc cgctccggga ggtcgtgccg ccgggccggg cccccgccta ccgcgccgtc 1500

acgtggcccg agtacatggg cgtccgcaag aaggccttca ccaccggcgc ctccgcgctc 1560

aagatggtcg ccgccgccgc cgccgccacc gaatccgacg acaccgacgc agccgccgcc 1620

gccgttcacc agccgccggt cgtcgtctca tcgtagccga tcgatcgccg gaaacacaga 1680

cgatgcatac cgtaccccga gcaatctaat caaaacaagg catccattct cgcgcgcatg 1740

cagcggccag ccgggcttcc gcagctgctc ggcctcctct gctggctgtg gaaatggaaa 1800

attttaatct gagatgaaga cgaagacgaa gacgaaacgg agaggaaaag gacatgctgt 1860

agctgtttct tctagttgcg caggccgctc ccagtcgagt ttgtcgttac tgacgattat 1920

tactctgatg aaaactaatc tgaattaatg catgtagttt ggcaatttgg tactaaaggt 1980

aggcacctag ccaggctggt caatgatagg tctataacct gatcctgttc tctgttgttt 2040

tcctttgtct gagaaaaaat ggaaataatt gatccggccg gacgggtgta ctgataggtg 2100

atgctgaatt gctgatgcaa gaggttgcga gctgcagtga gcagca 2146

<210> 127
<211> 1933
<212> ADN
<213> Oryza sativa

<400> 127
actactcatt ccactattgt aaagtcatag aaaaaattta tatagagaga aaaaattagt 60

gttgttattg ttactggctt tctgccagac gagacgagcg agcgcgcgag tgtgttgctc 120

tctggtcatc gtcgtcgtcg tcgcgatgcc gacgccgtcg cacttgaaga acccgctctg 180

cttcgacttc cgggcggcga ggcgggtgcc ggagacgcac gcgtggccgg ggctggacga 240

ccacccggtg gtggacggcg gcggcggcgg cggcgaggac gcggtgccgg tggtggacgt 300

<213> Oryza sativa

<400> 128
atgccgacgc cgtcgcactt gaagaacccg ctctgcttcg acttccgggc ggcgaggcgg 60

gtgccggaga cgcacgcgtg gccggggctg gacgaccacc cggtggtgga cggcggcggc 120

ggcggcggcg aggacgcggt gccggtggtg gacgtcgggg cgggcgacgc ggcggcgcgg 180

gtggcgcggg cggcggagca gtggggcgcg ttccttctgg tcgggcacgg cgtgccggcg 240

gcgctgctgt cgcgcgtcga ggagcgcgtc gcccgcgtgt tctccctgcc ggcgtcggag 300

aagatgcgcg ccgtccgcgg ccccggcgag ccctgcggct acggctcgcc gcccatctcc 360

tccttcttct ccaagctcat gtggtccgag ggctacacct tctcccttc ctccctccgc 420

tccgagctcc gccgcctctg gcccaagtcc ggcgacgact acctcctctt ctgtgacgtg 480

atggaggagt ttcacaagga gatgcggcgg ctagccgacg agttgctgag gttgttcttg 540

agggcgctgg ggctcaccgg cgaggaggtc gccggagtcg aggcggagag gaggatcggc 600

gagaggatga cggcgacggt gcacctcaac tggtacccga ggtgcccgga gccgcggcga 660

gcgctggggc tcatcgcgca cacggactcg ggcttcttca ccttcgtgct ccagagcctc 720

gtcccggggc tgcagctgtt ccgtcgaggg cccgaccggt gggtggcggt gccggcggtg 780

gcgggggcct tcgtcgtcaa cgtcggcgac ctcttccaca tcctcaccaa cggccgcttc 840

cacagcgtct accaccgcgc cgtcgtgaac cgcgaccgcg accgggtctc gctcggctac 900

ttcctcggcc cgccgccgga cgccgaggtg gcgccgctgc cggaggccgt gccggccggc 960

cggagccccg cctaccgcgc tgtcacgtgg ccggagtaca tggccgtccg caagaaggcc 1020

ttcgccaccg gcggctccgc cctcaagatg gtctccaccg acgccgccgc cgccgccgac 1080

gaacacgacg acgtcgccgc cgccgccgac gtccacgcat aa 1122

<210> 129
<211> 373
<212> PRT
<213> Oryza sativa

<400> 129

Met Pro Thr Pro Ser His Leu Lys Asn Pro Leu Cys Phe Asp Phe Arg
1 5 10 15

Ala Ala Arg Arg Val Pro Glu Thr His Ala Trp Pro Gly Leu Asp Asp
20 25 30

His Pro Val Val Asp Gly Gly Gly Gly Gly Gly Glu Asp Ala Val Pro
35 40 45

Val Val Asp Val Gly Ala Gly Asp Ala Ala Ala Arg Val Ala Arg Ala
50 55 60

Ala Glu Gln Trp Gly Ala Phe Leu Leu Val Gly His Gly Val Pro Ala
65 70 75 80

Ala Leu Leu Ser Arg Val Glu Glu Arg Val Ala Arg Val Phe Ser Leu
85 90 95

Pro Ala Ser Glu Lys Met Arg Ala Val Arg Gly Pro Gly Glu Pro Cys
100 105 110

Gly Tyr Gly Ser Pro Pro Ile Ser Ser Phe Phe Ser Lys Leu Met Trp
115 120 125

Ser Glu Gly Tyr Thr Phe Ser Pro Ser Ser Leu Arg Ser Glu Leu Arg
130 135 140

Arg Leu Trp Pro Lys Ser Gly Asp Asp Tyr Leu Leu Phe Cys Asp Val
145 150 155 160

Met Glu Glu Phe His Lys Glu Met Arg Arg Leu Ala Asp Glu Leu Leu
165 170 175

Arg Leu Phe Leu Arg Ala Leu Gly Leu Thr Gly Glu Glu Val Ala Gly
180 185 190

Val Glu Ala Glu Arg Arg Ile Gly Glu Arg Met Thr Ala Thr Val His
195 200 205

Leu Asn Trp Tyr Pro Arg Cys Pro Glu Pro Arg Arg Ala Leu Gly Leu
210 215 220

Ile Ala His Thr Asp Ser Gly Phe Phe Thr Phe Val Leu Gln Ser Leu
225 230 235 240

Val Pro Gly Leu Gln Leu Phe Arg Arg Gly Pro Asp Arg Trp Val Ala
245 250 255

Val Pro Ala Val Ala Gly Ala Phe Val Val Asn Val Gly Asp Leu Phe
260 265 270

His Ile Leu Thr Asn Gly Arg Phe His Ser Val Tyr His Arg Ala Val
275 280 285

Val Asn Arg Asp Arg Asp Arg Val Ser Leu Gly Tyr Phe Leu Gly Pro
290 295 300

Pro Pro Asp Ala Glu Val Ala Pro Leu Pro Glu Ala Val Pro Ala Gly
305 310 315 320

Arg Ser Pro Ala Tyr Arg Ala Val Thr Trp Pro Glu Tyr Met Ala Val
325 330 335

Arg Lys Lys Ala Phe Ala Thr Gly Gly Ser Ala Leu Lys Met Val Ser
340 345 350

Thr Asp Ala Ala Ala Ala Ala Asp Glu His Asp Asp Val Ala Ala Ala
355 360 365

Ala Asp Val His Ala
370

<210> 130
<211> 2040
<212> ADN
<213> Oryza sativa

<400> 130
actactcatt ccactattgt aaagtcatag aaaaaattta tatagagaga aaaaattagt 60

gttgttattg ttactggctt tctgccagac gagacgagcg agcgcgcgag tgtgttgctc 120

tctggtcatc gtcgtcgtcg tcgcgatgcc gacgccgtcg cacttgaaga acccgctctg 180

cttcgacttc cgggcggcga ggcgggtgcc ggagacgcac gcgtggccgg ggctggacga 240

ccacccggtg gtggacggcg gcggcggcgg cggcgaggac gcggtgccgg tggtggacgt 300

cggggcgggc gacgcggcgg cgcgggtggc gcgggcggcg gagcagtggg gcgcgttcct 360

tctggtcggg cacggcgtgc cggcggcgct gctgtcgcgc gtcgaggagc gcgtcgcccg 420

cgtgttctcc ctgccggcgt cggagaagat gcgcgccgtc cgcggccccg gcgagccctg 480

cggctacggc tcgccgccca tctcctcctt cttctccaag ctcatgtggt ccgagggcta 540

caccttctcc ccttcctccc tccgctccga gctccgccgc ctctggccca agtccggcga 600

cgactacctc ctcttctggt atatatacat atatactctc ccatgcattc catgcacata 660

cactctacgt atatatctac ctctacgtat atatctacgt attgatctac gtataatata 720

cgcagtgacg tgatggagga gtttcacaag gagatgcggc ggctagccga cgagttgctg 780

aggttgttct tgagggcgct ggggctcacc ggcgaggagg tcgccggagt cgaggcggag 840

aggaggatcg gcgagaggat gacggcgacg gtgcacctca actggtaccc gaggtgcccg 900

tcgcgctgcc ggcgtcggag aagatgcgcg ccgtgcggcg gcccggcgac tcgtgcggct 480

acgggtcgcc gcccatctcc tccttcttct ccaagtgcat gtggtccgag ggctacacct 540

tctccccggc caacctccgc tccgacctcc gcaagctctg gcccaaggcc ggccacgact 600

accgccactt ctgtgccgtg atggaggagt tccacaggga gatgcgcgtt ctggccgaca 660

agctgctgga gctgttcctg gtggccctcg ggctcaccgg cgagcaggtc gccgccgtcg 720

agtcggagca caagatcgcc gagaccatga ccgccacaat gcacctcaac tggtacccca 780

agtgcccgga cccgaagcga gcgctgggcc tgatcgcgca cacggactcg ggcttcttca 840

ccttcgtgct ccagagcctg gtgcccgggc tgcagctgtt ccggcacggc cccgaccgtt 900

gggtgacggt gcccgccgtg ccgggcgcca tggtcgtcaa cgtcggcgac ctcttccaca 960

tcctcaccaa tggccgcttc cacagcgtct accaccgcgc cgtcgtcaac cgcgacagcg 1020

accggatatc gctggggtac ttcctcggcc cgcccgccca cgttaaggtg gcgccgctca 1080

gggaggccct cgccggcacg cccgctgcct accgcgccgt cacgtggccc gagtacatgg 1140

gcgtgcgcaa gaaggccttc accaccggcg cctccgcgct caagatggtc gccatctcca 1200

ccgacgacgc cgccgacgtc ctccccgacg tcctctcgtc gtagatcggc gccggccatc 1260

acccggccgg ccaagagacc gatctataca aacaattagt gaacaaaaaa aaaaaaaaaa 1320

aaaaaaaaaa aa 1332

<210> 132
<211> 1110
<212> ADN
<213> Hordeum vulgare

<400> 132
atgccgacgc cgtcgcacct gagcaaggac ccgcactact tcgacttccg ggcggcgcgg 60

cgggtgccgg agacacacgc gtggccgggg ctgcacgacc acccggtggt ggacggcggc 120

ggcgcgggcg gagggccgga cgcggtgccg gtggtggaca tgcgcgaccc gtgcgccgcg 180

gaggcggtgg cgctggccgc gcaggactgg ggcgccttcc tcttgcaggg ccacggcgtc 240

ccgttggagc tgctggcccg cgtggaggcc gcgatagcgg gcatgttcgc gctgccggcg 300

tcggagaaga tgcgcgccgt gcggcggccc ggcgactcgt gcggctacgg gtcgccgccc 360

atctcctcct tcttctccaa gtgcatgtgg tccgagggct acaccttctc cccggccaac 420

ctccgctccg acctccgcaa gctctggccc aaggccggcc acgactaccg ccacttctgt 480

gccgtgatgg aggagttcca cagggagatg cgcgttctgg ccgacaagct gctggagctg 540

ttcctggtgg ccctcgggct caccggcgag caggtcgccg ccgtcgagtc ggagcacaag 600

atcgccgaga ccatgaccgc cacaatgcac ctcaactggt accccaagtg cccggacccg 660

gagccgcggc gagcgctggg gctcatcgcg cacacggact cgggcttctt caccttcgtg 960

ctccagagcc tcgtcccggg gctgcagctg ttccgtcgag ggcccgaccg gtgggtggcg 1020

gtgccggcgg tggcgggggc cttcgtcgtc aacgtcggcg acctcttcca catcctcacc 1080

aacggccgct tccacagcgt ctaccaccgc gccgtcgtga accgcgaccg cgaccgggtc 1140

tcgctcggct acttcctcgg cccgccgccg gacgccgagg tggcgccgct gccggaggcc 1200

gtgccggccg gccggagccc cgcctaccgc gctgtcacgt ggccggagta catggccgtc 1260

cgcaagaagg ccttcgccac cggcggctcc gccctcaaga tggtctccac cgacgccgcc 1320

gccgccgccg acgaacacga cgacgtcgcc gccgccgccg acgtccacgc ataagctata 1380

gctactagct acctcgatct cacgcaaaaa aaaaaagaaa caattaatag agcaaaaaaa 1440

aaaagaagag aaaatggtgg tacttgtgtt taaggtttcc tccatgcaaa atggtttgca 1500

tgcatgcatg caaagctagc atctgcagct gcaagaatta caagagcaga gaagcagaca 1560

gctagatgga gataattaat taattaatta atctaattaa gcatgcaata attaagatta 1620

ttattctgat ttcagaactg aaaaaaaaag tgtggttaat taattattgg ttaggcttaa 1680

ttttatctag atgtagaaaa agaatcaaga tcttcaagca agagagaaga ggatcgaaga 1740

agaaggaaaa gaaaacgaaa aggacatgct gtgttgtctc ttctagttgt accctggctg 1800

ctgattaagt gctttgtttt gttgctgcaa gcttgtcgtt actgattatt agttagttat 1860

gcatctaatt gattaaacta atctgtttgg cattttggct cgagctaagc tatagccagg 1920

ctggtcaatg ataggaactt gtacaattta agcaattgaa cctgatcctg tactggcatg 1980

tatgtatata tgcaagtgat gagaaccact agctagtata gctagacatg tatttgtata 2040

<210> 131
<211> 1332
<212> ADN
<213> Hordeum vulgare

<400> 131
acactcactc ctcaatccat ccgtctccac cattgctcgc tagctcgagc tctactagct 60

agcactgcaa agtcagccgg gccggagttg atttggtcct tgttagcttg accgatcgta 120

tacgtatcgc caggatgccg acgccgtcgc acctgagcaa ggacccgcac tacttcgact 180

tccgggcggc gcggcgggtg ccggagacac acgcgtggcc ggggctgcac gaccacccgg 240

tggtggacgg cggcggcgcg ggcggagggc cggacgcggt gccggtggtg gacatgcgcg 300

acccgtgcgc cgcggaggcg gtggcgctgg ccgcgcagga ctggggcgcc ttcctcttgc 360

agggccacgg cgtcccgttg gagctgctgg cccgcgtgga ggccgcgata gcgggcatgt 420

aagcgagcgc tgggcctgat cgcgcacacg gactcgggct tcttcacctt cgtgctccag 720

agcctggtgc ccgggctgca gctgttccgg cacggccccg accgttgggt gacggtgccc 780

gccgtgccgg gcgccatggt cgtcaacgtc ggcgacctct tccacatcct caccaatggc 840

cgcttccaca gcgtctacca ccgcgccgtc gtcaaccgcg acagcgaccg gatatcgctg 900

gggtacttcc tcggcccgcc cgcccacgtt aaggtggcgc cgctcaggga ggccctcgcc 960

ggcacgcccg ctgcctaccg cgccgtcacg tggcccgagt acatgggcgt gcgcaagaag 1020

gccttcacca ccggcgcctc cgcgctcaag atggtcgcca tctccaccga cgacgccgcc 1080

gacgtcctcc ccgacgtcct ctcgtcgtag 1110

<210> 133
<211> 369
<212> PRT
<213> Hordeum vulgare

<400> 133

Met Pro Thr Pro Ser His Leu Ser Lys Asp Pro His Tyr Phe Asp Phe
1 5 10 15

Arg Ala Ala Arg Arg Val Pro Glu Thr His Ala Trp Pro Gly Leu His
20 25 30

Asp His Pro Val Val Asp Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly Pro Asp Ala
35 40 45

Val Pro Val Val Asp Met Arg Asp Pro Cys Ala Ala Glu Ala Val Ala
50 55 60

Leu Ala Ala Gln Asp Trp Gly Ala Phe Leu Leu Gln Gly His Gly Val
65 70 75 80

Pro Leu Glu Leu Leu Ala Arg Val Glu Ala Ala Ile Ala Gly Met Phe
85 90 95

Ala Leu Pro Ala Ser Glu Lys Met Arg Ala Val Arg Arg Pro Gly Asp
100 105 110

Ser Cys Gly Tyr Gly Ser Pro Pro Ile Ser Ser Phe Phe Ser Lys Cys
115 120 125

Met Trp Ser Glu Gly Tyr Thr Phe Ser Pro Ala Asn Leu Arg Ser Asp
130 135 140

Leu Arg Lys Leu Trp Pro Lys Ala Gly His Asp Tyr Arg His Phe Cys
145 150 155 160

Ala Val Met Glu Glu Phe His Arg Glu Met Arg Val Leu Ala Asp Lys
165 170 175

Leu Leu Glu Leu Phe Leu Val Ala Leu Gly Leu Thr Gly Glu Gln Val
180 185 190

Ala Ala Val Glu Ser Glu His Lys Ile Ala Glu Thr Met Thr Ala Thr
195 200 205

Met His Leu Asn Trp Tyr Pro Lys Cys Pro Asp Pro Lys Arg Ala Leu
210 215 220

Gly Leu Ile Ala His Thr Asp Ser Gly Phe Phe Thr Phe Val Leu Gln
225 230 235 240

Ser Leu Val Pro Gly Leu Gln Leu Phe Arg His Gly Pro Asp Arg Trp
245 250 255

Val Thr Val Pro Ala Val Pro Gly Ala Met Val Val Asn Val Gly Asp
260 265 270

Leu Phe His Ile Leu Thr Asn Gly Arg Phe His Ser Val Tyr His Arg
275 280 285

Ala Val Val Asn Arg Asp Ser Asp Arg Ile Ser Leu Gly Tyr Phe Leu
290 295 300

Gly Pro Pro Ala His Val Lys Val Ala Pro Leu Arg Glu Ala Leu Ala
305 310 315 320

Gly Thr Pro Ala Ala Tyr Arg Ala Val Thr Trp Pro Glu Tyr Met Gly
325 330 335

Val Arg Lys Lys Ala Phe Thr Thr Gly Ala Ser Ala Leu Lys Met Val
340 345 350

Ala Ile Ser Thr Asp Asp Ala Ala Asp Val Leu Pro Asp Val Leu Ser
355 360 365

Ser

<210> 134
<211> 1653
<212> ADN
<213> Triticum aestivum

<220>
<221> misc_feature
<222> (1594)..(1600)
<223> n is a, c, g, or t

<220>
<221> misc_feature
<222> (1641)..(1641)
<223> n is a, c, g, or t

<400> 134
cacgagatcc atccgtctcc accattgctc gctagctcga gctcctagct agtactgcaa 60

agtcagccgg ggagttgatt tggtccttct tggcttgacc gatcgtacgt gccgccagga 120

tgccgacgcc ggcgcacctg agcaaggacc cgcgctactt cgacttccgg gcggcgcggc 180

gggtgccgga gacgcacgcg tggcccgggc tgcacgacca ccccgtggtg gacggcagcg 240

gcgcgggcgg agggccggac gcggtgccgg tggtggacat gcgcgacccg tgcgcggcgg 300

aggcggtggc gctggcggcg caggactggg gcgccttcct cctggagggc cacggcgtcc 360

cgttggagct gctggcgcgc gtggaggccg cgatcgcggg catgttcgcg ctgccggcgt 420

cggagaagat gcgcgccgtg cggcggcccg gcgactcgtg cggctacggg tcgccgccca 480

tctcctcctt cttctccaag tgcatgtggt ccgagggcta caccttctcc ccggccaacc 540

tccgctccga cctccgcaag ctctggccca aggccggcca cgactaccgc cacttctgcg 600

ccgtgatgga ggagttccac agggagatgc gcgcgctggc cgacaagctg ctggagctgt 660

tcctggtggc cctcgggctc accggcgagc aggtcgccgc cgtcgagtcc gagcagaaga 720

tcgccgagac catgaccgcc acaatgcacc tcaactggta ccccaagtgc ccggacccga 780

agcgggcgct gggcctgatc gcgcacacgg actcgggctt cttcaccttc gtgctgcaga 840

gccttgtgcc cgggctgcag ctgttccggc acggccccga ccggtgggtg acggtgcccg 900

ccgtgccggg ggccatggtc gtcaacgtcg gcgacctctt ccagatcctc accaacggcc 960

gcttccacag cgtctaccac cgcgccgtcg tcaaccgcga cagcgaccgg atatcgctcg 1020

gctacttcct cggcccgccc gcccacgtca aggtggcgcc gctcagggag gccctggccg 1080

gcacgcccgc cgcctaccgc gccgtcacgt ggcccgagta catgggcgtg cgcaagaagg 1140

ccttcaccac cggcgcctcc gcgctcaaga tggtcgccat ctccactgac aacgacgccg 1200

ccaaccacac ggacgacctg atctcgtcgt agatcggcgc cggccatcac cggccggcca 1260

<210> 136
<211> 370
<212> PRT
<213> Triticum aestivum

<400> 136

Met Pro Thr Pro Ala His Leu Ser Lys Asp Pro Arg Tyr Phe Asp Phe
1 5 10 15

Arg Ala Ala Arg Arg Val Pro Glu Thr His Ala Trp Pro Gly Leu His
20 25 30

Asp His Pro Val Val Asp Gly Ser Gly Ala Gly Gly Gly Pro Asp Ala
35 40 45

Val Pro Val Val Asp Met Arg Asp Pro Cys Ala Ala Glu Ala Val Ala
50 55 60

Leu Ala Ala Gln Asp Trp Gly Ala Phe Leu Leu Glu Gly His Gly Val
65 70 75 80

Pro Leu Glu Leu Leu Ala Arg Val Glu Ala Ala Ile Ala Gly Met Phe
85 90 95

Ala Leu Pro Ala Ser Glu Lys Met Arg Ala Val Arg Arg Pro Gly Asp
100 105 110

Ser Cys Gly Tyr Gly Ser Pro Pro Ile Ser Ser Phe Phe Ser Lys Cys
115 120 125

Met Trp Ser Glu Gly Tyr Thr Phe Ser Pro Ala Asn Leu Arg Ser Asp
130 135 140

Leu Arg Lys Leu Trp Pro Lys Ala Gly His Asp Tyr Arg His Phe Cys
145 150 155 160

Ala Val Met Glu Glu Phe His Arg Glu Met Arg Ala Leu Ala Asp Lys
165 170 175

Leu Leu Glu Leu Phe Leu Val Ala Leu Gly Leu Thr Gly Glu Gln Val
180 185 190

Ala Ala Val Glu Ser Glu Gln Lys Ile Ala Glu Thr Met Thr Ala Thr
195 200 205

Met His Leu Asn Trp Tyr Pro Lys Cys Pro Asp Pro Lys Arg Ala Leu

agggatcgat ctacacacac aattagtgaa caaaaaaatg ccagagatgg tgcatggtgg 1320

gctggtagct tagctgaggt agctaggagg aagagcgcgc gtgcggctgt cgttcgtgcg 1380

gctgttcccg caaaaaaaaa aaaggtttcc tccatatatg tctccatgca gaactgcaga 1440

tgctggtggt ggatgcgtcc atgcagcagg gaacgaacta attgtaagaa aatcaagcaa 1500

acttagttct acatctgtaa ttaagtatgc atgccacttg gtttaattca attcaagtgc 1560

agaaaaaatt atgatgggaa aaaaaaagac atgnnnnnnn aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1620

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa naaaaaaaaa aaa 1653

<210> 135
<211> 1113
<212> ADN
<213> Triticum aestivum

<400> 135
atgccgacgc cggcgcacct gagcaaggac ccgcgctact tcgacttccg ggcggcgcgg 60

cgggtgccgg agacgcacgc gtggcccggg ctgcacgacc accccgtggt ggacggcagc 120

ggcgcgggcg gagggccgga cgcggtgccg gtggtggaca tgcgcgaccc gtgcgcggcg 180

gaggcggtgg cgctggcggc gcaggactgg ggcgccttcc tcctggaggg ccacggcgtc 240

ccgttggagc tgctggcgcg cgtggaggcc gcgatcgcgg gcatgttcgc gctgccggcg 300

tcggagaaga tgcgcgccgt gcggcggccc ggcgactcgt gcggctacgg gtcgccgccc 360

atctcctcct tcttctccaa gtgcatgtgg tccgagggct acaccttctc cccggccaac 420

ctccgctccg acctccgcaa gctctggccc aaggccggcc acgactaccg ccacttctgc 480

gccgtgatgg aggagttcca cagggagatg cgcgcgctgg ccgacaagct gctggagctg 540

ttcctggtgg ccctcgggct caccggcgag caggtcgccg ccgtcgagtc cgagcagaag 600

atcgccgaga ccatgaccgc cacaatgcac ctcaactggt accccaagtg cccggacccg 660

aagcgggcgc tgggcctgat cgcgcacacg gactcgggct tcttcacctt cgtgctgcag 720

agccttgtgc ccgggctgca gctgttccgg cacggccccg accggtgggt gacggtgccc 780

gccgtgccgg gggccatggt cgtcaacgtc ggcgacctct tccagatcct caccaacggc 840

cgcttccaca gcgtctacca ccgcgccgtc gtcaaccgcg acagcgaccg gatatcgctc 900

ggctacttcc tcggcccgcc cgcccacgtc aaggtggcgc cgctcaggga ggccctggcc 960

ggcacgcccg ccgcctaccg cgccgtcacg tggcccgagt acatgggcgt gcgcaagaag 1020

gccttcacca ccggcgcctc cgcgctcaag atggtcgcca tctccactga caacgacgcc 1080

gccaaccaca cggacgacct gatctcgtcg tag 1113

210 215 220

Gly Leu Ile Ala His Thr Asp Ser Gly Phe Phe Thr Phe Val Leu Gln
225 230 235 240

Ser Leu Val Pro Gly Leu Gln Leu Phe Arg His Gly Pro Asp Arg Trp
245 250 255

Val Thr Val Pro Ala Val Pro Gly Ala Met Val Val Asn Val Gly Asp
260 265 270

Leu Phe Gln Ile Leu Thr Asn Gly Arg Phe His Ser Val Tyr His Arg
275 280 285

Ala Val Val Asn Arg Asp Ser Asp Arg Ile Ser Leu Gly Tyr Phe Leu
290 295 300

Gly Pro Pro Ala His Val Lys Val Ala Pro Leu Arg Glu Ala Leu Ala
305 310 315 320

Gly Thr Pro Ala Ala Tyr Arg Ala Val Thr Trp Pro Glu Tyr Met Gly
325 330 335

Val Arg Lys Lys Ala Phe Thr Thr Gly Ala Ser Ala Leu Lys Met Val
340 345 350

Ala Ile Ser Thr Asp Asn Asp Ala Ala Asn His Thr Asp Asp Leu Ile
355 360 365

Ser Ser
370

<210> 137
<211> 1884
<212> ADN
<213> Triticum aestivum

<400> 137
tatatataca gctccttgta cttctctcgt tcttacactc actcctcaat ccatccgtct 60

ccaccattgc tcgctagctc gagctcctag ctagtactgc aaagtcagcc ggggagttga 120

tttggtcctt cttggcttga ccgatcgtac gtgccgccag gatgccgacg ccggcgcacc 180

tgagcaagga cccgcgctac ttcgacttcc gggcggcgcg gcgggtgccg gagacgcacg 240

cgtggcccgg gctgcacgac caccccgtgg tggacggcag cggcgcgggc ggagggccgg 300

acgcggtgcc ggtggtggac atgcgcgacc cgtgcgcggc ggaggcggtg gcgctggcgg 360

cgcaggactg gggcgccttc ctcctggagg gccacggcgt cccgttggag ctgctggcgc 420

gcgtggaggc cgcgatcgcg ggcatgttcg cgctgccggc gtcggagaag atgcgcgccg 480

tgcggcggcc cggcgactcg tgcggctacg ggtcgccgcc catctcctcc ttcttctcca 540

agtgcatgtg gtccgagggc tacaccttct ccccggccaa cctccgctcc gacctccgca 600

agctctggcc caaggccggc cacgactacc gccacttctg gtacgtacgc cggccgccga 660

tgcgcatata cacgtcatag tacggcacct acctaactgg ctctggccaa ccgtccgtac 720

acacgtgaag gggcgacgtg tccgactccg accatgcatg catgcacgcg cgcgaaactt 780

gttactcctg ttctgctatg gcagcagcta gccgcgtgtg tccgttcgta ggagtagtta 840

cttacacagt tacacttacg ccgtccgtcg tgttcctcga cgtgcagcgc cgtgatggag 900

gagttccaca gggagatgcg cgcgctggcc gacaagctgc tggagctgtt cctggtggcc 960

ctcgggctca ccggcgagca ggtcgccgcc gtcgagtccg agcagaagat cgccgagacc 1020

atgaccgcca caatgcacct caactggtac gttccactac tactccagta gtacaagtac 1080

aatatataga atacaaatgg cagcagccac gacgacacgt actccaccat gcagcaaagc 1140

atatattgtc ggtgcggcgg ttgacacgga gttgtgtcgt gtcgttgatt cacaggtacc 1200

ccaagtgccc ggacccgaag cgggcgctgg gcctgatcgc gcacacggac tcgggcttct 1260

tcaccttcgt gctgcagagc cttgtgcccg ggctgcagct gttccggcac ggccccgacc 1320

ggtgggtgac ggtgcccgcc gtgccggggg ccatggtcgt caacgtcggc gacctcttcc 1380

agatcctcac caacggccgc ttccacagcg tctaccaccg cgccgtcgtc aaccgcgaca 1440

gcgaccggat atcgctcggc tacttcctcg gcccgcccgc ccacgtcaag gtggcgccgc 1500

tcagggaggc cctggccggc acgcccgccg cctaccgcgc cgtcacgtgg cccgagtaca 1560

tgggcgtgcg caagaaggcc ttcaccaccg gcgcctccgc gctcaagatg gtcgccatct 1620

ccactgacaa cgacgccgcc aaccacacgg acgacctgat ctcgtcgtag atcggcgccg 1680

gccatcaccg gccggccaag ggatcgatct acacacacaa ttagtgaaca aaaaaatgcc 1740

agagatggtg catggtgggc tggtagctta gctgaggtag ctaggaggaa gagcgcgcgt 1800

gcggctgtcg ttcgtgcggc tgttcccgca aaaaaaaaaa ggtttcctcc atatakgtcc 1860

ccakscaaaa tsgmaawgct gggg 1884

<210> 138
<211> 20
<212> ARN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> oligo kìm hãm

<400> 138
acggguucuu ccaggugugc 20

<210> 139
<211> 20
<212> ARN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> oligo kìm hãm

<400> 139
cacggguucu uccaggugug 20

<210> 140
<211> 20
<212> ARN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> oligo kìm hãm

<400> 140
cauugaccuc cccgcuggca 20

<210> 141
<211> 20
<212> ARN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> oligo kìm hãm

<400> 141
ccagcgggga ggucaaugcu 20

<210> 142
<211> 20
<212> ARN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> oligo kìm hãm

<400> 142
cccagcauug accuccccgc 20

<210> 143
<211> 20
<212> ARN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> oligo kìm hãm

<400> 148
agaucccgc gccauuccug 20

<210> 149
<211> 20
<212> ARN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> oligo kìm hãm

<400> 149
augcagggaa gcuguccggg 20

<210> 150
<211> 20
<212> ARN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> oligo kìm hãm

<400> 150
auuccugugg ccgcaggaag 20

<210> 151
<211> 20
<212> ARN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> oligo kìm hãm

<400> 151
cagcggggag gucaaugcug 20

<210> 152
<211> 20
<212> ARN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> oligo kìm hãm

<400> 152
caggaauggc gcggggaucu 20

<210> 153
<211> 20
<212> ARN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> oligo kìm hãm

<400> 143
cgcgcucgug uacccggaca 20

<210> 144
<211> 20
<212> ARN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> oligo kìm hãm

<400> 144
cucccggcgc aggucgaaca 20

<210> 145
<211> 20
<212> ARN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> oligo kìm hãm

<400> 145
guguacccgg acacggugcc 20

<210> 146
<211> 20
<212> ARN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> oligo kìm hãm

<400> 146
ugcagggaag cuguccgggc 20

<210> 147
<211> 20
<212> ARN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> oligo kìm hãm

<400> 147
uucuuccagg ugugcgggca 20

<210> 148
<211> 20
<212> ARN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> oligo kìm hãm

<400> 153
gacuacuucg ucggcacccu 20

<210> 154
<211> 20
<212> ARN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> oligo kìm hãm

<400> 154
gccaggauuu cgagccaaug 20

<210> 155
<211> 20
<212> ARN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> oligo kìm hãm

<400> 155
ggaacauuug gagggaggcg 20

<210> 156
<211> 20
<212> ARN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> oligo kìm hãm

<400> 156
gggaggucaa ugcuggggcu 20

<210> 157
<211> 20
<212> ARN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> oligo kìm hãm

<400> 157
uuggcucgaa auccuggccg 20

<210> 158
<211> 20
<212> ARN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> oligo kìm hãm

<400> 158
acggguucuu ccaggugugc 20

<210> 159
<211> 20
<212> ARN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> oligo kìm hãm

<400> 159
cacggguucu uccaggugug 20

<210> 160
<211> 20
<212> ARN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> oligo kìm hãm

<400> 160
cauugaccuc cccgcuggca 20

<210> 161
<211> 20
<212> ARN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> oligo kìm hãm

<400> 161
ccagcgggga ggucaaugcu 20

<210> 162
<211> 20
<212> ARN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> oligo kìm hãm

<400> 162
cccagcauug accuccccgc 20

<210> 163
<211> 20
<212> ARN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> oligo kìm hãm

<400> 163
cgcgcucgug uacccggaca 20

<210> 164
<211> 20
<212> ARN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> oligo kìm hãm

<400> 164
cucccggcgc aggucgaaca 20

<210> 165
<211> 20
<212> ARN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> oligo kìm hãm

<400> 165
guguacccgg acacggugcc 20

<210> 166
<211> 20
<212> ARN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> oligo kìm hãm

<400> 166
ugcagggaag cuguccgggc 20

<210> 167
<211> 20
<212> ARN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> oligo kìm hãm

<400> 167
uucuuccagg ugugcgggca 20

2

1/13

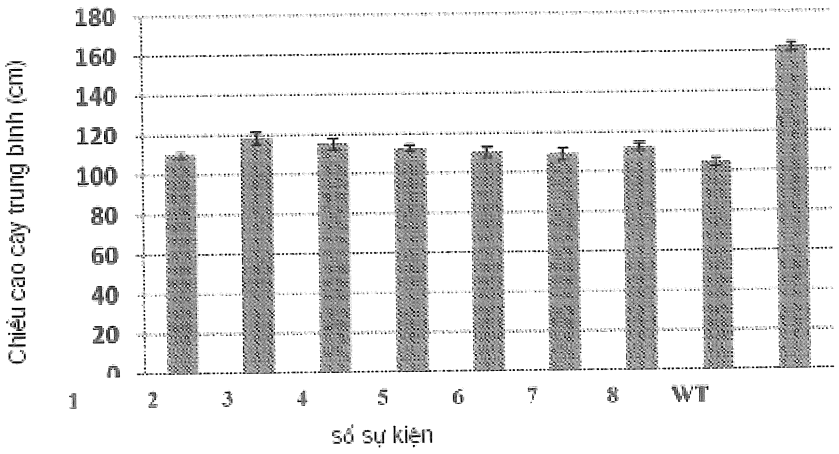
Chiều cao cây trung bình (cm)
180
160
140
120
100
80
60
40
20
0
1
2
3
4
5
6
7
8
WT
số sự kiện

FIG. 1

2/13

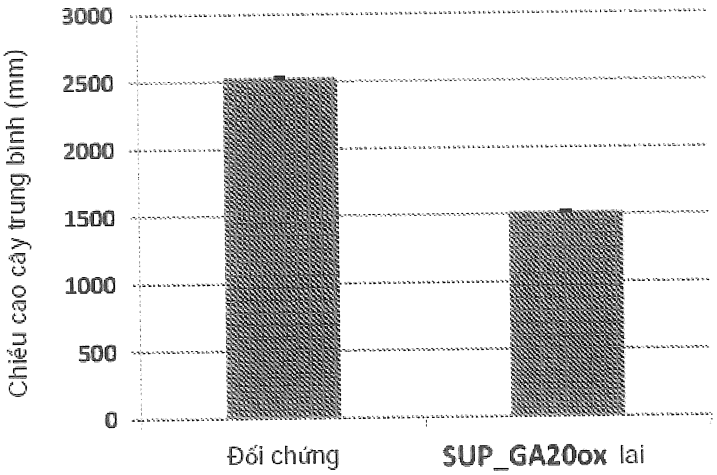

FIG. 2A

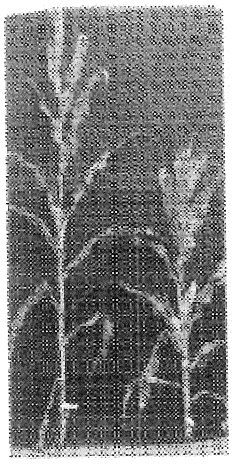

FIG. 2B

3/13

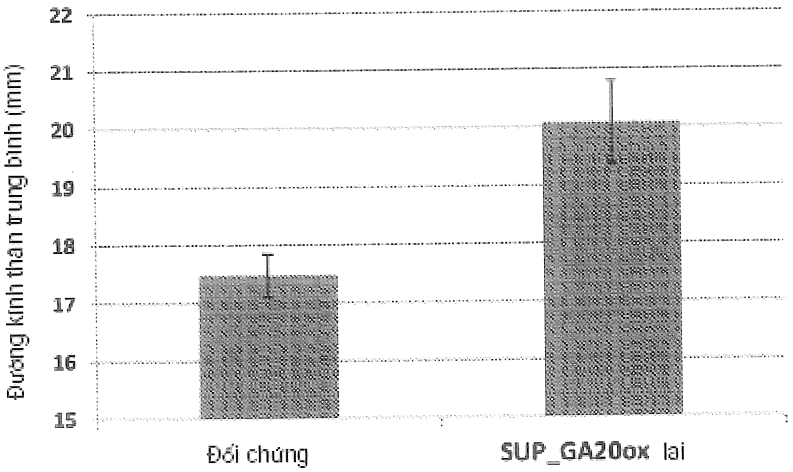

FIG. 3A

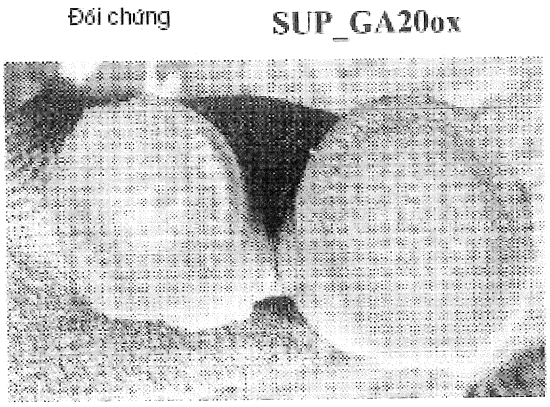

FIG. 3B

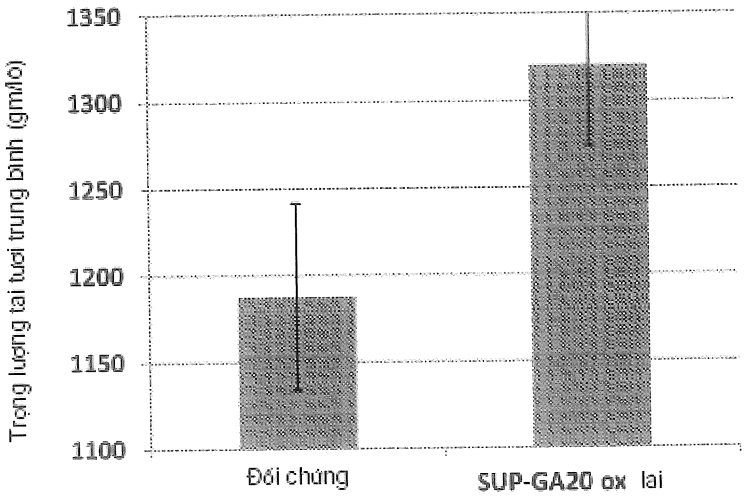
1350
1300
1250
1200
1150
1100
Trọng lượng tại tươi trung bình (gm/lô)
Đối chứng
SUP-GA20 ox lai

FIG. 4

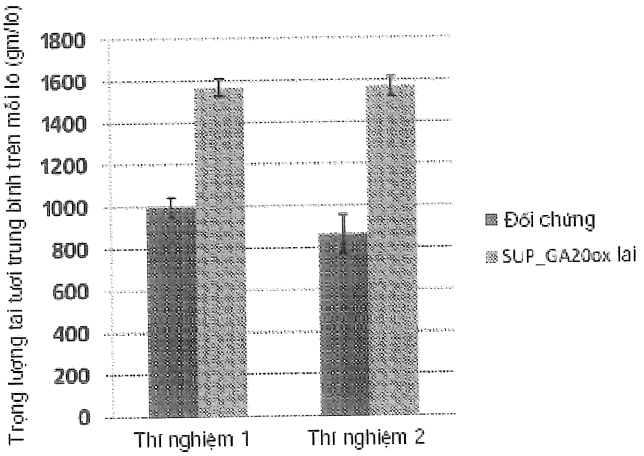
Trọng lượng tài tươi trung bình trên mỗi lô (gm/lô)
1800
1600
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
Thí nghiệm 1
Thí nghiệm 2
Đối chứng
SUP_GA20ox lai

FIG. 5

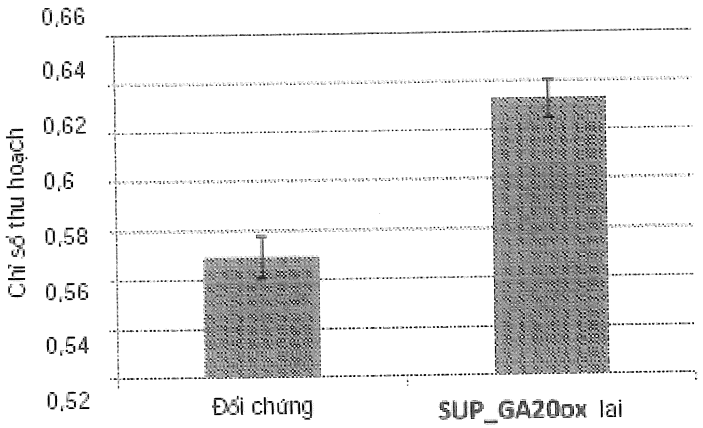
0,66
0,64
0,62
0,6
0,58
0,56
0,54
0,52
Chỉ số thu hoạch
Đối chứng
SUP_GA20ox lai

FIG. 6

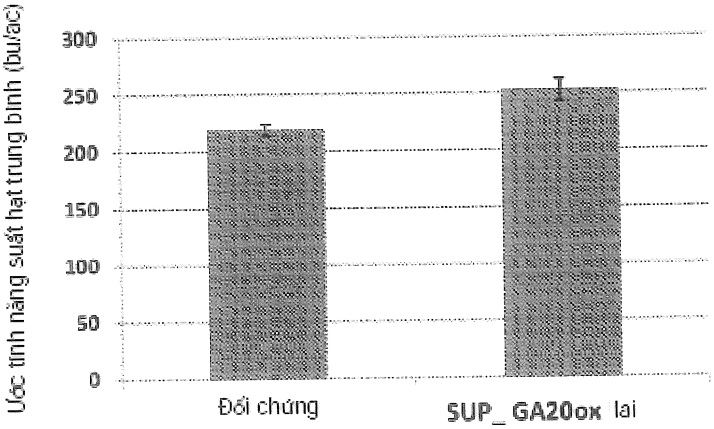
Ước tính năng suất hạt trung bình (bu/ac)
300
250
200
150
100
50
0
Đối chứng
SUP_ GA20ox lai

FIG. 7

8/13

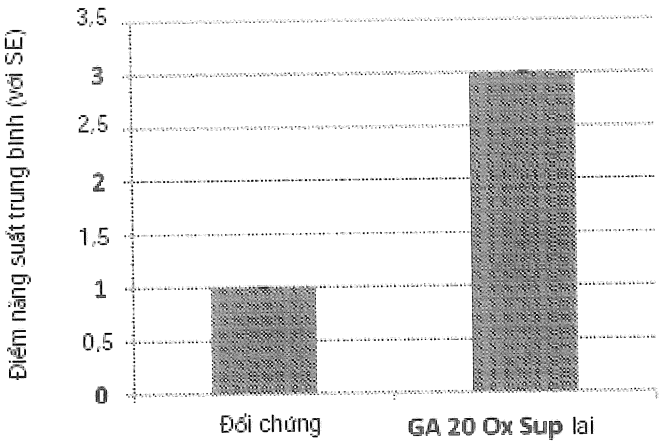
Điểm năng suất trung bình (với SE)
3,5
3
2,5
2
1,5
1
0,5
0
Đối chứng
GA 20 Ox Sup lai

FIG. 8

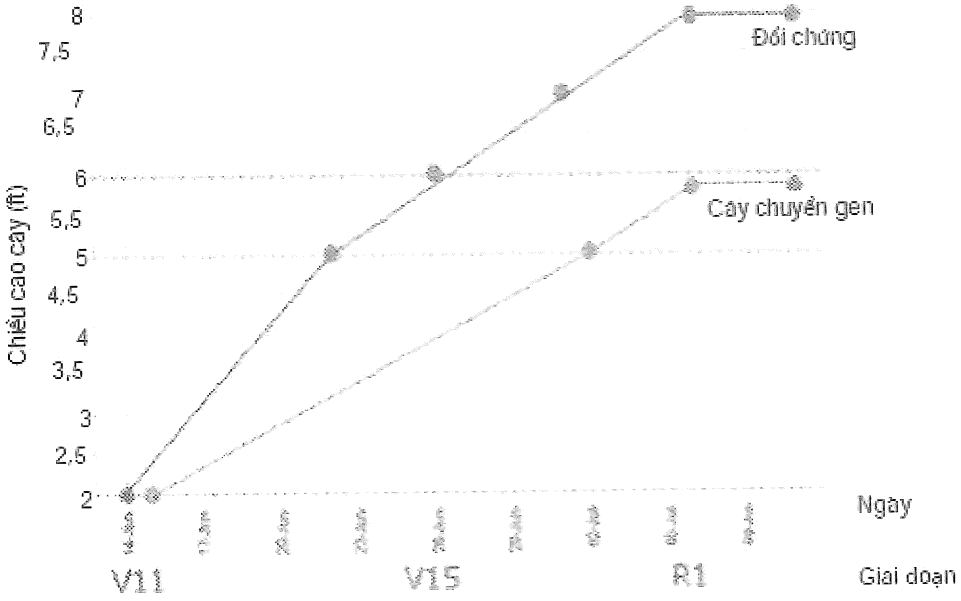
Chiều cao cây (ft)
8
7,5
7
6,5
6
5,5
5
4,5
4
3,5
3
2,5
2
Đối chứng
Cây chuyển gen
Ngày
V11
V15
R1
Giai đoạn

FIG. 9

10/13

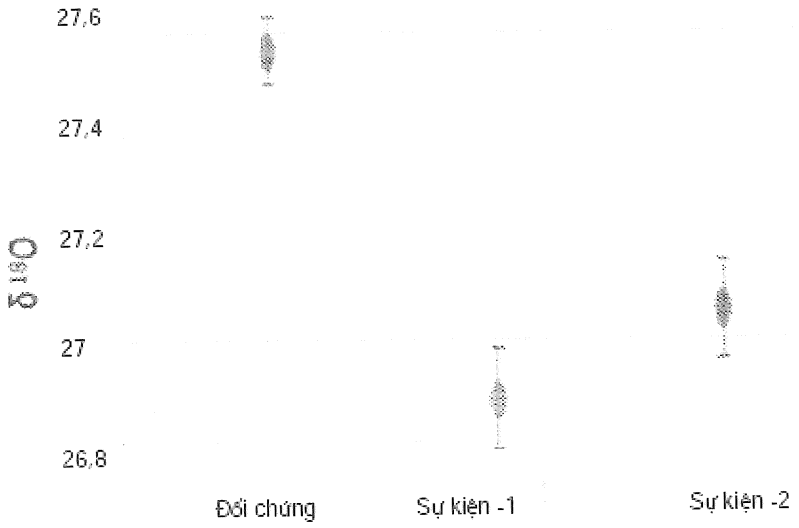

FIG. 10

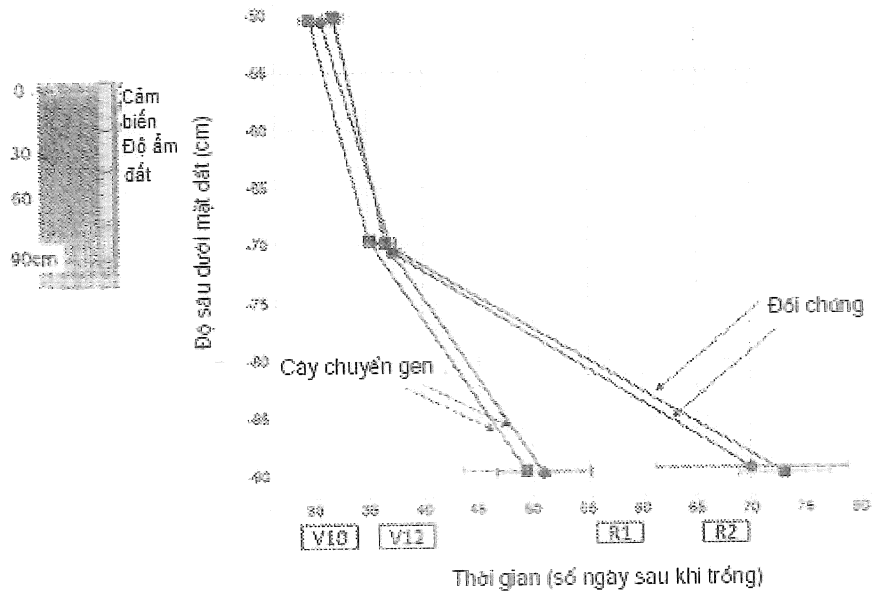
0
30
60
90cm
Cảm biến Độ ẩm đất
Độ sâu dưới mặt đất (cm)
Cây chuyển gen
Đối chứng
V10
V12
R1
R2
Thời gian (số ngày sau khi trồng)

FIG. 11

FIG. 12A

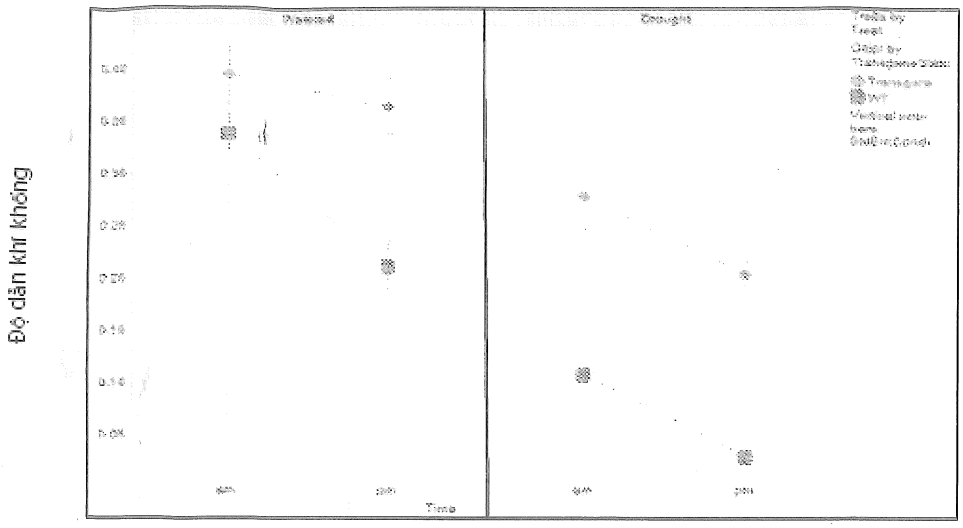

FIG. 12B

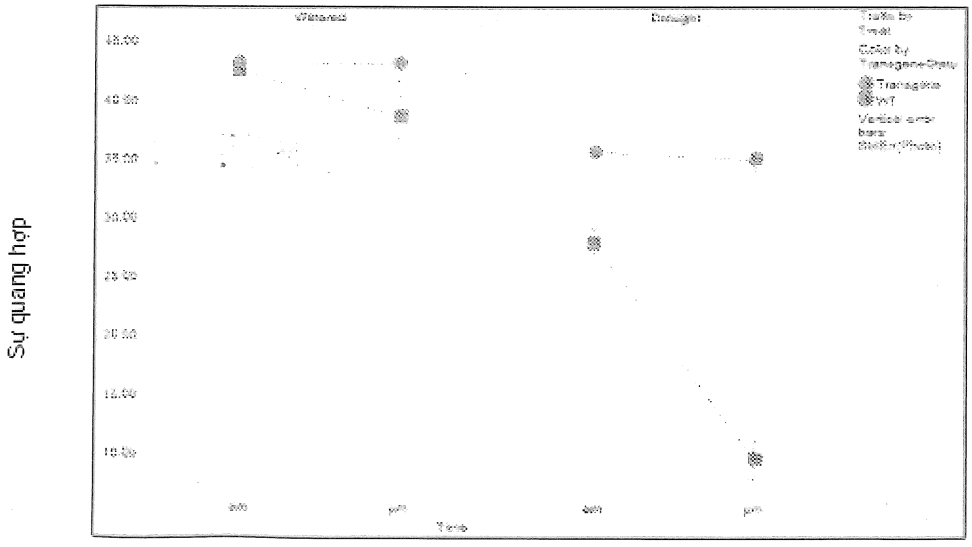

FIG. 13A

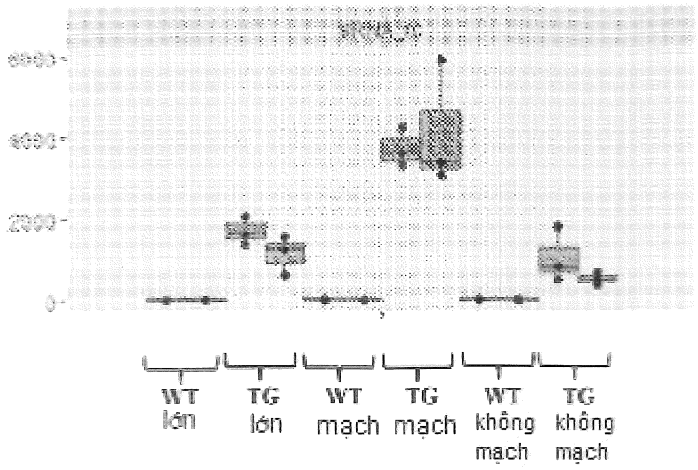

FIG. 13B