



(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) 
1-0019628

(51)⁷ **A01H 5/00, C12N 15/29, 15/60, 9/88** (13) **B**

-
- | | | | | | |
|------|--|------------|------------|---------------|------------|
| (21) | 1-2011-03212 | (22) | 30.08.2004 | | |
| (86) | PCT/EP2004/009641 | 30.08.2004 | (87) | WO2005/020673 | 10.03.2005 |
| (30) | 60/498,895 | 29.08.2003 | US | | |
| | 60/533,105 | 30.12.2003 | US | | |
| (45) | 27.08.2018 | 365 | (43) | 25.05.2012 | 290 |
| (73) | Instituto Nacional de Tecnologia Agropecuaria (AR)
Rivadavia 1439, BUENOS AIRES, 01033, ARGENTINA | | | | |
| (72) | Livore, Alberto, B (AR), PRINA, Alberto, R (AR), BIRK, Iwona (US), SINGH, Bijay (US) | | | | |
| (74) | Công ty TNHH Tư vấn đầu tư và chuyển giao công nghệ (INVESTCONSULT) | | | | |
-

(54) **CÂY LÚA CÓ KHẢ NĂNG CHỊU ĐƯỢC CHẤT DIỆT CỎ IMIDAZOLINON ĐƯỢC TĂNG CƯỜNG VÀ PHƯƠNG PHÁP TRỒNG LÚA**

(57) Sáng chế đề xuất cây trồng có khả năng chịu được chất diệt cỏ imidazolinon được tăng cường. Cụ thể là, sáng chế đề xuất cây lúa chứa ít nhất một axit nucleic AHAS được biến đổi như các giống IMINTA 1, 4 hoặc 5 có khả năng chịu được imidazolinon gồm việc thế alanin thành threonin so với AHAS kiểu hoang. Sáng chế cũng đề xuất hạt giống tạo ra bởi các cây lúa gạo này và phương pháp phòng trừ cỏ dại ở vùng trồng cây lúa này.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Nói chung, sáng chế đề cập đến cây trồng có khả năng chịu được chất diệt cỏ imidazolinon được tăng cường. Cụ thể là, sáng chế đề cập đến cây lúa thu được do sự biến đổi gen và lai chéo và biến nạp có khả năng chịu được chất diệt cỏ imidazolinon được tăng cường.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Theo cuộc khảo sát về nông nghiệp, các trở ngại chính đối với việc trồng lúa là cỏ dại (Hidaka et al., *Agrochemicals Japan*, 2000, 77: 21-29). Việc gieo hạt trực tiếp đã giải quyết vấn đề về lao động trong việc cấy, tuy nhiên kỹ thuật này lại làm gia tăng tình trạng cỏ dại. Việc sử dụng chất diệt cỏ trong vụ trồng lúa là một thói quen thông thường ở hầu hết các vùng trồng lúa trực tiếp từ hạt giống và/hoặc ở các nước phát triển trồng lúa theo hệ thống cấy hoặc gieo hạt trực tiếp. Thông thường, chất diệt cỏ thân cỏ và cỏ lá rộng được sử dụng một hoặc nhiều lần để phòng trừ cỏ dại cho lúa.

Cây thân cỏ, cỏ lác và lúa dại ("lúa đỏ") đã trở thành các nhóm loài chính có khả năng thích hợp cao với cùng môi trường trồng lúa. Những loài cỏ dại này đã trở nên phổ biến khắp toàn cầu và rất khó phòng ngừa cho lúa. Lúa đỏ thuộc loài tương tự như loài lúa được trồng (*Oryza sativa* L.). Sự tương tự về gen của gạo từ lúa đỏ và gạo thương phẩm đã làm cho việc phòng trừ lúa đỏ trở nên khó khăn. Một vài tập quán văn hóa đã trợ giúp trong việc phòng trừ cỏ dại và thuận tiện trong việc chăm sóc môi trường tốt hơn, như chuẩn bị đất, san đất, đắp đê và độ sâu của nước, luân canh đất, hạt giống đã được kiểm nghiệm, hệ cây trồng thích hợp và ngày cấy. Mặc dù những tập quán văn hóa này có thể giúp giảm ngân hàng hạt giống cỏ dại và phát triển

cỏ dại có thể chịu được chất diệt cỏ, nhưng chúng cũng có những hạn chế nhất định và làm tăng chi phí trồng lúa.

Mặc dù đã có nhiều gợi ý cho tập quán văn hóa tốt hơn, người nông dân vẫn dựa vào việc sử dụng chất diệt cỏ như là công cụ chính để phòng trừ cỏ dại. Việc sử dụng và lạm dụng một số loại hóa chất này đã dẫn đến sự phát triển của các loại cỏ dại có thể chịu được thuốc diệt cỏ như cỏ lồng vực kháng Propanil và Butachlor (*Echinochloa crus galli*). Trong các trường hợp này, có lợi nếu có các chất diệt cỏ khác có các phương thức tác động khác biệt để phòng trừ được hầu hết các loại cỏ dại để có thể thay thế được các chất diệt cỏ thường được sử dụng.

Axetohydroxyaxit synthaza (AHAS; EC 4.1.3.18, axetolactat synthaza (ALS)), được mã hóa bởi axit nucleic AHAS, là enzym thứ nhất xúc tác sự tổng hợp sinh hóa học của các axit amin mạch nhánh valin, leuxin, và isoleuxin (Singh B. K., 1999, Biosynthesis of valine, leucine and isoleucine in: Singh B. K. (Ed) Plant amino acids. Marcel Dekker Inc. New York, New York. Pg 227-247). AHAS là vùng tác động của bốn họ chất diệt cỏ đa dạng về cấu trúc bao gồm sulfonylure (LaRossa RA and Falco SC, 1984, Trends Biotechnol.2: 158-161), imidazolinon (Shaner et al., 1984, Plant Physiol. 76: 545-546), triazolopyrimidin (Subramanian and Gerwick, 1989, Inhibition of acetolactate synthase by triazolopyrimidines in (Ed) Whitaker JR, Sonnet PE Biocatalysis in agricultural biotechnology. ACS Symposium Series, American Chemical Society. Washington, D. c. Pg 277-288), và pyrimidyloxybenzoat (Subramanian et al., 1990, Plant Physiol. 94: 239-244.). Chất diệt cỏ imidazolinon và sulfonylure được sử dụng rộng rãi trong nông nghiệp hiện đại do tính hiệu quả của chúng ở tỉ lệ sử dụng rất thấp và có độ không độc tương đối cho động vật. Bằng cách ức chế hoạt tính AHAS, các họ chất diệt cỏ này đã ngăn ngừa được sự tăng trưởng và phát triển của cây trồng dễ mẫn cảm bao gồm nhiều loại cỏ dại. Một vài ví dụ về chất diệt cỏ imidazolin có bán trên thị trường là PURSUIT® (imazethapyr), SCEPTER® (imazaquin) và ARSENAL® (imazapyr). Các ví dụ về chất diệt cỏ sulfonylure là closulfuron, metsulfuron metyl, sulfometuron metyl, cloimuron etyl, thifensulfitron

metyl, tribenuron metyl, bensulfuron metyl, nicosulfuron, etametsulfuron metyl, rimsulfuron, triflusulfuron metyl, triasulfuron, primisulfuron metyl, xinosulfuron, amidosulfuron, fluzasulfuron, imazosulfuron, pyrazosulfuron etyl, và halosulfuron.

Do tính hiệu quả cao và độ độc thấp của chúng, chất diệt cỏ imidazolin được sử dụng nhiều hơn bằng cách phun lên đỉnh của thực vật trong vùng rộng. Khả năng phun chất diệt cỏ lên đỉnh của thực vật trong vùng rộng làm giảm được chi phí đi kèm với việc hình thành và duy trì khu đất trống, và giảm nhu cầu chuẩn bị khu vực trước khi sử dụng các hóa chất đó. Phun lên đỉnh của loài có khả năng chịu được chất diệt cỏ mong muốn cũng dẫn đến khả năng đạt được hiệu suất tối đa của loài mong muốn này do không có mặt loài cạnh tranh. Tuy nhiên, khả năng sử dụng kỹ thuật phun này tùy thuộc vào sự xuất hiện của loài thực vật mong muốn có khả năng chịu được imidazolinon trong khu vực phun.

Trong số các cây trồng nông nghiệp chính, một số loài đậu như đậu nành có khả năng tự nhiên kháng chất diệt cỏ imidazolinon do khả năng chuyển hóa nhanh các hợp chất diệt cỏ này của chúng (Shaner and Robson, 1985, *Weed Sci.* 33: 469-471). Các vụ cây trồng mùa khác như ngô (Newhouse et al., 1992, *Plant Physiol.* 100: 882-886) và lúa (Barrett et al., 1989, *Crop Safeners for Herbicides*, Academic Press New York, pp. 195- 220) đều có thể chịu được chất diệt cỏ imidazolinon. Độ nhạy cảm khác nhau đối với chất diệt cỏ imidazolinon phụ thuộc vào tính chất hóa học của chất diệt cỏ cụ thể và sự chuyển hóa khác biệt của hợp chất từ dạng độc thành dạng không độc ở mỗi cây trồng (Shaner et al., 1984, *Plant Physiol.* 76: 545-546; Brown et al., 1987, *Pestic. Biochem. Physiol.* 27: 24-29). Các sự khác biệt về mặt sinh lý ở cây trồng khác như là độ hấp thụ và sự hoán vị cũng đóng vai trò quan trọng ở sự nhạy cảm (Shaner and Robson, 1985, *Weed Sci.* 33: 469-471).

Cây trồng vụ mùa kháng imidazolin, sulfonyleure và triazolopyrimidin đã được tạo ra thành công bằng cách sử dụng hạt giống, bào tử nhỏ, phấn hoa, và phát sinh đột biến thể sần ở *Zeamays*, *Brassica napus*, *Glycine max*, và *Nicotiana tabacum*

(Sebastian et al., 1989, Crop Sci. 29:1403-1408; Swanson et al., 1989, Theor. Appl. Genet. 78: 525-530; Newhouse et al., 1991, Theor. Appl. Genet. 83: 65-70; Sathasivan et al., 1991, Plant Physiol. 97: 1044-1050; Mourand et al., 1993, J. Heredity 84: 91-96). Trong mọi trường hợp, gen hạt nhân đơn, một phần trội tạo ra được khả năng kháng. Bốn cây lúa mỳ kháng imidazolinon cũng đã được phân lập trước đây tiếp theo sự phát sinh đột biến ở hạt giống của *Triticum aestivum* L. cv Fidel (Newhouse et al., 1992, Plant Physiol. 100: 882-886). Các nghiên cứu di truyền khẳng định rằng gen đơn, trội một phần tạo ra khả năng kháng. Dựa trên các nghiên cứu alen, các tác giả kết luận rằng các đột biến ở bốn dòng được xác định vị trí ở cùng locus. Một trong số các gen kháng của giống cây Fidel được gọi là FS-4 (Newhouse et al., 1992, Plant Physiol. 100: 882-886).

Việc tạo mô hình cấu trúc ba chiều dựa trên máy tính của phức hợp chất ức chế AHAS dự đoán một vài axit amin ở túi liên kết chất ức chế được đề xuất là các vị trí, trong đó sự đột biến được kích thích có lẽ sẽ tạo ra khả năng kháng có chọn lọc đối với imidazolinon (Ott et al., 1996, J. Mol. Biol. 263: 359-368). Cây thuốc lá được tạo ra với một số đột biến được bố trí hợp lý ở các vị trí liên kết được đề xuất của enzym AHAS trong thực tế thể hiện khả năng kháng đặc hiệu đối với một nhóm chất diệt cỏ (Ott et al., 1996, Mol. Biol. 263: 359-368).

Khả năng kháng ở cây trồng đối với chất diệt cỏ imidazolinon cũng đã được bộc lộ trong một số patent. Các US 4,761,373, 5,331,107, 5,304,732, 6,211,438, 6,211,439, và 6,222,100 thường mô tả việc sử dụng axit nucleic AHAS được biến đổi để tạo ra khả năng kháng chất diệt cỏ ở cây trồng, và cụ thể là bộc lộ các dòng ngô nhất định kháng imidazolinon. US 5,013,659 bộc lộ các cây trồng thể hiện khả năng kháng chất diệt cỏ có sự đột biến trong ít nhất một axit amin ở một hoặc nhiều vùng được bảo toàn. Sự đột biến được mô tả ở đây mã hóa hoặc kháng chéo đối với imidazolinon và sulfonylure hoặc kháng đặc hiệu sulfonylure, nhưng khả năng kháng đặc hiệu imidazolinon lại không được mô tả. Hơn nữa, các US 5,731,180 và 5,767,361 đề cập đến gen được phân lập có sự thay thế axit amin đơn trong trình tự

axit amin AHAS ở cây một lá mầm kiểu hoang dẫn đến khả năng kháng đặc hiệu imidazolinon.

Cây lúa chuyển gen và kháng chất diệt cỏ cũng đã được mô tả. Thể đột biến ở cây lúa kháng chất diệt cỏ sulfonylure, thu được theo cách chọn lọc bằng cách nuôi cấy mô thể sần đã được mô tả, trong đó khả năng kháng là do enzym AHAS đột biến (Terakawa et al., "Rice Mutant Resistant to the Herbicides Bensulfuron Methyl (BSM) by in vitro Selection, "Japan. J. Breed., 1992 vol. 42: 267-275). Các giống lúa kháng chất diệt cỏ khác đã được mô tả trong các patent và đơn yêu cầu cấp patent, bao gồm WO 97/41218, WO 01/85970 và US 5,545,822, 5,736,629, 5,773,704, US 5,773,703, 5,952,553, và 6,274,796. US 5,545,822 bộc lộ giống lúa có khả năng kháng chất diệt cỏ dựa trên sự trao đổi chất gây ức chế enzym axetohydroxyaxit synthaza ở cây trồng; tức là, khả năng kháng chất diệt cỏ của cây lúa không phải là do enzym AHAS kháng. WO 97/41218 bộc lộ một dòng lúa có enzym AHAS được cải biến kháng chất diệt cỏ gây ức chế enzym axetohydroxyaxit synthaza ở cây trồng kiểu hoang. Dòng lúa này được phát triển bằng cách cho hạt giống lúa tiếp xúc với chất gây đột biến etyl este của axit metansulfonic (EMS), và sàng lọc hàng triệu thế hệ con về khả năng kháng chất diệt cỏ.

Trong lĩnh vực kỹ thuật này, vẫn có nhu cầu về sự nhận biết được các dòng lúa khác chứa các gen kháng imidazolinon. Trong lĩnh vực kỹ thuật này, vẫn có nhu cầu về cây lúa có khả năng chịu được chất diệt cỏ được tăng cường như imidazolinon và chứa ít nhất một axit nucleic AHAS được biến đổi. Cũng có nhu cầu về phương pháp phòng trừ sự phát triển của cỏ dại ở vùng trồng lúa. Các chế phẩm và các phương pháp này sẽ cho phép sử dụng kỹ thuật phun khi sử dụng chất diệt cỏ ở những vùng trồng lúa.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Sáng chế đề xuất cây lúa chứa axit nucleic AHAS được biến đổi không tái tổ hợp, trong đó axit nucleic AHAS được biến đổi không tái tổ hợp tạo ra cây lúa này có

khả năng chịu được chất diệt cỏ imidazolin được tăng cường so với giống lúa kiểu hoang. Axit nucleic AHAS được biến đổi không tái tổ hợp bao gồm trình tự polynucleotit được chọn từ nhóm bao gồm: trình tự polynucleotit được nêu trong SEQ ID NO:1; SEQ ID NO:3; hoặc SEQ ID NO:5; trình tự polynucleotit được nêu trong SEQ ID NO:11; trình tự polynucleotit mã hóa polypeptit bao gồm SEQ ID NO:2; SEQ ID NO:4; hoặc SEQ ID NO:6; trình tự polynucleotit mã hóa polypeptit bao gồm SEQ ID NO: 12; và trình tự polynucleotit bổ trợ với bất kỳ trình tự polynucleotit nói trên. Axit nucleic AHAS được biến đổi không tái tổ hợp mã hóa-polynucleotit AHAS được biến đổi ở lúa bao gồm sự thay thế alanin thành threonin ở vị trí tương đương với vị trí 96 của polypeptit AHAS ở lúa kiểu hoang; trong đó sự thay thế alanin thành threonin ở vị trí tương đương với vị trí 96 của polypeptit AHAS ở lúa kiểu hoang là kết quả của việc gây đột biến gen bằng cách xử lý hạt giống bằng 0,001 M dung dịch natri azit trong nước ở độ pH=3. Cũng được đề xuất là các bộ phận của cây lúa và hạt giống của cây lúa thu được từ cây lúa được mô tả ở đây.

Cây trồng theo sáng chế có thể là cây chuyển gen hoặc không chuyển gen. Theo một phương án, cây trồng theo sáng chế là cây không chuyển gen. Các ví dụ về cây lúa không chuyển gen có khả năng chịu được chất diệt cỏ imidazolinon được tăng cường bao gồm cây lúa có số hiệu lưu giữ NCIMB 41206, NCIMB 41207, hoặc NCIMB 41208; hoặc thể đột biến, thể tái tổ hợp, hoặc dẫn xuất được tạo ra bằng kỹ thuật di truyền của cây trồng có số hiệu lưu giữ NCIMB 41206, NCIMB 41207, hoặc NCIMB 41208; hoặc thể hệ con bất kỳ của cây trồng có số hiệu lưu giữ NCIMB 41206, NCIMB 41207, hoặc NCIMB 41208; hoặc cây trồng mà là thể hệ con của cây trồng bất kỳ trong số các cây trồng này.

Ngoài các chế phẩm theo sáng chế, sáng chế cũng đề xuất một số phương pháp bao gồm các phương pháp nhằm cải biến khả năng chịu được chất diệt cỏ imidazolinon ở cây lúa bao gồm việc cải biến sự biểu hiện của axit nucleic AHAS ở cây trồng. Cũng được đề cập đến ở đây là các phương pháp tạo ra cây trồng chuyển gen có khả năng chịu được chất diệt cỏ imidazolinon được tăng cường bao gồm việc

biến nạp vào tế bào của cây trồng bằng vector biểu hiện chứa một hoặc nhiều axit nucleic AHAS được biến đổi mã hóa protein AHAS được biến đổi bao gồm sự thế alanin thành threonin so với protein AHAS kiểu hoang và tạo ra cây trồng từ tế bào của cây trồng. Sáng chế cũng đề cập đến phương pháp trồng lúa trong khi phòng trừ cỏ dại ở vùng trồng lúa này, bao gồm việc áp dụng chất diệt cỏ imidazolinon lên cỏ dại và lên cây lúa này, trong đó cây lúa này có khả năng chịu được chất diệt cỏ imidazolinon được tăng cường so với cây lúa này kiểu hoang và trong đó cây lúa này chứa một hoặc nhiều axit nucleic AHAS mã hóa protein AHAS được biến đổi chứa sự thế alanin thành threonin so với protein AHAS kiểu hoang.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig. 1A-B thể hiện trình tự ADN bổ trợ một phần của axit nucleic IMINTA 1 AHAS (SEQ ID NO:1) và trình tự axit amin được suy diễn của nó (SEQ ID NO: 2). Fig. 1C-D thể hiện trình tự ADN bổ trợ một phần của axit nucleic IMINTA 4 AHAS (SEQ ID NO:3) và trình tự axit amin được suy diễn của nó (SEQ ID NO: 4). Fig. 1E-F thể hiện trình tự ADN bổ trợ một phần của axit nucleic IMINTA 5 AHAS (SEQ ID NO: 5) và trình tự axit amin được suy diễn của nó (SEQ ID NO: 6). Fig. 1G-H thể hiện trình tự ADN bổ trợ một phần của axit nucleic kiểu hoang IRGA 417 AHAS (SEQ ID NO:7) và trình tự axit amin được suy diễn của nó (SEQ ID NO: 8).

Fig. 2 thể hiện sự so sánh trình tự ADN bổ trợ của gen AHAS được khuếch đại từ ADN hệ gen từ dòng IMINTA 1 có khả năng chịu được imidazolinon (SEQ ID NO:1), gen AHAS được khuếch đại từ ADN hệ gen từ dòng IMINTA 4 có khả năng chịu được imidazolinon (SEQ ID NO:3), gen AHAS được khuếch đại từ ADN hệ gen từ dòng IMINTA 5 có khả năng chịu được imidazolinon (SEQ ID NO:5), gen AHAS được khuếch đại từ ADN hệ gen từ dòng lúa kiểu hoang IRGA 417 (SEQ ID NO:7), và trình tự liên ứng của gen AHAS ở cây lúa (SEQ ID NO:9). Hiện tượng đa hình ở nucleotit tạo ra khả năng chịu được imidazolinon cho các dòng IMINTA 1, 4, và 5 được in đậm.

Fig. 3 thể hiện sự so sánh axit amin của trình tự axit amin được suy diễn của protein được mã hóa bởi gen AHAS từ dòng IMINTA 1 có khả năng chịu được imidazolinon (SEQ ID NO:2), trình tự axit amin được suy diễn của protein được mã hóa bởi gen AHAS từ dòng IMTNTA 4 có khả năng chịu được imidazolinon (SEQ ID NO: 4), trình tự axit amin được suy diễn của protein được mã hóa bởi gen AHAS từ dòng IMINTA 5 có khả năng chịu được imidazolinon (SEQ ID NO:6), trình tự axit amin được suy diễn của protein được mã hóa bởi gen AHAS từ dòng lúa kiều hoang IRGA 417 (SEQ ID NO: 8), và trình tự liên ứng của axit amin AHAS ở cây lúa (SEQ ID NO: 10).

Hiện tượng đa hình tạo ra khả năng chịu được imidazolinon cho các dòng IMINTA 1, 4, và 5 được in đậm.

Fig. 4A thể hiện ví dụ về trình tự ADN bổ trợ có độ dài hoàn chỉnh của axit nucleic AHAS được biến đổi (SEQ ID NO: 11) và Fig. 4B thể hiện ví dụ về trình tự axit amin được suy diễn của protein được mã hóa bởi gen AHAS được nêu trên Fig. 4A (SEQ ID NO: 12), trong đó polypeptit tạo ra khả năng chịu được imidazolinon so với polypeptit AHAS kiều hoang.

Fig. 5 là bảng thể hiện kiểu khối ngẫu nhiên cho thử nghiệm trên cánh đồng của dòng IMINTA 1 và giống IRGA 417.

Fig. 6 là bảng thể hiện phản ứng của các dòng IRGA 417 và IMINTA 1 đối với việc xử lý bằng imidazolinon.

Fig. 7 là bảng thể hiện sản lượng hạt ở độ ẩm 14% đối với các dòng IRGA 417 và IMINTA 1 sau khi xử lý bằng imidazolinon.

Fig. 8 là bảng thể hiện sự đánh giá sản lượng của các thành phần ở các dòng IRGA 417 và IMINTA 1 sau khi xử lý bằng imidazolinon.

Mô tả chi tiết sáng chế

Sáng chế đề cập đến cây lúa, các bộ phận của cây lúa và các tế bào của cây lúa có khả năng chịu được chất diệt cỏ imidazolinon được tăng cường. Sáng chế cũng đề cập đến hạt giống của cây lúa được mô tả ở đây và các phương pháp trồng lúa trong khi phòng trừ cỏ dại ở vùng trồng lúa nói trên. Cần phải hiểu rằng như được sử dụng trong bản mô tả và yêu cầu bảo hộ, "a" hoặc "an" có thể có nghĩa là một hoặc nhiều hơn, tùy thuộc vào ngữ cảnh nó được sử dụng. Do đó, ví dụ, tham chiếu đến "một tế bào" có thể có nghĩa là ít nhất một tế bào có thể được sử dụng.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "cây lúa" để chỉ cây trồng là thành viên thuộc giống *Oryza*. Cây lúa theo sáng chế có thể là thành viên thuộc giống *Oryza* bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, *O.alta*, *O.australiensis*, *O.barthi*, *O.brachyantha*, *O.eichingeri*, *O.glaberrima*, *O.glumaepatula*, *O.grandiglumis*, *O.granulata*, *O.latifolia*, *O.ionigiumis*, *O.longistaminata*, *O.meridionalis*, *O.meyeriana*, *O.minuta*, *O.nivara*, *O. officinalis*, *O.punctata*, *O.rhizomatis*, *O.ridleyi*, *O.rufipogon*, *O.sativa*, và *O.schlechteri* và các thể lai của chúng. Các ví dụ về loài phụ *O.sativa* được bao gồm trong sáng chế là Japonica, và Indica. Cây trồng không giới hạn thuộc Japonica là Nipponbare, và ví dụ không giới hạn của Indica là cây trồng 93-11.

Thuật ngữ "cây lúa" được dùng ở đây để bao gồm cây lúa ở bất kỳ giai đoạn nào của sự trưởng thành hoặc phát triển, cũng như mô hoặc cơ quan bất kỳ (bộ phận của cây trồng) được lấy hoặc có nguồn gốc từ cây trồng bất kỳ trừ khi có quy định rõ ràng khác. Các bộ phận của cây trồng bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, thân, rễ, hoa, nõn, nhị hoa, lá cây, phôi, các vùng mô phân sinh, tế bào thể sần, cấy bao phấn, thể giao tử, phấn hoa, tiểu bào tử, thể nguyên sinh, và tương tự. Sáng chế cũng bao gồm cả hạt giống được tạo ra từ cây lúa theo sáng chế. Theo một phương án, các hạt giống là giống chuẩn đối với khả năng chịu được chất diệt cỏ imidazolinon được tăng cường so với giống kiểu hoang của hạt giống lúa.

Sáng chế đề cập đến cây lúa chứa ít nhất một axit nucleic AHAS được biến đổi không tái tổ hợp ở lúa, trong đó cây lúa có khả năng chịu được chất diệt cỏ

imidazolinon được tăng cường so với giống lúa kiểu hoang. Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "locus gen AHAS" để chỉ vị trí của gen AHAS trên hệ gen, và thuật ngữ "gen AHAS" và "axit nucleic AHAS" để chỉ axit nucleic mã hóa enzym AHAS.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "axit nucleic AHAS được biến đổi" để chỉ axit nucleic AHAS có trình tự được biến đổi từ axit nucleic AHAS kiểu hoang và tạo ra khả năng chịu được imidazolinon được tăng cường ở cây trồng mà nó được biểu hiện. Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "alen AHAS được biến đổi" để chỉ bản sao đơn của axit nucleic AHAS cụ thể.

Do đó, sáng chế đề cập đến cây lúa chứa axit nucleic AHAS được biến đổi không tái tổ hợp ở lúa, trong đó cây lúa có khả năng chịu được chất diệt cỏ imidazolinon được tăng cường so với giống cây kiểu hoang và trong đó axit nucleic AHAS được biến đổi mã hóa protein AHAS được biến đổi chứa sự đột biến alanin thành threonin so với protein AHAS kiểu hoang. Sự đột biến alanin thành threonin tương ứng với vị trí 96 của trình tự axit amin AHAS được nêu trong SEQ ID NO: 12. Axit nucleic AHAS được biến đổi được chọn từ nhóm bao gồm trình tự polynucleotit được nêu trong SEQ ID NO:1; trình tự polynucleotit được nêu trong SEQ ID NO:3; trình tự polynucleotit được nêu trong SEQ ID NO:5; trình tự polynucleotit được nêu trong SEQ ID NO:11; polynucleotit mã hóa polypeptit được nêu trong SEQ ID NO:2; polynucleotit mã hóa polypeptit được nêu trong SEQ ID NO:4; polynucleotit mã hóa polypeptit được nêu trong SEQ ID NO:6; và polynucleotit mã hóa polypeptit được nêu trong SEQ ID NO:12.

Sáng chế đề cập đến cây lúa chứa một hoặc nhiều alen AHAS, trong đó cây lúa có khả năng chịu được chất diệt cỏ imidazolinon được tăng cường so với giống lúa kiểu hoang. Alen AHAS chứa trình tự nucleotit được chọn từ nhóm bao gồm trình tự polynucleotit được nêu trong SEQ ID NO:1; trình tự polynucleotit được nêu trong SEQ ID NO:3; trình tự polynucleotit được nêu trong SEQ ID NO:5; trình tự polynucleotit được nêu trong SEQ ID NO:11; polynucleotit mã hóa polypeptit được

nêu trong SEQ ID NO:2; polynucleotit mã hóa polypeptit được nêu trong SEQ ID NO:4; polynucleotit mã hóa polypeptit được nêu trong SEQ ID NO:6; polynucleotit mã hóa polypeptit được nêu trong SEQ ID NO:12, polypeptit bao gồm ít nhất 60 nucleotit liên tiếp của polynucleotit bất kỳ trong số các polynucleotit nêu trên; và polynucleotit bổ trợ với polynucleotit bất kỳ trong số các polynucleotit nêu trên.

Theo một phương án, cây lúa chứa hai axit nucleic AHAS được biến đổi khác nhau. Theo một phương án khác, cây lúa chứa một axit nucleic AHAS được biến đổi, trong đó axit nucleic này chứa trình tự polynucleotit nêu trong SEQ ID NO:1; SEQ ID NO:3; hoặc SEQ ID NO:5. Tốt hơn là, ít nhất một trong số các axit nucleic AHAS được biến đổi chứa trình tự polynucleotit được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO:1; SEQ ID NO:3; và SEQ ID NO:5.

Chất diệt cỏ imidazolinon có thể được chọn từ, nhưng không chỉ giới hạn ở, PURSUIT® (imazethapyr), CADRE® (imazapic), RAPTOR® (imazamox), SCEPTER® (imazaquin), ASSERT® (imazethabenz), ARSENAL® (imazapyr), dẫn xuất của chất diệt cỏ bất kỳ trong số các chất diệt cỏ nêu trên, hoặc hỗn hợp của hai hoặc nhiều chất diệt cỏ nêu trên, ví dụ, imazapyr/imazamox (ODYSSEY®). Cụ thể hơn, chất diệt cỏ imidazolin có thể được chọn từ, nhưng không chỉ giới hạn ở, axit 2-(4-isopropyl-4-metyl-5-oxo-2-imidiazolin-2-yl)-nicotinic, axit 2-(4-isopropyl)-4-metyl-5-oxo-2-imidazolin-2-yl)-3-quinolincarboxylic, axit 5-etyl-2-(4-isopropyl-4-metyl-5-oxo-2-imidazolin-2-yl)-nicotinic, axit 2-(4-isopropyl-4-metyl-5-oxo-2-imidazolin-2-yl)-5-(metoxymetyl)-nicotinic, axit 2-(4-isopropyl-4-metyl-5-oxo-2-imidazolin-2-yl)-5-metyl nicotinic, và hỗn hợp của metyl 6-(4-isopropyl-4-metyl-5-oxo-2-imidazolin-2-yl)-m-toluat và metyl 2-(4-isopropyl-4-metyl-5-oxo-2-imidazolin-2-yl)-p-toluat ưu tiên sử dụng axit 5-etyl-2-(4-isopropyl-4-metyl-5-oxo-2-imidazolin-2-yl)-nicotinic và axit 2-(4-isopropyl-4-metyl-5-oxo-2-imidazolin-2-yl)-5-(metoxymetyl)-nicotinic. Đặc biệt ưu tiên sử dụng axit 2-(4-isopropyl-4-metyl-5-oxo-2-imidazolin-2-yl)-5-(metoxymetyl)-nicotinic.

Cây lúa được mô tả ở đây có thể hoặc là cây lúa chuyển gen hoặc cây lúa không chuyển gen. Như được mô tả ở đây, thuật ngữ "chuyển gen" để chỉ cây trồng, tế bào của cây trồng, thể sản, mô của cây trồng, hoặc bộ phận của cây trồng bất kỳ, chứa tất cả hoặc một phần của ít nhất một polynucleotit tái tổ hợp. Trong nhiều trường hợp, tất cả hoặc một phần của polynucleotit tái tổ hợp được hợp nhất ổn định trong một nhiễm sắc thể hoặc thành phần ngoài nhiễm sắc thể ổn định, do đó nó được truyền sang thế hệ tiếp theo. Với mục đích của sáng chế, thuật ngữ "polynucleotit tái tổ hợp" để chỉ đến polynucleotit đã được biến đổi, sắp xếp lại hoặc được cải biến bằng kỹ thuật di truyền. Các ví dụ bao gồm polynucleotit được tách dòng bất kỳ, hoặc các polynucleotit, được liên kết hoặc được gắn với các trình tự khác loại. Thuật ngữ "thể tái tổ hợp" không để chỉ đến sự biến đổi của polynucleotit do các hiện tượng xảy ra trong tự nhiên gây ra, như là sự đột biến tự phát, hoặc do sự phát sinh đột biến không tự phát sau khi lai giống có lựa chọn. Các cây trồng có đột biến nảy sinh do sự phát sinh đột biến không tự phát và lai giống có lựa chọn được đề cập ở đây là cây trồng không chuyển gen và được bao gồm trong sáng chế.

Ví dụ về dòng lúa không chuyển gen chứa một axit nucleic AHAS được biến đổi là dòng lúa được lưu giữ có số hiệu lưu giữ NCIMB 41206, được chỉ định ở đây là dòng lúa AHAS IMINTA 1. Trình tự nucleotit một phần tương ứng với gen IMINTA 1 AHAS được nêu trong SEQ ID NO:1.

Một ví dụ khác về dòng cây lúa không chuyển gen chứa một axit nucleic AHAS là dòng lúa được lưu giữ có số hiệu lưu giữ NCIMB 41207, được chỉ định ở đây là dòng lúa AHAS IMINTA 4. Trình tự nucleotit một phần tương ứng với gen IMINTA 4 AHAS được nêu trong SEQ ID NO:3.

Một ví dụ khác về dòng lúa không chuyển gen chứa một axit nucleic AHAS là dòng lúa được lưu giữ có số hiệu lưu giữ NCIMB 41208, được chỉ định ở đây là dòng lúa AHAS IMINTA 5. Trình tự nucleotit một phần tương ứng với gen IMINTA 5 AHAS được nêu trong SEQ ID NO:5.

Các mẫu lưu giữ riêng biệt bao gồm khoảng 2500 hạt giống của mỗi dòng lúa mỹ chịu được imidazolinon tại NCIMB, Aberdeen, Scotland, UK ngày 22/12/2003. Các mẫu lưu giữ này được tuân thủ theo các điều khoản của Hiệp ước Budapest liên quan đến việc lưu giữ các chủng vi sinh vật. Việc lưu giữ này được thực hiện trong thời hạn ít nhất 30 năm và ít nhất 5 năm sau yêu cầu gần nhất cung cấp các mẫu lưu giữ do NCIMB tiếp nhận. Các hạt giống được lưu giữ với số hiệu lưu giữ NCIMB 41206, NCIMB 41207, và NCIMB 41208.

Sáng chế đề cập đến cây lúa có số hiệu lưu giữ NCIMB 41206, NCIMB 41207, hoặc NCIMB 41208; thể đột biến, thể tái tổ hợp, hoặc dẫn xuất được tạo ra bằng kỹ thuật di truyền của cây lúa có số hiệu lưu giữ NCIMB 41206, NCIMB 41207, hoặc NCIMB 41208; thể hệ con bất kỳ của cây lúa có số hiệu lưu giữ NCIMB 41206, NCIMB 41207, hoặc NCIMB 41208; và cây lúa mà là thể hệ con của cây lúa bất kỳ trong số các cây lúa này. Theo một phương án được ưu tiên, cây lúa theo sáng chế còn có đặc tính chịu được chất diệt cỏ của cây lúa có số hiệu lưu giữ NCIMB 41206, NCIMB 41207, và NCIMB 41208.

Cũng nằm trong phạm vi của sáng chế là các thể lai của các dòng lúa IMINTA 1, 4, và 5 được mô tả ở đây và các thể lai của IMINTA 1, 4, và 5 với cây lúa khác.

Thuật ngữ "cây trồng" và "giống" được dùng để chỉ nhóm cây trồng trong một loài được xác định có chung một tập hợp đặc tính hoặc tính trạng được chấp nhận bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này đủ để phân biệt một cây trồng hoặc giống này với cây trồng hoặc giống khác. Không nhằm ngụ ý trong thuật ngữ này rằng mọi thực vật thuộc cây trồng hoặc giống bất kỳ sẽ giống hệt nhau về mặt di truyền ở mức toàn hệ gen hoặc ở mức phân tử hoặc rằng cây trồng bất kỳ sẽ đồng hợp tử ở mọi locus. Cây trồng hoặc giống được coi là "giống chuẩn" đối với một tính trạng cụ thể nếu khi cây trồng giống chuẩn hoặc giống tự thụ phấn, tất cả các thể hệ con của chúng sẽ mang tính trạng này. Thuật ngữ "dòng tạo giống" hoặc "dòng" được dùng để chỉ nhóm thực vật trong một cây trồng được xác định có chung một tập hợp đặc tính

hoặc tính trạng được chấp nhận bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này đủ để phân biệt một dòng tạo giống hoặc dòng với dòng tạo giống hoặc dòng khác. Không nhằm ngụ ý trong thuật ngữ này rằng tất cả cây trồng thuộc dòng tạo giống hoặc dòng bất kỳ sẽ giống hệt nhau về mặt di truyền ở mức toàn hệ gen hoặc ở mức phân tử hoặc rằng cây trồng bất kỳ sẽ đồng hợp tử ở mọi locus. Dòng tạo giống hoặc dòng được coi là "giống chuẩn" đối với một tính trạng cụ thể nếu, khi dòng tạo giống chuẩn hoặc dòng tạo giống là tự thụ phấn, tất cả các thế hệ con sẽ mang tính trạng này. Theo sáng chế, tính trạng gia tăng từ sự đột biến trong gen AHAS của cây lúa hoặc hạt giống.

Cần phải hiểu rằng cây lúa theo sáng chế có thể chứa axit nucleic AHAS kiểu hoang ngoài axit nucleic AHAS được biến đổi. Như được mô tả ở Ví dụ 2, dự định rằng các dòng lúa IMINTA 1, 4, và 5 chứa đột biến chỉ trong một alen AHAS. Do đó, sáng chế bao gồm cây lúa chứa ít nhất một axit nucleic AHAS được biến đổi ngoài một hoặc nhiều axit nucleic AHAS kiểu hoang.

Ngoài cây lúa, protein AHAS và axit nucleic phân lập được, tốt hơn là tạo ra khả năng chịu được chất diệt cỏ imidazolinon được tăng cường so với protein AHAS và axit nucleic kiểu hoang được mô tả tại đây. Axit nucleic AHAS phân lập được có thể mã hóa protein có sự đột biến alanin thành threonin. Sự đột biến alanin thành threonin có thể ở vị trí gốc axit amin tương ứng với vị trí 96 của SEQ ID NO: 12. Axit nucleic phân lập được có thể chứa polynucleotit được chọn từ nhóm bao gồm polynucleotit được nêu trong SEQ ID NO:1; polynucleotit được nêu trong SEQ ID NO: 3; polynucleotit được nêu trong SEQ ID NO:5; polynucleotit như được xác định trong SEQ ID NO:11; polynucleotit mã hóa polypeptit như được xác định trong SEQ ID NO:2; polynucleotit mã hóa polypeptit được nêu trong SEQ ID NO:4; polynucleotit mã hóa polypeptit được nêu trong SEQ ID NO:6; polynucleotit mã hóa polypeptit được nêu trong SEQ ID NO:12; polynucleotit chứa ít nhất 60 nucleotit liên tiếp của polynucleotit bất kỳ trong số các polynucleotit nêu trên; và polynucleotit bổ trợ với polynucleotit bất kỳ trong số các polynucleotit nói trên. Theo một phương án

được ưu tiên, axit nucleic AHAS phân lập được chứa trình tự polynucleotit nêu trong SEQ ID NO:1; SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:5 hoặc SEQ ID NO:11.

Thuật ngữ "protein AHAS" hoặc "polypeptit AHAS" được dùng để chỉ protein axetohydroxyaxit synthaza, và các thuật ngữ "protein AHAS được biến đổi" hoặc "polypeptit AHAS" được biến đổi được dùng để chỉ protein AHAS bất kỳ được đột biến từ protein AHAS kiểu hoang và tạo ra khả năng chịu được imidazolinon được tăng cường ở cây trồng, tế bào của cây trồng, bộ phận của cây trồng, hạt giống của cây trồng, hoặc mô của cây trồng khi nó được biểu hiện trong đó. Theo một phương án được ưu tiên, protein AHAS được biến đổi chứa polypeptit được mã hóa bởi trình tự polynucleotit nêu trong SEQ ID NO:1. Theo một phương án được ưu tiên khác, protein AHAS được biến đổi chứa polypeptit được mã hóa bởi trình tự polynucleotit bao gồm trình tự nêu trong SEQ ID NO:3. Theo một phương án được ưu tiên khác, protein AHAS được biến đổi chứa polypeptit được mã hóa bởi trình tự polynucleotit bao gồm trình tự nêu trong SEQ ID NO:5. Theo một phương án được ưu tiên khác, protein AHAS được biến đổi chứa polypeptit bao gồm trình tự nêu trong SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:4 hoặc SEQ ID NO:6.

Như được sử dụng ở đây, các thuật ngữ "axit nucleic" và "polynucleotit" được dùng để chỉ ARN hoặc ADN mạch thẳng hoặc phân nhánh, có sợi đơn hoặc kép, hoặc một thể lai của chúng. Thuật ngữ này cũng bao gồm thể lai ARN/ADN. Các thuật ngữ này cũng bao gồm trình tự không được dịch mã được đặt ở cả hai đầu 3' và 5' của vùng mã hóa của gen này: ít nhất khoảng 1000 nucleotit của trình tự nằm trước đầu 5' của vùng mã hóa và ít nhất khoảng 200 nucleotit của trình tự nằm sau đầu 3' của vùng mã hóa của gen này. Các bazơ ít thông dụng hơn, như là inosin, 5-metylxytosin, 6-metyladenin, hypoxanthin và các dạng khác cũng có thể được sử dụng cho đối nghĩa, dsARN và tạo cặp ribozym. Ví dụ, các polynucleotit chứa chất tương tự C-5 propyn của uridin và xytidin được cho là dễ liên kết ARN với ái lực cao và là chất ức chế đối nghĩa tiềm năng khi biểu hiện gen. Các cải biến khác, như cải biến đôi với khung phosphodiester, hoặc 2'-hydroxy ở nhóm đường ribosa của ARN cũng có thể được

thực hiện. Polynucleotit đối nghĩa và các ribozym có thể chứa toàn bộ ribonucleotit, hoặc có thể chứa hỗn hợp ribonucleotit và deoxyribonucleotit. Polynucleotit được mô tả ở đây có thể được tạo ra theo cách bất kỳ, bao gồm điều chế trong hệ gen, điều chế ADN bổ trợ, tổng hợp in vitro, RT-PCR và sao chép in vitro hoặc in vivo.

Phân tử axit nucleic "phân lập được" là phân tử mà hầu như được tách riêng hoàn toàn khỏi các phân tử axit nucleic khác, có mặt trong nguồn tự nhiên của axit nucleic này (tức là, các trình tự mã hóa các polypeptit khác). Tốt hơn là, axit nucleic "phân lập được" không có một số trình tự nằm sát một cách tự nhiên với axit nucleic này (tức là, các trình tự được đặt ở các đầu 5' và 3' của axit nucleic) trong đơn vị sao chép xảy ra tự nhiên. Ví dụ, một axit nucleic được tách dòng được coi là phân lập được. Phân tử axit nucleic AHAS phân lập được có thể chứa ít hơn khoảng 5kb, 4kb, 3kb, 2kb, 1kb, 0,5kb hoặc 0,1kb trình tự nucleotit nằm sát một cách tự nhiên với phân tử axit nucleic trong ADN hệ gen của tế bào mà từ đó axit nucleic được tạo dẫn xuất (ví dụ, tế bào *O.sativa*). Một axit nucleic cũng được coi là phân lập được nếu nó đã được biến đổi do sự can thiệp của con người, hoặc đặt trong một locus hoặc vị trí không phải là vị trí tự nhiên của nó, hoặc nếu nó được đưa vào tế bào bằng phương pháp sử dụng t-ADN của virus gây nhiễm cho cây, súng bắn gen biolistics (phương pháp đưa ADN vào tế bào), hoặc phương pháp bất kỳ khác để biến nạp cây trồng. Hơn nữa, phân tử axit nucleic "phân lập được", như là phân tử ADN bổ trợ, có thể giải phóng từ một số vật liệu tế bào khác mà có liên quan đến tự nhiên, hoặc môi trường nuôi cấy ghép khi được tạo ra bằng kỹ thuật tái tổ hợp, hoặc tiền chất hóa học hoặc các chất hóa học khác khi được tổng hợp hóa học.

Đặc biệt không được bao gồm trong định nghĩa "axit nucleic phân lập được" là: các nhiễm sắc thể có nguồn gốc tự nhiên (như các sợi nhiễm sắc thể), thư viện nhiễm sắc thể nhân tạo, thư viện hệ gen, và thư viện ADN bổ trợ mà tồn tại ở dạng chế phẩm axit nucleic in vitro hoặc ở dạng chế phẩm tế bào chủ được chuyển nhiễm/được biến nạp, trong đó tế bào chủ là chế phẩm không đồng nhất in vitro hoặc được dàn mỏng ở dạng quần thể không đồng nhất bao gồm các khuẩn lạc đơn. Cũng đặc biệt không bao

gồm trong định nghĩa này là các thư viện nêu trên, trong đó axit nucleic đặc hiệu chiếm ít hơn 5% số axit nucleic xen vào trong các phân tử vectơ. Hơn nữa, đặc biệt không bao gồm trong định nghĩa này là ADN hệ gen của toàn bộ tế bào hoặc chế phẩm ARN của toàn bộ tế bào (bao gồm chế phẩm của toàn bộ tế bào được dịch chuyển cơ học hoặc phân giải bằng enzym). Hơn nữa, đặc biệt không bao gồm trong định nghĩa này là các chế phẩm của toàn bộ tế bào được phát hiện ở dạng chế phẩm in vitro hoặc ở dạng hỗn hợp không đồng nhất phân lập được bằng cách điện di, trong đó axit nucleic theo sáng chế không được tách riêng từ các axit nucleic không đồng nhất trong môi trường điện di (ví dụ, tách riêng hơn nữa bằng cách cắt bỏ một sợi đơn từ quần thể sợi không đồng nhất trong gel agaroza hoặc thẩm tách bằng ni-lông).

Phân tử axit nucleic chứa trình tự nucleotit nêu trong SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:5, SEQ ID NO: 11 hoặc một phần của chúng, có thể được phân lập bằng cách sử dụng kỹ thuật sinh học phân tử tiêu chuẩn và thông tin trình tự được đề cập ở đây. Ví dụ, ADN bổ trợ AHAS của *O.sativa* có thể phân lập được từ thư viện *O.sativa* sử dụng tất cả hoặc một phần trình tự SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:5 hoặc SEQ ID NO:11. Hơn nữa, phân tử axit nucleic chứa tất cả hoặc một phần của SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:5 hoặc SEQ ID NO:11 có thể phân lập được bằng phản ứng chuỗi polymeraza sử dụng đoạn mồi oligonucleotit được thiết kế dựa trên trình tự này. Ví dụ, ARN thông tin có thể phân lập được từ các tế bào của cây trồng (ví dụ, bằng quy trình chiết guanidini-thioxyanat của Chirgwin và các đồng tác giả., 1979, Biochemistry 18: 5294-5299), và ADN bổ trợ có thể được điều chế bằng cách sử dụng enzym transcriptaza đảo ngược (ví dụ, enzym transcriptaza đảo ngược Moloney MLV, do Gibco/BRL, Bethesda, MD cung cấp; hoặc enzym transcriptaza đảo ngược AMV, do Seikagaku America, Inc., St. Petersburg, FL cung cấp). Các đoạn mồi oligonucleotit tổng hợp cho sự khuếch đại bằng phản ứng chuỗi polymeraza có thể được thiết kế dựa trên trình tự nucleotit được thể hiện trong SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:5 hoặc SEQ ID NO:11. Phân tử axit nucleic theo sáng chế có thể được khuếch đại bằng cách sử dụng ADN bổ trợ hoặc, theo cách khác, ADN hệ

gen, ở dạng khuôn mẫu và các đoạn môi oligonucleotit thích hợp theo kỹ thuật khuếch đại PCR tiêu chuẩn. Phân tử axit nucleic được khuếch đại như vậy có thể được tách dòng thành một vectơ thích hợp và được mô tả đặc tính bằng cách phân tích trình tự ADN. Hơn nữa, các oligonucleotit tương ứng với trình tự nucleotit AHAS có thể được điều chế bằng kỹ thuật tổng hợp tiêu chuẩn, ví dụ, sử dụng thiết bị tổng hợp ADN tự động.

Các axit nucleic AHAS được mô tả ở đây có thể chứa các trình tự mã hóa protein AHAS (tức là, "vùng mã hóa"), cũng như các trình tự không được dịch mã ở đầu 5' và các trình tự không được dịch mã ở đầu 3'. Nói cách khác, các phân tử axit nucleic theo sáng chế có thể chỉ chứa các vùng mã hóa của gen AHAS, hoặc có thể chứa toàn bộ các đoạn của hệ gen phân lập được từ ADN của hệ gen. Vùng mã hóa của các trình tự này được chỉ định là "vị trí ORF". Hơn nữa, phân tử axit nucleic theo sáng chế có thể chứa phần vùng mã hóa của gen AHAS, ví dụ, một đoạn có thể được sử dụng làm đoạn dò hoặc đoạn môi. Các trình tự nucleotit được xác định từ việc tách dòng gen AHAS từ *O.sativa* cho phép tạo ra các đoạn dò và đoạn môi được thiết kế để sử dụng trong việc xác định và/hoặc tách dòng thể tương đồng AHAS trong các loại tế bào và sinh vật khác, cũng như các thể tương đồng AHAS từ các cây lúa khác và các loài liên quan. Phần của vùng mã hóa cũng có thể mã hóa đoạn hoạt tính sinh học của protein AHAS.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "phần có hoạt tính sinh học của" protein AHAS nhằm bao gồm một phần, ví dụ, vùng/phần, của protein AHAS mà, khi được tạo ra ở cây trồng làm tăng khả năng chịu được chất diệt cỏ imidazolinon của cây trồng so với giống cây trồng kiểu hoang. Phương pháp dùng để đánh giá khả năng chịu được chất diệt cỏ imidazolinon được tăng cường được nêu trong các ví dụ dưới đây. Các phần có hoạt tính sinh học của protein AHAS bao gồm các peptit dẫn xuất từ trình tự nêu trong SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:4, SEQ ID NO: 6, hoặc SEQ ID NO: 12 mà bao gồm ít axit amin hơn protein AHAS có độ dài đầy đủ và truyền khả năng chịu được chất diệt cỏ imidazolin được tăng cường lên sự biểu hiện ở cây trồng. Diễn hình

là, phần có hoạt tính sinh học (ví dụ, các peptit, ví dụ, 5, 10, 15, 20, 30, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 50, 100, hoặc nhiều axit amin về độ dài) chứa vùng/phần với ít nhất một hoạt tính của protein AHAS. Hơn nữa, các phần có hoạt tính sinh học khác trong đó các vùng khác của polypeptit bị loại bỏ, có thể được điều chế bằng kỹ thuật tái tổ hợp và được đánh giá cho một hoặc nhiều hoạt tính được mô tả ở đây. Tốt hơn là, các phần có hoạt tính sinh học của protein AHAS bao gồm một hoặc nhiều vùng được bảo toàn được chọn từ nhóm bao gồm vùng A, vùng B, vùng C, vùng D và vùng E, trong đó vùng được bảo toàn chứa đột biến.

Ngoài ra, các polypeptit khảm hoặc dung hợp AHAS được mô tả ở đây. Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "polypeptit khảm" hoặc "polypeptit dung hợp" AHAS bao gồm polypeptit AHAS được liên kết linh hoạt với polypeptit không phải là AHAS. Thuật ngữ "polypeptit không phải là AHAS" đề cập đến polypeptit có trình tự axit amin hầu như không giống với polypeptit AHAS, ví dụ, polypeptit không phải là isoenzym AHAS, có peptit thực hiện chức năng khác so với polypeptit AHAS. Như được sử dụng ở đây liên quan đến polypeptit dung hợp, thuật ngữ "liên kết linh hoạt" được dùng để chỉ rằng polypeptit AHAS và polypeptit không phải là AHAS được dung hợp với nhau, sao cho cả hai trình tự thực hiện chức năng được đề xuất dành cho trình tự được sử dụng. Polypeptit không phải là AHAS có thể được dung hợp với đầu tận cùng N hoặc đầu tận cùng C của polypeptit AHAS. Ví dụ, theo một phương án, polypeptit dung hợp là polypeptit dung hợp GST-AHAS, trong đó trình tự AHAS được dung hợp với đầu tận cùng C của trình tự GST. Các polypeptit dung hợp này có thể hỗ trợ cho việc tinh chế polypeptit AHAS tái tổ hợp. Theo một phương án khác, polypeptit dung hợp là polypeptit AHAS chứa trình tự tín hiệu khác loại ở vị trí đầu tận cùng N. Trong các tế bào chủ nhất định (ví dụ, tế bào chủ ở động vật có vú), sự biểu hiện và/hoặc sự bài tiết của polypeptit AHAS có thể được tăng cường thông qua việc sử dụng trình tự tín hiệu khác loại.

Phân tử axit nucleic phân lập được mã hóa polypeptit AHAS có độ đồng nhất về trình tự tính theo phần trăm nhất định với polypeptit có trình tự nêu trong SEQ ID

NO:2, SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:6, hoặc SEQ ID NO: 12 có thể được tạo ra bằng cách áp dụng Sự thay thế, bổ sung, hoặc loại bỏ một hoặc nhiều nucleotit vào trình tự nucleotit nêu trong SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:5, hoặc SEQ ID NO:11, sao cho sự thay thế, bổ sung, hoặc loại bỏ một hoặc nhiều axit amin được áp dụng vào polypeptit được mã hóa. Sự đột biến có thể áp dụng vào trình tự của SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:5, hoặc SEQ ID NO: 11 bằng các kỹ thuật tiêu chuẩn, như sự phát sinh đột biến trực tiếp vị trí và sự phát sinh đột biến do PCR gây ra. Tốt hơn là, sự thay thế axit amin bảo toàn được thực hiện ở một hoặc nhiều gốc axit amin không thiết yếu được dự đoán trước.

"Sự thay thế axit amin bảo toàn" là sự thay thế trong đó gốc axit amin được thay thế bằng gốc axit amin có mạch bên tương tự. Các họ của gốc axit amin có mạch bên tương tự đã được xác định trong lĩnh vực này. Các họ này bao gồm các axit amin với các mạch bên có tính bazơ (ví dụ, lysin, arginin, histidin), các mạch bên có tính axit (ví dụ, axit aspartic, axit glutamic), mạch bên có cực không được tích điện (ví dụ, glyxin, asparagin, glutamin, serin, threonin, tyrosin, cystein), các mạch bên không phân cực (ví dụ, alanin, valin, leuxin, isoleuxin, prolin, phenylalanin, methionin, tryptophan), các mạch bên được phân nhánh beta (ví dụ, threonin, valin, isoleuxin) và các mạch bên thơm (ví dụ, tyrosin, phenylalanin, tryptophan, histidin). Do đó, gốc axit amin không thiết yếu được dự đoán trước trong polypeptit AHAS tốt hơn là được thay thế bằng gốc axit amin khác từ họ có mạch bên tương tự. Theo cách khác, theo một phương án khác, sự đột biến có thể được áp dụng ngẫu nhiên cùng với tất cả hoặc một phần của trình tự mã hóa AHAS, như bằng cách phát sinh đột biến bão hòa, và thể đột biến thu được có thể được sàng lọc về hoạt tính AHAS được mô tả ở đây để xác định các thể đột biến có hoạt tính AHAS. Tiếp theo, sự phát sinh đột biến của trình tự nêu trong SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:5 hoặc SEQ ID NO: 11, polypeptit được mã hóa có thể được biểu hiện theo cách tái tổ hợp và hoạt tính của polypeptit có thể được xác định bằng cách phân tích khả năng chịu được imidazolinon của cây trồng biểu hiện polypeptit như được mô tả trong các ví dụ dưới đây.

Để xác định phần trăm độ đồng nhất về trình tự giữa hai trình tự axit amin, các trình tự được so sánh với mục đích so sánh tối ưu (ví dụ, khoảng trống có thể được đưa vào trong trình tự của một polypeptit để so sánh tối ưu với polypeptit khác). Các gốc axit amin ở các vị trí axit amin tương ứng sau đó được so sánh. Khi vị trí trong một trình tự bị chiếm giữ bởi gốc axit amin tương tự như vị trí tương ứng trong trình tự khác, khi đó các phân tử này là giống hệt nhau ở vị trí đó. Có thể có sự so sánh mức độ tương tự nhau giữa hai trình tự axit nucleic. Phần trăm độ đồng nhất về trình tự giữa hai trình tự là hàm của số vị trí giống nhau giữa hai trình tự (tức là, phần trăm độ đồng nhất về trình tự = số vị trí giống nhau/ tổng số các vị trí X 100). Với mục đích của sáng chế, phần trăm độ đồng nhất về trình tự giữa hai axit nucleic hoặc trình tự polypeptit được xác định sử dụng gói phần mềm VectorsNTI 6.0 (PC) (InforMax, 7600 Wisconsin Ave., Bethesda, MD 20814). Điểm mở khoảng trống là 15 và điểm mở rộng khoảng trống là 6,66 được sử dụng để xác định độ đồng nhất tính theo phần trăm của hai axit nucleic. Điểm mở khoảng trống là 10 và điểm mở rộng khoảng trống là 0,1 được sử dụng để xác định phần trăm độ đồng nhất về trình tự của hai polypeptit. Tất cả các tham số khác được đặt ở dạng mặc định.

Cần phải hiểu rằng với mục đích xác định độ đồng nhất của trình tự, khi so sánh trình tự ADN với trình tự ARN, thymidin nucleotit là tương đương với uraxil nucleotit. Tốt hơn là, các polypeptit AHAS phân lập được ở đây ít nhất là khoảng 50-60%, tốt hơn, ít nhất là khoảng 60-70%, và tốt hơn nữa ít nhất là khoảng 70-75%, 75-80%, 80-85%, 85-90%, hoặc 90-95%, và tốt nhất, ít nhất là khoảng 96%, 97%, 98%, 99%, hoặc đồng nhất hơn nữa với toàn bộ trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:6, hoặc SEQ ID NO: 12.

Ngoài ra, các axit nucleic AHAS được tối ưu hóa có thể được tạo ra. Tốt hơn là, axit nucleic AHAS được tối ưu hóa mã hóa polypeptit AHAS có tác dụng điều biến khả năng chịu được chất diệt cỏ imidazolinon ở cây trồng, và tốt hơn nữa là làm tăng khả năng chịu được chất diệt cỏ imidazolinon của cây trồng khi nó biểu hiện quá mức ở cây trồng. Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "tối ưu hóa" để chỉ axit nucleic

được áp dụng kỹ thuật di truyền để làm tăng sự biểu hiện của nó ở cây trồng hoặc động vật cho trước. Để cung cấp các axit nucleic AHAS được tối ưu hóa ở cây trồng, trình tự ADN của gen có thể được cải biến để 1) bao gồm các codon được ưu tiên bởi các gen ở cây trồng được biểu hiện cao; 2) bao gồm thành phần A+T trong hợp phần bazơ nucleotit sao cho được phát hiện chủ yếu trong cây trồng; 3) tạo ra trình tự khởi đầu của cây trồng, 4) loại bỏ các trình tự gây ra tính mất ổn định, sự bổ sung trình tự poly A không thích hợp, sự thoái hóa và sự xác định ARN, hoặc tạo ra cấu trúc hình cặp tóc bậc hai hoặc các vị trí tách ARN. Sự biểu hiện được tăng cường của axit nucleic AHAS ở cây trồng có thể đạt được bằng cách sử dụng tần suất phân bố của việc sử dụng codon ở cây trồng nói chung hoặc ở một cây trồng cụ thể. Các phương pháp để tối ưu hóa sự biểu hiện của axit nucleic ở cây trồng có thể được phát hiện trong EPA 0359472; EP A 0385962; WO 91/16432; US 5,380, 831; US 5,436,391; Perlack et al., 1991, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88: 3324-3328; và Murray et al., 1989, Nucleic Acids Res. 17: 477-498.

Như được sử dụng ở đây, "tần suất sử dụng codon được ưu tiên" chỉ mức độ ưu tiên được biểu hiện bởi một tế bào chủ cụ thể trong việc sử dụng các codon nucleotit để chỉ rõ một axit amin xác định. Để xác định tần suất sử dụng một codon cụ thể trong một gen, số lần xuất hiện của codon đó trong một gen được chia cho tổng số lần xuất hiện của tất cả các codon chỉ rõ axit amin tương tự trong một gen. Theo cách tương tự, tần suất sử dụng codon được ưu tiên được biểu hiện bởi một tế bào chủ có thể được tính bằng tần suất trung bình của việc sử dụng codon được ưu tiên trong số lượng lớn các gen được biểu hiện bởi tế bào chủ. Tốt hơn là, việc phân tích này bị giới hạn ở các gen được biểu hiện cao bởi tế bào chủ. Phần trăm độ lệch của tần suất sử dụng codon được ưu tiên đối với gen tổng hợp từ đó được sử dụng bởi tế bào chủ được tính toán trước tiên bằng cách xác định phần trăm độ lệch của tần suất sử dụng codon đơn từ việc sử dụng của tế bào chủ sau khi tính được độ lệch trung bình của toàn bộ codon. Như được xác định ở đây, việc tính toán này bao gồm cả các codon độc nhất (tức là, ATG và TGG). Về thuật ngữ chung, độ lệch trung bình toàn bộ khi

sử dụng codon của gen được tối ưu hóa từ việc sử dụng của tế bào chủ được tính bằng cách sử dụng phương trình $1A = n = 1Z X_n - Y_n X_n$ nhân 100Z, trong đó X_n = tần suất sử dụng đối với codon n trong tế bào chủ ; Y_n = tần suất sử dụng đối với codon n trong gen tổng hợp, n thể hiện một codon riêng lẻ chỉ ra một axit amin và toàn bộ số codon là z. Tốt hơn là, độ lệch toàn bộ của tần suất sử dụng codon, A, đối với toàn bộ axit amin nên ít hơn khoảng 25%, và tốt hơn nữa là ít hơn khoảng 10%.

Do đó, axit nucleic AHAS có thể được tối ưu hóa sao cho tần suất phân bố của việc sử dụng codon lệch, tốt hơn là, không nhiều hơn 25% so với tần suất của các gen của cây trồng biểu hiện cao và, tốt hơn nữa là, không nhiều hơn khoảng 10%. Ngoài ra, cần xem xét đến tỉ lệ phần trăm thành phần G+C của bazơ thứ ba bị thoái hóa (các cây một lá mầm dường như ưu tiên G+C ở vị trí này, trong đó cây hai lá mầm không có). Tác giả cũng nhận ra rằng nucleotit XCG (trong đó X là A, T, C, hoặc G) là codon được ưu tiên ít nhất trong các cây hai lá mầm, trong đó codon XTA được hủy cả ở cây một lá mầm và cây hai lá mầm. Tốt hơn là, các axit nucleic AHAS được tối ưu theo sáng chế cũng có các chỉ số hủy cặp đôi CG và TA gần xấp xỉ với chỉ số của cây trồng chủ được lựa chọn (tức là, *Oryza sativa*). Tốt hơn nữa là, những chỉ số này lệch so với chỉ số của vật chủ không nhiều hơn khoảng 10-15%.

Ngoài các phân tử axit nucleic mã hóa polypeptit AHAS được mô tả ở trên, phân tử axit nucleic phân lập được mà là đối nghĩa được mô tả ở đây. Các polynucleotit đối nghĩa được cho là ức chế sự biểu hiện gen của polynucleotit đích bằng cách gắn kết đặc hiệu polynucleotit đích và gây nhiễu quá trình sao chép, tách intron, vận chuyển, dịch mã và/hoặc độ ổn định của polynucleotit đích. Các phương pháp được mô tả trong lĩnh vực kỹ thuật này để hướng polynucleotit đối nghĩa vào ADN nhiễm sắc thể, vào bản sao ARN sơ cấp hoặc vào ARN thông tin đã được xử lý. Tốt hơn là, các vùng đích bao gồm các vị trí tách intron, các codon khởi đầu dịch mã, các codon kết thúc dịch mã, và các trình tự khác trong khung đọc mở.

Thuật ngữ "đối nghĩa", với các mục đích của sáng chế, để chỉ axit nucleic bao gồm polynucleotit bổ trợ đầy đủ với tất cả hoặc một phần của gen, sản phẩm phiên mã sơ cấp, hoặc ARN thông tin được xử lý, sao cho gây nhiễu sự biểu hiện của gen nội sinh. Các polynucleotit "bổ trợ" là các polynucleotit có khả năng ghép cặp bazơ theo quy tắc bổ trợ tiêu chuẩn Watson-Crick. Cụ thể là, purin sẽ ghép cặp bazơ với pyrimidin để tạo thành sự kết hợp của guanin được ghép với xytosin (G:C) và adenin được ghép cặp với hoặc thymine (A:T) trong trường hợp của ADN, hoặc adenin được ghép cặp với uraxil (A:U) trong trường hợp của ARN. Cần phải hiểu rằng hai polynucleotit có thể lai với nhau thậm chí nếu chúng không hoàn toàn bổ trợ với nhau, miễn là mỗi polynucleotit có ít nhất một vùng hầu như bổ trợ với nhau. Thuật ngữ "axit nucleic đối nghĩa" bao gồm ARN sợi đơn cũng như catxet biểu hiện ADN sợi kép có thể được sao chép để tạo ra ARN đối nghĩa. Axit nucleic đối nghĩa "hoạt tính" là phân tử ARN đối nghĩa có khả năng lai một cách chọn lọc với sản phẩm phiên mã sơ cấp hoặc ARN thông tin mã hóa polypeptit có ít nhất 80% độ đồng nhất trình tự với trình tự polypeptit nêu trong SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:6, hoặc SEQ ID NO: 12.

Ngoài các axit nucleic AHAS và polypeptit được mô tả ở trên, các axit nucleic và polypeptit này được gắn vào gốc phân tử cũng được mô tả ở đây. Những gốc phân tử này bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, gốc phân tử phát hiện, gốc phân tử lai, gốc phân tử tinh chế, gốc phân tử vận chuyển, gốc phân tử phản ứng, gốc phân tử liên kết, và tương tự. Một nhóm đặc trưng của các axit nucleic có gốc phân tử được gắn với là các đoạn dò và các đoạn môi. Các đoạn dò và đoạn môi về cơ bản bao gồm oligonucleotit hầu như phân lập được. Oligonucleotit này về cơ bản bao gồm một vùng trình tự nucleotit lai trong điều kiện nghiêm ngặt với ít nhất khoảng 12, tốt hơn là khoảng 25, tốt hơn nữa là khoảng 40, 50, hoặc 75 nucleotit liên tiếp của sợi có nghĩa của trình tự nêu trên trong SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:5, hoặc SEQ ID NO: 11, trình tự đối nghĩa nêu trong SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:5, hoặc SEQ ID NO:11, hoặc các thể đột biến có trong tự nhiên của chúng. Các

đoạn mồi dựa trên trình tự nucleotit nêu trong SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:5, hoặc SEQ ID NO:11 có thể được sử dụng trong phản ứng PCR để tách dòng thể tương đồng AHAS. Các đoạn dò dựa trên trình tự nucleotit AHAS có thể được sử dụng để phát hiện sản phẩm phiên mã hoặc trình tự hệ gen mã hóa các polypeptit giống nhau hoặc tương đồng. Theo các phương án được ưu tiên, các đoạn dò còn chứa nhóm đánh dấu được gắn vào đó, ví dụ, nhóm đánh dấu có thể là chất đồng vị phóng xạ, hợp chất huỳnh quang, enzym, hoặc đồng nhân tố enzym. Các đoạn dò này có thể được sử dụng là một phần của kit thử nghiệm đánh dấu hệ gen dùng để xác định các tế bào biểu hiện polypeptit AHAS, như là bằng cách đo mức axit nucleic mã hóa AHAS trong mẫu chứa các tế bào, ví dụ, phát hiện các mức ARN thông tin của AHAS hoặc xác định liệu gen AHAS của hệ gen đã được đột biến hoặc loại bỏ hay không.

Ngoài ra, vector biểu hiện tái tổ hợp phân lập được chứa axit nucleic AHAS như được mô tả ở trên, trong đó sự biểu hiện của vector ở tế bào chủ dẫn đến khả năng chịu được chất diệt cỏ imidazolinon được tăng cường so với các loại tế bào chủ kiểu hoang được mô tả ở đây. Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "vector" để chỉ phân tử axit nucleic có khả năng vận chuyển axit nucleic khác đến axit nucleic mà nó liên kết với. Một loại vector là "plasmid" để chỉ vòng ADN sợi kép mà các đoạn ADN khác có thể được gắn vào. Một loại vector khác là vector virus, trong đó các đoạn ADN khác có thể được gắn vào hệ gen của virus. Một số vector nhất định có khả năng sao chép tự chủ trong tế bào chủ mà chúng được đưa vào (ví dụ, các vector vi khuẩn có nguồn gốc sao chép vi khuẩn và các vector ở động vật có vú thể bổ sung). Các vector khác (ví dụ, các vector ở động vật có vú không phải là thể bổ sung) được gắn vào hệ gen của tế bào chủ khi đưa vào trong tế bào chủ, và bằng cách đó được sao chép cùng với hệ gen của tế bào chủ. Hơn nữa, một số vector nhất định có khả năng hướng sự biểu hiện của gen vào vector mà chúng liên kết một cách linh hoạt với. Các vector này được đề cập ở đây là "vector biểu hiện." Nói chung, các vector biểu hiện sử dụng trong kỹ thuật ADN tái tổ hợp thường ở dạng plasmid. Trong bản mô tả này, "plasmid" và "vector" có thể được

sử dụng thay thế nhau do plasmid là dạng được sử dụng thông dụng nhất của vector. Tuy nhiên, sáng chế cũng nhằm bao gồm các dạng vector biểu hiện khác, như là vector virus (ví dụ, retrovirus, adenovirus, và virus liên quan đến adeno sao chép không hoàn toàn), có chức năng tương đương nhau.

Các vector biểu hiện tái tổ hợp được mô tả ở đây bao gồm axit nucleic theo sáng chế ở dạng thích hợp để biểu hiện axit nucleic trong tế bào chủ, có nghĩa là các vector biểu hiện tái tổ hợp bao gồm một hoặc nhiều trình tự điều chỉnh, được lựa chọn trên cơ sở tế bào chủ được sử dụng để biểu hiện, được liên kết linh hoạt với trình tự axit nucleic được biểu hiện. Xét về vector biểu hiện tái tổ hợp, "liên kết linh hoạt" được hiểu là trình tự nucleotit cần quan tâm được liên kết với trình tự điều chỉnh theo cách cho phép biểu hiện trình tự nucleotit (ví dụ, trong hệ sao chép/dịch mã in vitro hoặc trong tế bào chủ khi vector được đưa vào trong tế bào chủ). Thuật ngữ "trình tự điều chỉnh" để chỉ bao gồm gen khởi đầu, gen tăng cường, và các yếu tố điều khiển biểu hiện khác (ví dụ, tín hiệu bổ sung trình tự poly). Các trình tự điều chỉnh này được mô tả, ví dụ, trong Goeddel, *Gene Expression Technology: Methods in Enzymology* 185, Academic Press, San Diego, CA (1990) và Gruber and Crosby, trong: *Methods in Plant Molecular Biology and Biotechnology*, Eds. Glick and Thompson, Chapter 7, 89-108, CRC Press: Boca Raton, Florida, bao gồm cả tài liệu tham khảo trong đó. Các trình tự điều chỉnh bao gồm các trình tự chỉ phối sự biểu hiện cơ định của trình tự nucleotit trong nhiều loại tế bào chủ và các trình tự chỉ phối sự biểu hiện của trình tự nucleotit chỉ trong các tế bào chủ nhất định hoặc trong các điều kiện nhất định. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ đánh giá cao rằng việc thiết kế vector biểu hiện có thể tùy thuộc vào các yếu tố như là sự lựa chọn tế bào chủ được biến nạp, mức biểu hiện của polypeptit mong muốn, v.v.. Các vector biểu hiện được mô tả ở đây có thể được đưa vào tế bào chủ bằng cách đó tạo ra các polypeptit hoặc peptit, bao gồm các polypeptit hoặc peptit dung hợp, được mã hóa bởi axit nucleic như được mô tả ở đây (ví dụ, polypeptit AHAS, polypeptit dung hợp, v.v.).

Polypeptit AHAS có thể được biểu hiện trong thực vật và tế bào của thực vật như tế bào thực vật đơn bào (như tảo) (xem Falciatore et al., 1999, *Marine Biotechnology* 1 (3): 239-251 và các tài liệu tham khảo trong đó) và tế bào thực vật từ thực vật bậc cao hơn (ví dụ, cây có hạt, như là cây trồng). Polynucleotit AHAS có thể được "đưa vào" tế bào thực vật bằng cách bất kỳ, bao gồm sự chuyển nhiễm, sự biến nạp hoặc tải nạp, xung điện, bắn phá hạt, phương pháp sử dụng t-ADN của virus gây nhiễm cho cây, súng bắn gen (phương pháp đưa ADN vào tế bào) và tương tự.

Các phương pháp thích hợp để biến nạp hoặc chuyển nhiễm các tế bào chủ bao gồm các tế bào của cây có thể tìm thấy trong bài báo Sambrook và các đồng tác giả (*Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. 2nd Ed., Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 1989) và các sổ tay thí nghiệm khác như *Methods in Molecular Biology*, 1995, Vol. 44, *Agrobacterium* protocols, Ed: Gartland and Davey, Humana Press, Totowa, New Jersey. Khả năng chịu được chất diệt cỏ imidazolinon được tăng cường là tình trạng chung mong muốn được thừa kế ở nhiều giống cây trồng như ngô, lúa mỳ, lúa mạch đen, yến mạch, giống lai lúa mỳ và lúa mạch đen, lúa gạo, lúa mạch, đậu tương, lạc, bông, hạt cải dầu và cây hạt cải dầu, cây sắn, hạt tiêu, hướng dương và cúc vạn thọ, cây thuộc họ cà như khoai tây, thuốc lá, cây cà, và cà chua, loài *Vicia*, đậu, cỏ linh lăng, cây bụi (cà phê, cacao, chè), loài *Salix*, cây to (cây cọ dầu, cây dừa), cỏ lâu năm và cây làm thức ăn cho gia súc, những cây trồng này cũng là những cây được ưa thích đối với kỹ thuật di truyền. Cây làm thức ăn cho gia súc bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, cỏ mạch, cỏ Canary, cỏ dứa, cỏ đại, cỏ Blue, cỏ ngón, cỏ Alfalfa, Salfoin, Birdsfoot, Trefoil, Alsike Clover, Red Clover, và Sweet Clover.

Sự chuyển nhiễm của polynucleotit AHAS vào thực vật có thể đạt được bằng cách chuyển gen qua trung gian *Agrobacterium*. Một phương pháp biến nạp đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này là nhúng cây ra hoa vào dung dịch chứa *Agrobacteria*, trong đó *Agrobacteria* chứa axit nucleic AHAS, sau đó nhân các giao tử đã được biến nạp. Sự biến nạp ở cây qua trung gian *Agrobacterium* có thể

được thực hiện bằng cách sử dụng, ví dụ, GV3101 (pMP90) (Koncz and Schell, 1986, Mol. Gen. Genet. 204: 383-396) hoặc LBA4404 (Clontech) chủng *Agrobacterium tumefaciens*. Sự biến nạp này có thể được thực hiện bằng các kỹ thuật biến nạp tiêu chuẩn và kỹ thuật tái sinh (Deblaere et al., 1994, Nucl. Acids. Res. 13: 4777-4788; Gelvin, Stanton B. and Schilperoort, Robert A, Plant Molecular Biology Manual, 2nd Ed. -Dordrecht: Kluwer Academic Publ., 1995, - in Sect., Ringbuc Zentrale Signatur: BT11-P ISBN 0-7923-2731-4; Glick, Bernard R. and Thompson, John E., Methods in Plant Molecular Biology and Biotechnology, Boca Raton: CRC Press, 1993 360 S., ISBN 0-8493-5164-2). Ví dụ, hạt cải dầu có thể được biến nạp thông qua sự biến nạp lá mầm hoặc trụ dưới lá mầm (Moloney et al., 1989, Plant Cell Report 8: 238-242; De Block et al., 1989, Plant Physiol. 91: 694-701). Việc sử dụng chất kháng sinh cho *Agrobacterium* và sự lựa chọn các cây phụ thuộc vào vector nhị nguyên và chủng *Agrobacterium* được sử dụng để biến nạp. Sự lựa chọn hạt cải dầu thường được thực hiện sử dụng kanamycin làm chất đánh dấu cây trồng được lựa chọn. Sự chuyển gen qua trung gian *Agrobacterium* đến cây lanh có thể được thực hiện bằng cách sử dụng, ví dụ, kỹ thuật được mô tả bởi Mlynarova et al., 1994, Plant Cell Report 13: 282-285. Hơn nữa, sự biến nạp ở cây đậu tương có thể được thực hiện bằng cách sử dụng, ví dụ, kỹ thuật đã được mô tả trong EP 0424 047, US 5,322, 783, EP 0397 687, US 5,376, 543, hoặc US 5,169, 770. Sự biến nạp ở cây ngô có thể đạt được bằng cách bắn phá hạt, sự hấp thụ ADN qua trung gian polyetylen glycol hoặc thông qua kỹ thuật sợi silic cacbua. (Xem, ví dụ, Freeling and Walbot "The maize handbook" Springer Verlag: New York (1993) ISBN 3-540-97826-7). Một ví dụ cụ thể về sự biến nạp ở cây ngô được tìm thấy trong US 5,990, 387, và một ví dụ cụ thể về sự biến nạp ở cây lúa mì được tìm thấy trong WO 93/07256.

Polynucleotit AHAS được đưa vào có thể được duy trì trong tế bào cây trồng một cách ổn định nếu nó được kết hợp vào một đơn vị sao chép tự chủ không phải là nhiễm sắc thể hoặc được kết hợp vào các nhiễm sắc thể ở cây trồng. Theo cách khác, polynucleotit AHAS được đưa vào có thể xuất hiện trên vector không sao chép ngoài

nhiễm sắc thể và được biểu hiện nhất thời hoặc có hoạt tính nhất thời. Vi sinh vật tái tổ hợp tương đồng có thể được tạo ra trong đó polynucleotit AHAS được kết hợp vào nhiễm sắc thể, vector được điều chế mà chứa ít nhất một phần của gen AHAS, trong đó sự loại bỏ, bổ sung, hoặc thay thế được đưa vào để bằng cách đó thay đổi, ví dụ, phá hủy về mặt chức năng, gen AHAS nội sinh và tạo ra gen AHAS.

Để tạo ra sự đột biến điểm thông qua sự tái tổ hợp tương đồng, thể lai ADN-ARN có thể được sử dụng trong kỹ thuật đã biết gọi là liệu pháp gen khảm "chimeraplasty" (Cole-Strauss et al., 1999, *Nucleic Acid Research* 27 (5): 1323-1330 và Kmiec, 1999, *Gene therapy American Scientist* 87 (3): 240-247). Các quy trình tái tổ hợp tương đồng khác ở loài *Oryza* cũng đã được biết trong lĩnh vực kỹ thuật này và nhằm sử dụng ở đây.

Trong vector tái tổ hợp tương đồng, gen AHAS có thể được nằm kề ở đầu 5' và 3' với phần tử axit nucleic bổ sung của gen AHAS để cho phép sự tái tổ hợp tương đồng xảy ra giữa gen AHAS ngoại sinh được mang bởi vector và gen AHAS nội sinh, trong vi sinh vật hoặc thực vật. Phần tử axit nucleic kề AHAS bổ sung có chiều dài đủ để tái tổ hợp tương đồng thành công với gen nội sinh. Về cơ bản, vài trăm cặp bazơ lên tới kilobazơ của ADN kề cận (cả ở đầu 5' và 3') được bao gồm trong vector (xem, ví dụ, Thomas, K. R., và Capecchi, M. R., 1987, *Cell* 51: 503 đối với việc mô tả các vector tái tổ hợp tương đồng hoặc Strepp et al., 1998, *PNAS*, 95 (8): 4368-4373 đối với sự tái tổ hợp dựa trên ADN hỗ trợ trong *Physcomitrella patens*). Tuy nhiên, do gen AHAS này thường khác biệt với gen AHAS ở một vài axit amin, trình tự kề cận là không cần thiết. Vector tái tổ hợp tương đồng được đưa vào trong tế bào vi sinh vật hoặc tế bào thực vật (ví dụ, thông qua ADN trung gian qua polyetylen glycol), và các tế bào mà gen AHAS được đưa vào đã tái tổ hợp tương đồng với gen AHAS nội sinh được lựa chọn bằng cách sử dụng các kỹ thuật đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này.

Vi sinh vật tái tổ hợp có thể được tạo ra chứa các hệ được lựa chọn cho phép sự biểu hiện được điều chỉnh của gen được đưa vào. Ví dụ, thể vùi của gen AHAS trên

một vector đặt nó dưới sự kiểm soát của operon lac lactoza cho phép sự biểu hiện của gen AHAS chỉ khi có mặt IPTG. Các hệ điều chỉnh này là đã biết đến trong lĩnh vực kỹ thuật.

Để có mặt trong vector không sao chép ngoài nhiễm sắc thể hoặc vector mà được kết hợp vào nhiễm sắc thể, tốt hơn là, polynucleotit AHAS nằm ở catxet biểu hiện ở cây trồng. Tốt hơn là, catxet biểu hiện ở cây trồng chứa các trình tự điều chỉnh có khả năng phân tán sự biểu hiện của gen ở tế bào cây trồng được liên kết một cách linh hoạt sao cho mỗi trình tự có thể thực hiện chức năng của nó, ví dụ, kết thúc sự sao chép bởi các tín hiệu bổ sung trình tự poly A. Các tín hiệu bổ sung trình tự poly A được ưu tiên là các tín hiệu có nguồn gốc từ *Agrobacterium tumefaciens* t-ADN như gen 3 được biết là octopin synthaza của Ti-plasmit pTiACH5 (Gielen et al., 1984, EMBO J. 3: 835) hoặc các dạng có chức năng tương đương, mà còn tất cả gen kết thúc có hoạt tính chức năng ở cây trồng là thích hợp. Do sự biểu hiện gen ở cây trồng thường không bị giới hạn ở các mức độ sao chép, tốt hơn là, catxet biểu hiện ở cây trồng chứa các trình tự liên kết một cách linh hoạt khác giống như gen tăng cường dịch mã như trình tự phân tán quá mức chứa trình tự dẫn đầu 5-không dịch mã từ virut khảm ở cây thuốc lá tăng cường polypeptit theo tỉ lệ ARN (Gallie et al., 1987, Nucl. Acids Research 15: 8693-8711). Ví dụ về các vector biểu hiện ở cây trồng bao gồm các vector được mô tả chi tiết trong: Becker, D. et al., 1992, New plant binary vectors with selectable markers located proximal to the left border, Plant Mol. Biol. 20: 1195-1197; Bevan, M. w., 1984, Binary *Agrobacterium* vectors for plant transformation, Nucl. Acid. Res. 12: 8711-8721; và Vectors for Gene Transfer in Higher Plants; trong: Transgenic Plants, Vol.1, Engineering and Utilization, eds.: Kung and R. Wu, Academic Press, 1993, S.15-38.

Sự biểu hiện gen ở cây trồng nên được liên kết một cách linh hoạt với gen khởi đầu thích hợp tạo ra sự biểu hiện gen một cách kịp thời, theo cách ưu tiên loại tế bào, hoặc ưu tiên mô. Gen khởi đầu hữu dụng trong catxet biểu hiện theo sáng chế bao gồm gen khởi đầu bất kỳ có khả năng bắt đầu sự sao chép trong tế bào cây trồng. Gen

khởi đầu này bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn, các gen mà có thể thu được từ cây trồng, các virus và vi khuẩn của cây trồng chứa các gen được biểu hiện ở cây trồng, như *Agrobacterium* và *Rhizobium*.

Gen khởi đầu có thể là cơ định, cảm ứng, ưu tiên giai đoạn phát triển, ưu tiên loại tế bào, ưu tiên mô hoặc ưu tiên cơ quan. Gen khởi đầu cơ định có hoạt tính trong hầu hết mọi trường hợp. Ví dụ về gen khởi đầu cơ định bao gồm các gen khởi đầu CaMV 19S và 35S (Odell et al., 1985, *Nature* 313: 810-812), gen khởi đầu sX CaMV 35S (Kay et al., 1987, *Science* 236: 1299-1302), gen khởi đầu *Sepl*, gen khởi đầu actin ở cây lúa (McElroy et al., 1990, *Plant Cell* 2: 163-171), gen khởi đầu actin *Arabidopsis*, gen khởi đầu ubiquitin (Christensen et al., 1989, *Plant Molec. Biol.* 18: 675-689); pEmu (Last et al., 1991, *Theor. Appl. Genet.* 81: 581-588), gen khởi đầu 35S virus thể khảm ở cây huyền sâm, gen khởi đầu *Smas* (Velten et al., 1984, *EMBO J.* 3: 2723-2730), gen khởi đầu GRP1-8, gen khởi đầu dehydrogenaza của rượu xinnamylic (US 5,683,439), gen khởi đầu từ T-ADN của *Agrobacterium*, như manopin synthaza, nopal synthaza, và octopin synthaza, cấu trúc dưới phân tử nhỏ của gen khởi đầu ribuloza biphosphat carboxylaza (ssuRUBISCO), và dạng tương tự.

Các gen khởi đầu cảm ứng có hoạt tính trong các điều kiện môi trường nhất định, như khi có mặt hoặc vắng mặt của chất dinh dưỡng hoặc chất chuyển hóa, nhiệt hoặc lạnh, ánh sáng, sự tấn công của mầm bệnh, điều kiện kỵ khí, và tương tự. Ví dụ, gen khởi đầu sp80 từ *Brassica* được cảm ứng bằng cách sốc nhiệt; gen khởi đầu PPKK được cảm ứng bằng ánh sáng; gen khởi đầu PR-1 từ cây thuốc lá, *Arabidopsis*, và ngô được cảm ứng bằng cách gây nhiễm bằng mầm bệnh; và gen khởi đầu *Adhl* được cảm ứng bằng cách giảm oxy-huyết và sự căng thẳng do lạnh đem lại. Sự biểu hiện của gen ở cây trồng cũng có thể được tạo điều kiện thuận lợi thông qua gen khởi đầu cảm ứng (xem Gatz, 1997, *Annu. Rev. Plant Physio. Plant Mol. Biol.* 48: 89-108). Các gen khởi đầu cảm ứng về mặt hóa học đặc biệt thích hợp nếu mong muốn sự biểu hiện của gen đặc hiệu theo thời gian. Ví dụ về các gen khởi đầu này là gen khởi đầu

cảm ứng axit salixylic (WO 95/19443), gen khởi đầu cảm ứng tetracyclin (Gatz et al., 1992, Plant J. 2: 397-404) và gen khởi đầu cảm ứng etanol (WO 93/21334).

Các gen khởi đầu ưu tiên giai đoạn phát triển được ưu tiên biểu hiện ở các giai đoạn phát triển nhất định. Các gen khởi đầu ưu tiên mô và cơ quan bao gồm các gen được ưu tiên biểu hiện ở các mô hoặc cơ quan nhất định, như là lá, rễ, hạt, hoặc xylem. Ví dụ về các gen khởi đầu ưu tiên mô hoặc ưu tiên cơ quan bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở các gen khởi đầu ưu tiên quả, ưu tiên nõn, ưu tiên mô đực, ưu tiên hạt, ưu tiên vỏ, ưu tiên củ, ưu tiên thân cuống, ưu tiên vỏ quả, và ưu tiên lá, ưu tiên núp nhụy, ưu tiên phần hoa, ưu tiên bao phấn, ưu tiên cánh hoa, ưu tiên đài hoa, ưu tiên cuống nhỏ, ưu tiên quả cải, ưu tiên thân cây, ưu tiên rễ và tương tự. Các gen khởi đầu ưu tiên hạt được ưu tiên biểu hiện ở các giai đoạn phát triển hạt và/hoặc nảy mầm. Ví dụ, các gen khởi đầu ưu tiên hạt có thể là ưu tiên phôi, ưu tiên nội nhũ và ưu tiên vỏ hạt. Xem Thompson et al., 1989, BioEssays 10: 108. Ví dụ về các gen khởi đầu ưu tiên hạt bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở xenluloza synthaza (celA), Ciml, zeingama, globulin-1, zein 19 kD của ngô (cZ19Bl) và tương tự.

Các gen khởi đầu ưu tiên mô hoặc ưu tiên cơ quan thích hợp khác bao gồm gen khởi đầu napin từ hạt cải dầu (US 5,608,152), gen khởi đầu USP từ *Vicia faba* (Baeumlein et al., 1991, Mol Gen Genet. 225 (3): 459-67), gen khởi đầu oleosin từ *Arabidopsis* (WO 98/45461), gen khởi đầu phaseolin từ *Phaseolus vulgaris* (US 5,504, 200), gen khởi đầu Bce4 từ *Brassica* (WO 91/13980), hoặc gen khởi đầu legumin B4 (LeB4; Baeumlein et al., 1992, Plant Journal, 2 (2): 233-9), cũng như các gen khởi đầu tạo ra sự biểu hiện đặc hiệu cho hạt ở thực vật một lá mầm như ngô, lúa mạch, lúa mỳ, lúa mạch đen, lúa gạo, v.v. Các gen khởi đầu thích hợp để lưu ý là gen khởi đầu lpt2 hoặc lpt1 từ cây lúa mạch (WO 95/15389 và WO 95/23230) hoặc những gen đã được mô tả trong WO 99/16890 (các gen khởi đầu từ gen hordein ở cây lúa mạch, gen glutelin ở cây lúa, gen oryirin ở cây lúa, gen prolamin ở cây lúa, gen gliadin ở cây lúa mỳ, gen glutelin ở cây lúa mỳ, gen glutelin ở cây yến mạch, gen kasirin ở cây lúa miến, và gen secalin ở lúa mạch đen).

Các gen khởi đầu khác hữu ích trong catxet biểu hiện được mô tả ở đây bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, gen khởi đầu protein liên kết chính với chlorophyll a/b, gen khởi đầu histon, gen khởi đầu Ap3, gen khởi đầu P-conglyxin, gen khởi đầu napin, gen khởi đầu lectin ở cây đậu tương, gen khởi đầu zein 15kD ở cây ngô, gen khởi đầu zein 22kD, gen khởi đầu zein 27kD, gen khởi đầu g-zein, chất sáp, shrunken 1, shrunken 2, và gen khởi đầu bronz, gen khởi đầu Zm13 (US 5,086,169), gen khởi đầu polygalacturonaza ở cây ngô (PG) (US 5,412,085 và 5,545,546), và gen khởi đầu SGB6 (US 5,470, 359), cũng như các gen khởi đầu tổng hợp hoặc tự nhiên khác.

Sự linh hoạt bổ sung trong việc kiểm soát sự biểu hiện gen khác kiểu ở cây trồng có thể đạt được bằng cách sử dụng các vùng liên kết ADN và yếu tố phản ứng từ các nguồn khác kiểu (tức là, các vùng liên kết ADN từ các nguồn không phải là cây trồng). Ví dụ về các vùng liên kết ADN khác kiểu là vùng liên kết ADN LexA (Brent and Ptashne, 1985, Cell 43: 729-736).

Ngoài ra, sáng chế còn đề cập đến các tế bào chủ mà vector biểu hiện tái tổ hợp như mô tả ở đây được đưa vào. Thuật ngữ "tế bào chủ" và "tế bào chủ tái tổ hợp" được sử dụng thay thế nhau ở đây. Cần phải hiểu rằng các thuật ngữ này không chỉ đề cập đến một đối tượng tế bào cụ thể mà chúng còn áp dụng cho thế hệ con hoặc thế hệ con tiềm năng của tế bào đó. Do sự cải biến nhất định có thể xảy ra ở thế hệ tiếp theo do sự đột biến hoặc ảnh hưởng của môi trường, thế hệ con này trên thực tế có thể không giống với tế bào bố mẹ, nhưng vẫn được bao gồm trong phạm vi của thuật ngữ như được sử dụng ở đây. Tế bào chủ có thể là tế bào chưa có nhân điển hình hoặc tế bào có nhân điển hình. Ví dụ, polynucleotit AHAS có thể được biểu hiện ở tế bào vi khuẩn như *C.glutamicum*, tế bào côn trùng, tế bào nấm, hoặc tế bào của động vật có vú (như tế bào buồng trứng chuột đồng Trung Quốc (CHO) hoặc tế bào COS), tảo, tế bào có lông tơ, tế bào của cây trồng, nấm hoặc các vi sinh vật khác như *C.glutamicum*. Các tế bào chủ thích hợp khác là đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này.

Tế bào chủ theo mô tả ở đây, như tế bào chủ chưa có nhân điển hình hoặc có nhân điển hình trong môi trường nuôi cấy, có thể được sử dụng để tạo ra (tức là, biểu hiện) một polynucleotit AHAS. Theo đó, các phương pháp để tạo ra polypeptit AHAS sử dụng tế bào chủ theo sáng chế được mô tả ở đây. Phương pháp này có thể bao gồm nuôi cấy tế bào chủ được mô tả ở đây (đưa vào đó một vector biểu hiện tái tổ hợp mã hóa polypeptit AHAS, hoặc đưa vào hệ gen một gen mã hóa polypeptit kiểu hoang hoặc AHAS) trong môi trường thích hợp cho đến khi polypeptit AHAS được tạo ra. Phương pháp này có thể còn bao gồm việc phân lập polypeptit AHAS từ môi trường hoặc tế bào chủ. Ngoài ra, polypeptit AHAS phân lập được, và các phần có hoạt tính sinh học của chúng được mô tả ở đây. Polypeptit hoặc phần có hoạt tính sinh học của chúng "phân lập được" hoặc "tinh chế được" không có một số vật liệu tế bào khi được tạo ra bằng kỹ thuật ADN tái tổ hợp, hoặc các tiền chất hóa học hoặc các chất hóa học khác khi được tổng hợp bằng phương pháp hóa học. Cách nói "hầu như không có vật liệu tế bào" bao gồm chế phẩm polypeptit AHAS trong đó polypeptit được phân lập từ một số thành phần tế bào của tế bào, trong đó nó được tạo ra theo cách tự nhiên hoặc tái tổ hợp. Theo một phương án, cách nói "hầu như không có vật liệu tế bào" có thể bao gồm việc điều chế polypeptit AHAS có ít hơn khoảng 30% (theo trọng lượng khô) vật liệu không phải là AHAS (cũng được đề cập ở đây là "polypeptit nhiễm bẩn"), tốt hơn là ít hơn khoảng 20% vật liệu không phải là AHAS, tốt hơn nữa là ít hơn khoảng 10% vật liệu không phải là AHAS, và tốt nhất là ít hơn khoảng 5% vật liệu không phải là AHAS.

Khi polypeptit AHAS, hoặc phần có hoạt tính sinh học của chúng, được tạo ra theo cách tái tổ hợp, tốt hơn là hầu như không có môi trường nuôi cấy, tức là, môi trường nuôi cấy thể hiện ít hơn khoảng 20%, tốt hơn nữa là ít hơn khoảng 10%, và tốt nhất là ít hơn khoảng 5% thể tích của chế phẩm polypeptit. Cách nói "hầu như không có tiền chất hóa học hoặc các chất hóa học khác" bao gồm các chế phẩm polypeptit AHAS, trong đó polypeptit được phân lập từ tiền chất hóa học hoặc các chất hóa học khác liên quan đến sự tổng hợp của polypeptit. Theo một phương án, cách nói "hầu

như không có tiền chất hóa học hoặc các chất hóa học khác" bao gồm các chế phẩm chứa polypeptit AHAS có ít hơn khoảng 30% (theo trọng lượng khô) tiền chất hóa học hoặc chất hóa học không phải là AHAS, tốt hơn là ít hơn khoảng 20% tiền chất hóa học hoặc chất hóa học không phải là AHAS, tốt hơn nữa là ít hơn khoảng 10% tiền chất hóa học hoặc chất hóa học không phải là AHAS, và tốt nhất là ít hơn khoảng 5% tiền chất hóa học hoặc chất hóa học không phải là AHAS. Theo các phương án được ưu tiên, các polypeptit phân lập được, hoặc phần có hoạt tính sinh học của chúng không có các polypeptit nhiễm bản từ các sinh vật tương tự mà từ đó tạo dẫn xuất polypeptit AHAS. Về cơ bản, các polypeptit này được tạo ra do sự biểu hiện tái tổ hợp của, ví dụ, polypeptit AHAS của *Oryza sativa* ở cây trồng không phải *Oryza sativa* hoặc các vi sinh vật như *C.glutamicum*, tế bào có lông tơ, tảo, hoặc nấm.

Các trình tự polynucleotit và polypeptit AHAS được mô tả ở đây có nhiều dạng sử dụng. Các trình tự axit nucleic và axit amin theo sáng chế có thể được sử dụng để biến nạp vào cây trồng, bằng cách đó điều biến khả năng chịu được chất diệt cỏ imidazolinon của cây trồng. Theo đó, phương pháp tạo ra cây trồng chuyển gen có khả năng chịu được chất diệt cỏ imidazolinon được tăng cường bao gồm, (a) biến nạp vào tế bào cây trồng bằng một hoặc nhiều vector biểu hiện chứa một hoặc nhiều axit nucleic AHAS biến đổi, và (b) tạo ra từ tế bào cây trồng một cây trồng chuyển gen có khả năng chịu được chất diệt cỏ imidazolinon được tăng cường so với giống kiểu hoang của cây trồng được mô tả ở đây. Axit nucleic AHAS biến đổi có thể mã hóa polypeptit AHAS biến đổi bao gồm sự đột biến từ alanin thành threonin so với polypeptit AHAS kiểu hoang.

Ngoài ra, các phương pháp cải biến khả năng chịu được chất diệt cỏ imidazolinon của cây trồng bao gồm việc cải biến sự biểu hiện của một hoặc nhiều axit nucleic AHAS biến đổi được mô tả ở đây. Khả năng chịu được chất diệt cỏ imidazolinon của cây trồng có thể được tăng cường hoặc giảm đi đạt được lần lượt bằng cách tăng cường hoặc giảm đi sự biểu hiện của polynucleotit AHAS. Tốt hơn là, khả năng chịu được chất diệt cỏ imidazolinon của cây trồng được tăng cường bằng

cách làm tăng biểu hiện của polynucleotit AHAS. Axit nucleic AHAS biến đổi có thể mã hóa polypeptit AHAS biến đổi bao gồm sự đột biến từ alanin thành threonin so với polypeptit AHAS kiểu hoang. Sự biểu hiện của polynucleotit AHAS có thể được cải biến bằng phương pháp bất kỳ đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này. Các phương pháp tăng cường sự biểu hiện của polynucleotit AHAS có thể được sử dụng trong đó cây trồng là cây chuyển gen hoặc không chuyển gen. Trong nhiều trường hợp, khi cây trồng là cây chuyển gen, cây trồng có thể được biến nạp, ví dụ, bằng một vectơ chứa axit nucleic mã hóa AHAS bất kỳ nêu trên, hoặc cây trồng có thể được biến nạp bằng một gen khởi đầu chi phối sự biểu hiện của polynucleotit AHAS nội sinh ở cây trồng. Gen khởi đầu này có thể là đặc trưng mô hoặc được điều chỉnh phát triển. Theo cách khác, cây trồng không chuyển gen có thể có sự biểu hiện polynucleotit AHAS nội sinh được cải biến do kích thích một gen khởi đầu nguyên thể. Sự biểu hiện của polynucleotit bao gồm trình tự polynucleotit được nêu trong SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:5, hoặc SEQ ID NO: 11 ở cây trồng đích có thể được hoàn tất bởi, nhưng không chỉ giới hạn ở, một trong các ví dụ sau: (a) gen khởi đầu cơ định (b) gen khởi đầu cảm ứng hóa học, và (c) biểu hiện quá mức của gen khởi đầu được tạo kỹ thuật gen bằng, ví dụ, nhân tố sao chép từ lõi kẽm (Greisman & Pabo, 1997, Science 275: 657).

Sự sao chép của polynucleotit AHAS có thể được điều biến sử dụng nhân tố sao chép từ lõi kẽm (ZFP) như được mô tả trong bài báo Greisman and Pabo, 1997, Science 275: 657 và do Sangamo Biosciences, Inc sản xuất. ZFP này bao gồm cả vùng nhận dạng ADN và vùng chức năng gây ra sự hoạt hóa hoặc ức chế của axit nucleic đích như axit nucleic AHAS. Do đó, các ZFP hoạt hóa hoặc ức chế có thể được tạo ra để nhận dạng một cách đặc hiệu gen khởi đầu polynucleotit AHAS được mô tả ở trên và được sử dụng để tăng cường hoặc làm giảm sự biểu hiện của polynucleotit AHAS ở cây trồng, bằng cách đó điều biến khả năng chịu được chất diệt cỏ của cây trồng.

Như được mô tả chi tiết ở trên, cây trồng được tạo ra bằng các phương pháp được mô tả ở đây có thể là cây một lá mầm hoặc hai lá mầm. Cây trồng có thể được chọn từ, ví dụ, các cây ngô, lúa mỳ, lúa mạch đen, yến mạch, lúa mỳ lai lúa mạch đen và lúa mạch đen, lúa, lúa mạch, đậu tương, lạc, bông, hạt cải dầu, cây hạt cải dầu, sắn, hạt tiêu, hướng dương, cúc vạn thọ, cây thuộc họ cà, khoai tây, thuốc lá, cây cà, và cà chua, loài *Vicia*, đậu, cỏ linh lăng, cây bụi, cà phê, cacao, chè, loài *Salix*, cây cọ dầu, cây dừa, cỏ lâu năm và cây làm thức ăn cho gia súc. Cây làm thức ăn cho gia súc bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, cỏ mạch, cỏ Canary, cỏ dứa, cỏ đại, cỏ Blue, cỏ ngón, cỏ Alfalfa, Salfoin, Birdsfoot, Trefoil, Alsike Clover, Red Clover, và Sweet Clover. Trong mỗi phương pháp nêu trên, tế bào của cây trồng bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, thể nguyên sinh, tế bào tạo ra giao tử, và tế bào tái sinh thành cây trồng. Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "chuyển gen" để chỉ cây trồng bất kỳ, tế bào cây trồng, thể sắn, mô của cây trồng, hoặc bộ phận của cây trồng, chứa tất cả hoặc một phần của ít nhất một polynucleotit tái tổ hợp. Trong nhiều trường hợp, tất cả hoặc một phần của polynucleotit tái tổ hợp được kết hợp ổn định vào nhiễm sắc thể hoặc thành phần ngoài nhiễm sắc thể ổn định, do đó nó được truyền sang các thế hệ tiếp theo.

Nuôi cấy nhiều loại mô khác nhau của cây lúa và tái sinh cây trồng từ đó đã được biết đến và đã công bố rộng rãi. Ví dụ, có thể tham khảo tại Chu, Q. R., et al.,(1999) "Use of bridging parents with high anther culturability to improve plant regeneration and breeding value in rice", *Rice Biotechnology Quarterly* 38: 25-26; Chu, Q. R., et al.,(1998), "A novel plant regeneration medium for rice anther culture of Southern U. S. crosses", *Rice Biotechnology Quarterly* 35: 15-16; Chu, Q. R., et al.,(1997), "A novel basal medium for embryogenic callus induction of Southern US crosses", *Rice Biotechnology Quarterly* 32: 19-20; và Oono, K. "Broadening the Genetic Variability By Tissue Culture Methods", *Jap. J. Breed.* 33 (Suppl. 2), 306-307, illus. 1983.

Được mô tả ở trên là các chế phẩm và phương pháp để tăng khả năng chịu được imidazolinon ở cây lúa hoặc hạt giống so với giống lúa hoặc hạt giống kiểu hoang. Khả năng chịu được imidazolin của cây lúa hoặc hạt giống có thể được tăng cường sao cho cây trồng hoặc hạt giống có thể chịu được việc sử dụng chất diệt cỏ imidazolinon tốt hơn là xấp xỉ 10-400g ai ha¹, tốt hơn nữa là 20-160g ai ha¹, và tốt nhất là, 40-80g ai ha¹. Như được sử dụng ở đây, "chịu được" việc sử dụng chất diệt cỏ imidazolinon có nghĩa là cây trồng hoặc không bị chết hoặc không bị tổn thương do việc sử dụng này.

Ngoài ra, sáng chế còn đề cập đến phương pháp phòng trừ cỏ dại ở vùng trồng lúa, bao gồm việc phun chất diệt cỏ imidazolinon lên cỏ dại và lên cây lúa, trong đó cây lúa đã được tăng cường khả năng chịu được chất diệt cỏ imidazolinon so với giống lúa kiểu hoang, và trong đó cây lúa chịu được imidazolinon bao gồm ít nhất một axit nucleic AHAS biến đổi. Axit nucleic AHAS biến đổi mã hóa polypeptit AHAS biến đổi nhằm đột biến alanin thành threonin so với polypeptit AHAS kiểu hoang. Sự đột biến ở gốc axit amin tương ứng với vị trí 96 của trình tự như được nêu trong SEQ ID NO: 12. Bằng cách tạo cho cây lúa tăng cường khả năng chịu được imidazolin, nhiều loại chế phẩm có thể được sử dụng để bảo vệ cây lúa khỏi cỏ dại, sao cho kích thích sự tăng trưởng của cây trồng và làm giảm cạnh tranh lấy chất dinh dưỡng. Chất diệt cỏ imidazolinon có thể được sử dụng một mình để phòng trừ cỏ dại ở giai đoạn trước khi nảy mầm, sau khi nảy mầm, trước khi trồng cây, và khi trồng cây ở vùng trồng lúa được mô tả ở đây hoặc chế phẩm diệt cỏ imidazolinon có thể được sử dụng mà chứa các chất phù trợ khác. Chất diệt cỏ imidazolinon cũng có thể được sử dụng để xử lý hạt giống. Chất phù trợ có trong chế phẩm diệt cỏ imidazolinon bao gồm các chất diệt cỏ khác, chất tẩy rửa, tá dược, chất phân tán, chất kết dính, chất ổn định, hoặc chất tương tự. Chế phẩm diệt cỏ imidazolinon có thể là chế phẩm ướt hoặc khô và có thể bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, bột dễ chảy, chất cô đặc nhũ hóa được và chất cô đặc dạng lỏng. Chế phẩm diệt cỏ imidazolin và

chế phẩm diệt cỏ có thể được sử dụng theo các phương pháp thông thường, ví dụ, bằng cách phun, tưới, rắc bụi, hoặc tương tự.

Sáng chế còn được minh họa bằng các ví dụ sau, và không được hiểu theo bất kỳ cách nào nhằm giới hạn phạm vi của sáng chế. Ngược lại, cần phải hiểu rõ rằng có thể còn có nhiều phương án, sự biến đổi hoặc dạng tương đương khác, mà sau khi đọc phần mô tả ở đây, có thể tự người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này nghĩ ra mà không xuất phát từ phạm vi của các yêu cầu bảo hộ đi kèm.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ 1

Sự phát sinh đột biến gen và lựa chọn dòng lúa chịu được imidazolinon.

Hai mẫu hạt giống (mỗi mẫu 600g) của cây lúa IRGA 417 được xử lý bằng dung dịch natri azit chứa nước nồng độ 0,001M ở độ pH=3 (chất đệm phosphat 0,067M) để tạo ra hạt giống M1. Việc xử lý này được thực hiện bằng cách ngâm mỗi mẫu hạt giống vào 21 Erlenmeyer chứa 11 dung dịch natri azit, trong điều kiện lắc liên tục, trong 18 giờ, ở nhiệt độ trong phòng. Sau khi xử lý, hạt giống được xả dưới nước vòi và, sau đó, hạt giống được làm khô một phần bằng quạt gió trên tờ giấy thấm để chiết hơi ẩm từ bề mặt hạt giống. Sau đó, hạt giống đã được xử lý được gieo trực tiếp ở vườn ươm.

Hạt giống M1 được trồng ở vườn ươm với thiết bị trồng hạt giống thử nghiệm Wintersteiger với tốc độ 50 cây trồng cho mỗi mét vuông. Các dòng đối chứng của giống IRGA 417 kiểu hoang được trồng với thiết bị trồng loại này. Các dòng này được sinh trưởng trong điều kiện ngập nước cho đến khi trưởng thành (độ ẩm hạt 26%) và được thu hoạch cả mớ. Hạt giống thu được (M2) được làm khô trong thiết bị làm khô đối lưu trong 14 giờ ở nhiệt độ 45°C. Hạt giống M2 được bảo quản trong thời gian ngắn cho đến mùa sau.

Hạt giống từ cây trồng M1 (hạt giống M2) được trồng với thiết bị trồng hạt giống thử nghiệm trong diện tích lớn (AVEC) với tốc độ 50 kg/ha. Cuối cùng ước lượng khoảng 3 ha được hình thành với mật độ 6×10^6 cây trồng. Các dòng đối chứng của giống IRGA 417 kiểu hoang được trồng với thiết bị trồng loại đầy. Toàn bộ diện tích được chịu sức ép lựa chọn với hỗn hợp hai chất diệt cỏ imidazolinon. Ba lần sử dụng chất diệt cỏ imidazolinon riêng biệt được thực hiện với bình phun thương mại theo nhiều hướng khác nhau để tránh sự lọt sống và dẫn đến việc xử lý 3 lần. Tổng thể tích 2221/ha được phun ở 344,74 Kpa, với vòi phun Teejets 8002, cho mỗi lần sử dụng chất diệt cỏ imidazolinon.

Tỉ lệ của việc xử lý lần 1 là hỗn hợp chứa Arsenal (Imazapyr 75g a.i/ha) và Cadre (Imazapic 24,85g a.i/ha) trong dung dịch nước với chất hoạt động bề mặt không chứa ion (Citowet) ở tỉ lệ 0,25% (v/v). Việc xử lý này được thực hiện ở giai đoạn bốn lá của cây lúa. Không có mưa trong vòng 7 ngày sau khi xử lý.

Việc quan sát được thực hiện đều đặn để khảo sát toàn bộ khu vực. Sau 90 ngày, các cá thể còn sống được dán nhãn và cây ghép vào nhà kính để nhân giống vô tính và tăng sản xuất hạt giống. Toàn bộ 10 cá thể cây trồng được sinh trưởng, và hạt giống được thu hoạch và sấy khô trong lò ủ hạt giống trong 7 ngày ở nhiệt độ 50°C. Không có cây trồng nào từ các dòng đối chứng còn sống sót sau khi xử lý chất diệt cỏ.

Hạt giống từ cây trồng M2 được lựa chọn được trồng trong từng chậu trong điều kiện nhà kính. Việc xử lý lần 2 được thực hiện với bình phun đeo sau lưng R&D, được chia thành hai lần với tỉ lệ 1 lần gồm Arsenal (Imazapyr 75g a.i/ha) và Cadre (Imazapic 24,85g a.i/ha) trong dung dịch nước chứa chất hoạt động bề mặt không có ion (Citowet) ở tỉ lệ 0,25% (v/v). Cây trồng được trồng cho đến khi trưởng thành (độ ẩm hạt 26%) và được thu hoạch bằng tay. Hạt giống thu được được cho xử lý phá vỡ tình trạng ngủ trong 7 ngày ở nhiệt độ 50°C và để chuẩn bị cho mùa gieo trồng muộn ở vùng phía bắc.

Hạt giống từ nhóm bao gồm ba cây trồng được lựa chọn có khả năng chịu được chất diệt cỏ trồng trong nhà kính được trồng trên cánh đồng ở Las Palmas Chaco để làm tăng hạt giống. Ba nhóm này được xác định là có khả năng chịu được chất diệt cỏ imidazolinon được đặt tên là IMINTA 1, IMINTA 4 và IMINTA 5. Chúng được trồng với thiết bị trồng lúa thương phẩm ở tỉ lệ 50kg/ha. Việc xử lý bằng chất diệt cỏ imidazolinon hai lần gồm Arsenal (Imazapyr 75g a.i/ha) và Cadre (Imazapic 24g a.i/ha) trong dung dịch nước chứa chất hoạt động bề mặt không có ion (Citowet) ở tỉ lệ 0,25% (v/v) được thực hiện ở giai đoạn từ bốn đến năm lá của cây lúa. Không có dấu hiệu độc hại nào được quan sát thấy ở ba nhóm này. Ba nhóm này có hiệu suất cao hơn hẳn lô đối chứng được xử lý với chất diệt cỏ thông thường. Không có thể phân ly nào được quan sát thấy và nhóm có độ đồng nhất cao về tính trạng nông học và khả năng chịu được được tạo ra.

Ví dụ 2

Mô tả đặc điểm phân tử của IMINTA 1, IMINTA 4, và IMINTA 5

ADN hệ gen được tách chiết từ lá cây con trồng trong nhà kính từ các giống lúa kiểu hoang và biến đổi IMINTA 1, IMINTA 4, và IMINTA 5 và gen AHAS được khuếch đại bởi PCR. Sản phẩm PCR được xác định trình tự bằng cách sử dụng phương pháp tiêu chuẩn. Phân tích trình tự cho thấy sự thay đổi cặp bazơ đơn trong vùng mã hóa của gen AHAS tạo ra sự thay đổi axit amin từ alanin ở axit amin 96 ở dòng kiểu hoang thành threonin 96 ở dòng đột biến. Sự đột biến này tương ứng với sự thay đổi axit amin từ alanin 122 trong trình tự AHAS *Arabidopsis* thành threonin 122. Trình tự nucleotit AHAS cho IMINTA 1, IMINTA 4, và IMINTA 5 được thể hiện trên Fig. 1A, 1C, và 1E, lần lượt là SEQ ID NO:1, 3, và 5; và các trình tự axit amin AHAS được suy diễn của IMINTA 1, IMINTA 4, và IMINTA 5 được thể hiện trên Fig. 1B, 1D, và 1F lần lượt là SEQ ID NO: 2, 4, và 6. Các trình tự nucleotit và axit amin được suy diễn của AHAS từ chủng lúa kiểu hoang IRGA 417 được thể hiện lần lượt trên Fig. 1G và 1H, là SEQ ID NO:7 và 8. Việc so sánh nucleotit AHAS và trình

tự axit amin cho IMINTA 1, IMINTA 4, và IMINTA 5 được thể hiện lần lượt trên Fig. 2 và Fig. 3. Trình tự liên ứng gen AHAS ở cây lúa được thể hiện trên SEQ ID NO:9, và trình tự axit amin được suy diễn của trình tự liên ứng gen AHAS ở lúa gạo được thể hiện trên SEQ ID NO: 10. Hiện tượng đa hình tạo ra khả năng chịu được imidazolinon đối với các dòng IMTNTA 1, 4, và 5 được in đậm.

Ví dụ về ADN bổ trợ có độ dài đầy đủ của axit nucleic AHAS mã hóa polypeptit tạo ra khả năng chịu được chất diệt cỏ imidazolin được thể hiện trên SEQ ID NO: 11, và trình tự axit amin được suy diễn của protein được mã hóa bởi gen AHAS được thể hiện trong SEQ ID NO: 12 trên Fig. 4.

Ví dụ 3

Khả năng chịu được chất diệt cỏ AHAS của dòng IMINTA 1.

Thử nghiệm trên cánh đồng được thực hiện với dòng IMINTA 1 đột biến và IRGA 417, so sánh sự biểu hiện khi có mặt và vắng mặt của imidazolinon. Việc xử lý imidazolinon lần một gồm Arsenal (Imazapyr 75g a.i/ha) và Cadre (Imazapic 24,85g a.i/ha) trong dung dịch nước với chất hoạt động bề mặt không chứa ion (Citowet) ở tỉ lệ 0,25%. Các giống và việc xử lý được thể hiện trên Fig. 5 ở dạng thiết kế khối ngẫu nhiên với ba lần xử lý lặp lại.

Kết quả xử lý được thể hiện trên Fig. 6. Không thấy có sự khác biệt về mật thống kê trong khi xử lý ở số lượng cây trồng/m, do đó cho thấy việc sử dụng chất diệt cỏ 3 lần không có tác dụng có hại. Các giống đối chứng lẫn cảm được gieo cùng với các lô này không còn sống sót khi xử lý chất diệt cỏ. Giá trị cao hơn ở các lô IMINTA sau khi xử lý 3 lần có thể là do sự đâm chồi.

Sản lượng hạt và thành phần sản lượng được đánh giá để hiểu tác dụng của việc xử lý ở nhiều giai đoạn sinh lý khác nhau, và được thể hiện lần lượt trên Fig. 7 và 8. Không thấy có sự khác biệt về mật thống kê trong khi xử lý, mặc dù các giá trị tuyệt đối cho thấy sự biểu hiện tốt hơn của IMINTA 1 sau 3 lần xử lý. Phân tích thành phần sản lượng cho thấy lượng lớn hơn các chùm cho mỗi mét vuông và bông con/chùm ở

lô IMINTA 1 sau 3 lần xử lý xác định được sản lượng cao hơn các nhóm xử lý khác. Ngoài ra, tỉ lệ phần trăm khoảng trồng mạnh được quan sát thấy do nhiệt độ thấp trước và sau khi ra hoa. Những ngày và đêm lạnh giá làm giảm lượng hạt giống và là nguyên nhân dẫn đến sản lượng trung bình thấp.

Mặc dù không thấy có sự khác biệt về mặt thống kê giữa các nhóm xử lý, nhưng giá trị sản lượng hạt của IMINTA 1 sau 3 lần xử lý lại cao hơn. Như nêu trên, nhiều chùm và bông con/chùm được phát hiện thấy trong những lô này. Các quan sát đối với các dòng có khả năng chịu được khác trong những lần xử lý ở mức cao hơn cho thấy khả năng đâm chồi cao hơn và số lượng bông con/chùm cho thấy tác dụng có thể có của chất diệt cỏ đối với các quá trình biệt hóa về đâm chồi và ra hoa.

Các giống IMINTA 4 và IMINTA 5 cũng được thử nghiệm trên cánh đồng theo cách tương tự như giống IMINTA 1. Sản lượng hạt và thành phần sản lượng được đem so sánh với giống IMINTA 1.

Do khả năng chịu được chất diệt cỏ ở IMINTA 1, IMINTA 4, và IMINTA 5 là do sự đột biến trong enzym AHAS dẫn đến chịu được sự ức chế do chất diệt cỏ imidazolinon gây ra, hoạt tính *in vivo* của AHAS được chiết từ cây kiều hoang (không có sự đột biến về khả năng chịu được) được so với hoạt tính *in vitro* của AHAS được chiết từ cây trồng có khả năng chịu được chất diệt cỏ imidazolinon khi có mặt ở các nồng độ khác nhau.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Cây lúa bao gồm axit nucleic AHAS ở cây lúa không tái tổ hợp bao gồm trình tự polynucleotit được chọn từ:

(a) trình tự polynucleotit được nêu trong SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:3 hoặc SEQ ID NO:5;

(b) trình tự polynucleotit được nêu trong SEQ ID NO:11;

(c) trình tự polynucleotit mã hóa polypeptit bao gồm SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:4, hoặc SEQ ID NO:6; hoặc một trình tự axit amin mà ít nhất 90% đồng nhất với trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO:2;

(d) trình tự polynucleotit mã hóa polypeptit được nêu trong SEQ ID NO:12; và

(e) trình tự polynucleotit bổ trợ với trình tự bất kỳ trong số trong số các trình tự từ (a) đến (d) nêu trên;

trong đó trình tự polynucleotit axit nucleic AHAS này mã hóa polypeptit AHAS được biến đổi ở lúa bao gồm sự thế alanin thành threonin ở vị trí tương đương với vị trí 96 của polypeptit AHAS ở lúa kiều hoang; trong đó sự thế alanin thành threonin ở vị trí tương đương với vị trí 96 của polypeptit AHAS ở lúa kiều hoang là kết quả của việc gây đột biến gen bằng cách xử lý hạt giống bằng 0,001 M dung dịch natri azit trong nước ở độ pH=3; và trong đó sự biểu hiện của polypeptit AHAS ở lúa được biến đổi này là khả năng chịu được chất diệt cỏ imidazolinon của cây lúa được tăng cường so với nhiều loại cây lúa kiều hoang.

2. Cây lúa theo điểm 1, trong đó polypeptit AHAS ở lúa được biến đổi bao gồm một trình tự axit amin có ít nhất 90% đồng nhất với trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO:2.

3. Cây lúa theo điểm 1, trong đó polypeptit AHAS ở lúa được biến đổi bao gồm trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO:2.

4. Cây lúa theo điểm 1, trong đó axit nucleic AHAS ở lúa bao gồm trình tự polynucleotit được nêu trong SEQ ID NO:1

5. Cây lúa theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 4, trong đó cây lúa này không biến đổi gen.

6. Cây lúa thế hệ sau của cây lúa theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 5, trong đó cây lúa thế hệ sau này bao gồm axit nucleic AHAS ở lúa, trong đó sự biểu hiện của polypeptit AHAS ở lúa được biến đổi là khả năng chịu được chất diệt cỏ imidazolinon của cây lúa được tăng cường so với nhiều loại cây lúa kiểu hoang.

7. Cây lúa đột biến có nguồn gốc từ cây lúa theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 5, trong đó cây lúa đột biến này bao gồm axit nucleic AHAS ở lúa, trong đó sự biểu hiện của polypeptit AHAS ở lúa được biến đổi là khả năng chịu được chất diệt cỏ imidazolinon của cây lúa đột biến được tăng cường so với nhiều loại cây lúa kiểu hoang.

8. Cây lúa tái tổ hợp có nguồn gốc từ cây lúa theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 5, trong đó cây lúa tái tổ hợp này bao gồm axit nucleic AHAS ở lúa, trong đó sự biểu hiện của polypeptit AHAS ở lúa được biến đổi là khả năng chịu được chất diệt cỏ imidazolinon của cây lúa tái tổ hợp được tăng cường so với nhiều loại cây lúa kiểu hoang.

9. Cây lúa được tạo ra bằng kỹ thuật di truyền có nguồn gốc từ cây lúa theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 5, trong đó cây lúa được tạo ra bằng kỹ thuật di truyền này bao gồm axit nucleic AHAS ở lúa, trong đó sự biểu hiện của polypeptit AHAS ở lúa được biến đổi là khả năng chịu được chất diệt cỏ imidazolinon của cây lúa được tạo ra bằng kỹ thuật di truyền được tăng cường so với nhiều loại cây lúa kiểu hoang.

10. Hạt giống của cây lúa theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 9, trong đó hạt giống này bao gồm axit nucleic AHAS ở lúa.

11. Bộ phận của cây lúa theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 9, trong đó bộ phận này bao gồm axit nucleic AHAS ở lúa.

12. Tế bào của cây lúa theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 9, trong đó tế bào này bao gồm axit nucleic AHAS ở lúa.

13. Phương pháp trồng lúa theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 9 trong khi phòng trừ cỏ dại ở vùng trồng lúa này, trong đó phương pháp này bao gồm việc áp dụng thuốc diệt cỏ imidazolinon cho cỏ dại và cây lúa, trong đó cây lúa này có khả năng chịu được thuốc diệt cỏ imidazolinon được tăng cường so với nhiều loại cây lúa kiểu hoang.

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> INSTITUTO NACIONAL DE TECNOLOGIA AGROPECUARIA
LIVORE, ALBERTO B.
PRINA, ALBERTO R.
BIRK, IWONA
SINGH, BIJAY

<120> Cây lúa có khả năng chịu được chất diệt cỏ imidazolinon được tăng cường và phương pháp trồng lúa

<130> PF 55841

<150> 60/498,895

<151> 2003-08-29

<150> 60/533,105

<151> 2003-12-30

<160> 12

<170> Bản sáng chế 3.2

<210> 1

<211> 1940

<212> ADN

<213> *Oryza sativa*

<400> 1

```

ccttgtccgc cgcgcgcagc gccaaagaccg gccgtaagaa ccaccagcga caccacgtct 60
ttcccgctcg aggcgggtg ggggcggcg cggtcaggtg ctccggcgtg tccccggtca 120
cccgccgctc ccggcgccg ccggccacgc cgctccggcc gtggggggccg gccgagcccc 180
gcaagggcgc ggacatctc gtggaggcgc tggagcgggt cgccgtcagc gacgtgttcg 240
cctacccggg cggcacgtcc atggagatcc accaggcgtc gacgcgtcc ccggtcatca 300
ccaaccacct ctccgcac gagcaggcg aggcgttcgc ggcgtccggg taagcgcgcg 360
cgtccggccg cgtcgggtc tgcgtcgcca cctccggccc cggggcaacc aacctcgtgt 420
ccgcgctcgc cgacgcgtc ctgcactcc tcccgatggt cgccatcacg ggccagggtc 480
ccgcgcgcgt gatcgccacc gacgccttc aggagacgcc catagtgcag gtcacccgct 540
ccatcaccaa gcacaattac cttgtcctt atgtggagga catccccgc gtcatacagg 600
aagccttctt cctcgcgtcc tcgggcgcgt ctggcccggt gctggtcgac atccccaagg 660
acatccagca gcagatggct gtgccagtct gggacacct gatgaatcta ccgggggtaca 720
ttgcacgcct gcccaagcca ccgcgcagc aattgcttga gcaggtctt cgtctggttg 780
gcgagtcacg gcgcgcgatt ctctatgtcg gtgggtggct ctctgcact ggtgatgaat 840
tgcgcgggtt tgttgagctg accggcatcc cagttacaac cactctgatg ggccctcgga 900
atttcccccag tgatgatccg ttgtccctgc gcattgcttg gatgcattgc acggtgtacg 960
caaattatgc ggtggataag gctgacctgt tgcttgcat tggcgtgcgg ttgatgatc 1020
gtgtgacagc gaaaattgag gcttttgcaa gcagggccaa gattgtgcac attgacattg 1080
atccagcgga gattggaaag aacaagcaac cacatgtgtc aatttgcgca gatgttaagc 1140
ttgctttaca gggcttgaat gctctgctag accagagcac acaaaagaca agttctgatt 1200
ttagtgctg gcacaatgag ttggaccagc agaagaggga gtttctctg ggttacaaga 1260
cttttggtga agagatccca ccgcaatatg ctattcaggt gctggatgag ctgacgaaag 1320
gggaggcaat catcgtact ggtgttggac agcaccagat gtgggcggca caatattaca 1380
cctacaagcg gccacggcag tggctgtctt cggctggctt gggcgcaatg ggatttgggc 1440
tgctgtctgc agctggtgct tctgtggtta accaggtgt cacagttgtt gatattgatg 1500
gggatggtag ctctctcatg aacattcagg agttggcatt gatccgcatt gagaacctcc 1560
cgggtgaagg gatgtgttg aacaaccaac atttgggtat ggttgtgcaa tgggaggata 1620
ggttttacaa ggcaaatagg gcgcatacat acttgggcaa ccagaaatgt gagagtga 1680
tataccaga ttttgtgact attgctaaag gttcaatat tctgcagtc cgtgtaacaa 1740
agaagagtga agtcogtgc gccatcaaga agatgctga taccocagg ccatacttgt 1800
tggatatcat cgtccacac caggagcatg tgcgtcctat gatcccaag gggggcgcat 1860
tcaaggacat gatcctggat ggtgatggca ggactgtgta ttaattcata atctgtatgt 1920
tggcaagca ccagcccgcc 1940

```


<210> 2
 <211> 633
 <212> PRT
 <213> Oryza sativa

<400> 2

```

Leu Ser Ala Ala Ala Thr Ala Lys Thr Gly Arg Lys Asn His Gln Arg
 1           5           10           15

His His Val Phe Pro Ala Arg Gly Arg Val Gly Ala Ala Ala Val Arg
      20           25           30

Cys Ser Ala Val Ser Pro Val Thr Pro Pro Ser Pro Ala Pro Pro Ala
      35           40           45

Thr Pro Leu Arg Pro Trp Gly Pro Ala Glu Pro Arg Lys Gly Ala Asp
 50           55           60

Ile Leu Val Glu Ala Leu Glu Arg Cys Gly Val Ser Asp Val Phe Ala
 65           70           75           80

Tyr Pro Gly Gly Thr Ser Met Glu Ile His Gln Ala Leu Thr Arg Ser
      85           90           95

Pro Val Ile Thr Asn His Leu Phe Arg His Glu Gln Gly Glu Ala Phe
      100           105           110

Ala Ala Ser Gly Tyr Ala Arg Ala Ser Gly Arg Val Gly Val Cys Val
      115           120           125

Ala Thr Ser Gly Pro Gly Ala Thr Asn Leu Val Ser Ala Leu Ala Asp
      130           135           140

Ala Leu Leu Asp Ser Val Pro Met Val Ala Ile Thr Gly Gln Val Pro
      145           150           155           160

Arg Arg Met Ile Gly Thr Asp Ala Phe Gln Glu Thr Pro Ile Val Glu
      165           170           175

Val Thr Arg Ser Ile Thr Lys His Asn Tyr Leu Val Leu Asp Val Glu
      180           185           190

Asp Ile Pro Arg Val Ile Gln Glu Ala Phe Phe Leu Ala Ser Ser Gly
      195           200           205

Arg Pro Gly Pro Val Leu Val Asp Ile Pro Lys Asp Ile Gln Gln Gln
      210           215           220

Met Ala Val Pro Val Trp Asp Thr Ser Met Asn Leu Pro Gly Tyr Ile
      225           230           235           240

Ala Arg Leu Pro Lys Pro Pro Ala Thr Glu Leu Leu Glu Gln Val Leu
      245           250           255

Arg Leu Val Gly Glu Ser Arg Arg Pro Ile Leu Tyr Val Gly Gly Gly
      260           265           270

Cys Ser Ala Ser Gly Asp Glu Leu Arg Arg Phe Val Glu Leu Thr Gly
      275           280           285

Ile Pro Val Thr Thr Thr Leu Met Gly Leu Gly Asn Phe Pro Ser Asp
      290           295           300

```

Asp Pro Leu Ser Leu Arg Met Leu Gly Met His Gly Thr Val Tyr Ala
 305 310 315 320
 Asn Tyr Ala Val Asp Lys Ala Asp Leu Leu Leu Ala Phe Gly Val Arg
 325 330 335
 Phe Asp Asp Arg Val Thr Gly Lys Ile Glu Ala Phe Ala Ser Arg Ala
 340 345 350
 Lys Ile Val His Ile Asp Ile Asp Pro Ala Glu Ile Gly Lys Asn Lys
 355 360 365
 Gln Pro His Val Ser Ile Cys Ala Asp Val Lys Leu Ala Leu Gln Gly
 370 375 380
 Leu Asn Ala Leu Leu Asp Gln Ser Thr Thr Lys Thr Ser Ser Asp Phe
 385 390 395 400
 Ser Ala Trp His Asn Glu Leu Asp Gln Gln Lys Arg Glu Phe Pro Leu
 405 410 415
 Gly Tyr Lys Thr Phe Gly Glu Glu Ile Pro Pro Gln Tyr Ala Ile Gln
 420 425 430
 Val Leu Asp Glu Leu Thr Lys Gly Glu Ala Ile Ile Ala Thr Gly Val
 435 440 445
 Gly Gln His Gln Met Trp Ala Ala Gln Tyr Tyr Thr Tyr Lys Arg Pro
 450 455 460
 Arg Gln Trp Leu Ser Ser Ala Gly Leu Gly Ala Met Gly Phe Gly Leu
 465 470 475 480
 Pro Ala Ala Ala Gly Ala Ser Val Ala Asn Pro Gly Val Thr Val Val
 485 490 495
 Asp Ile Asp Gly Asp Gly Ser Phe Leu Met Asn Ile Gln Glu Leu Ala
 500 505 510
 Leu Ile Arg Ile Glu Asn Leu Pro Val Lys Val Met Val Leu Asn Asn
 515 520 525
 Gln His Leu Gly Met Val Val Gln Trp Glu Asp Arg Phe Tyr Lys Ala
 530 535 540
 Asn Arg Ala His Thr Tyr Leu Gly Asn Pro Glu Cys Glu Ser Glu Ile
 545 550 555 560
 Tyr Pro Asp Phe Val Thr Ile Ala Lys Gly Phe Asn Ile Pro Ala Val
 565 570 575
 Arg Val Thr Lys Lys Ser Glu Val Arg Ala Ala Ile Lys Lys Met Leu
 580 585 590
 Asp Thr Pro Gly Pro Tyr Leu Leu Asp Ile Ile Val Pro His Gln Glu
 595 600 605
 His Val Leu Pro Met Ile Pro Ser Gly Gly Ala Phe Lys Asp Met Ile
 610 615 620
 Leu Asp Gly Asp Gly Arg Thr Val Tyr
 625 630

<210> 3
 <211> 1925
 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*

<400> 3
 ccttgtccgc cgccgcgacg gccaaagaccg gccgtaagaa ccaccagcga caccacgtct 60
 ttcccgcctcg aggccgggtg ggggcggcgg cggtcaggtg ctcggcggtg tcccgggtca 120
 ccccgccgctc ccgggcgcgg ccggccacgc cgctccggcc gtgggggccc gccgagcccc 180
 gcaagggcgc ggacatcctc gtggaggcgc tggagcggtg cggcgctcagc gacgtgttcg 240
 cctaccggg cggcacgtcc atggagatcc accaggcgct gacgcgtccc ccggtcatca 300
 ccaaccacct ctccgccac gagcagggcg aggcgttcgc ggcgtccggg tacgcgcgcg 360
 cgtccggccc cgctcggggtc tgcgtcgcca cctccggccc cggggcaacc aacctcgtgt 420
 ccgcgctcgc cgacgcgctg ctgcactccg tcccgatggt cgccatcacg ggccagggtcc 480
 cccgcccgcg gatcggcacc gacgccttcc aggagacgcc catagtcgag gtcacccgct 540
 ccatcaccaa gcacaattac cttgtccttg atgtggagga catccccgc gtcatacagg 600
 aagccttctt cctcgcgtcc tcgggcccgc ctggcccggg gctggtcgac atccccagg 660
 acatccagca gcagatggct gtgccagtct gggacacctc gatgaatcta ccgggggtaca 720
 ttgcacgcct gcccaagcca cccgcgacag aattgcttga gcaggtcctg cgtctggtt 780
 gcgagtcacg gcgcccgatt ctctatgtcg gtggtggctg ctctgcatct ggtgatgaat 840
 tgcgccggtt tgttgagctg accggcatcc cagttacaac cactctgatg ggccctcggca 900
 atttccccag tgatgatccg ttgtccctgc gcatgcttgg gatgcatggc acggtgtacg 960
 caaattatgc ggtggataag gctgacctgt tgcttgcat tggcgtgcgg tttgatgatc 1020
 gtgtgacagg gaaaattgag gcttttgcaa gcagggccaa gattgtgcac attgacattg 1080
 atccagcgga gattggaaag aacaagcaac cacatgtgtc aatttgcgca gatgttaagc 1140
 ttgctttaca gggcttgaat gctctgctag accagagcac aacaaagaca agttctgatt 1200
 ttagtgctg gcacaatgag ttggaccagc agaagaggga gtttcctctg ggggtacaaga 1260
 cttttggtga agagatccca ccgcaatatg ctattcagggt gctggatgag ctgacgaaag 1320
 gggaggcaat catcgctact ggtgttggac agcaccagat gtgggcggca caatattaca 1380
 cctacaagcg gccacggcag tggctgtctt cggctggtct gggcgcaatg ggatttgggc 1440
 tgcctgctgc agctgggtct tctgtggcta acccagggtg cacagtgtgt gatattgatg 1500
 gggatggtag cttcctcatg aacattcagg agttggcatt gatccgcatt gagaacctcc 1560
 cgggtgaaggt gatggtgttg aacaaccaac atttgggtat ggttgtgcaa tgggaggata 1620
 ggtttttaca ggcaaataag gcgcatacat acttgggcaa ccagaatgt gagagtgaga 1680
 tatatccaga ttttgtgact attgctaaag ggttcaatat tcctgcagtc cgtgtaacaa 1740
 agaagagtga agtccgtgcc gccatcaaga agatgctcga taccacaggg ccatacttgt 1800
 tggatatcat cgtcccacac caggagcatg tgctgcctat gatcccaagt gggggcgcat 1860
 tcaaggacat gatcctggat ggtgatggca ggactgtgta ttaatctata atctgtatgt 1920
 tggca 1925

<210> 4
 <211> 633
 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*

<400> 4
 Leu Ser Ala Ala Ala Thr Ala Lys Thr Gly Arg Lys Asn His Gln Arg
 1 5 10 15
 His His Val Phe Pro Ala Arg Gly Arg Val Gly Ala Ala Ala Val Arg
 20 25 30
 Cys Ser Ala Val Ser Pro Val Thr Pro Pro Ser Pro Ala Pro Pro Ala
 35 40 45
 Thr Pro Leu Arg Pro Trp Gly Pro Ala Glu Pro Arg Lys Gly Ala Asp
 50 55 60
 Ile Leu Val Glu Ala Leu Glu Arg Cys Gly Val Ser Asp Val Phe Ala
 65 70 75 80

Tyr Pro Gly Gly Thr Ser Met Glu Ile His Gln Ala Leu Thr Arg Ser
 85 90 95
 Pro Val Ile Thr Asn His Leu Phe Arg His Glu Gln Gly Glu Ala Phe
 100 105 110
 Ala Ala Ser Gly Tyr Ala Arg Ala Ser Gly Arg Val Gly Val Cys Val
 115 120 125
 Ala Thr Ser Gly Pro Gly Ala Thr Asn Leu Val Ser Ala Leu Ala Asp
 130 135 140
 Ala Leu Leu Asp Ser Val Pro Met Val Ala Ile Thr Gly Gln Val Pro
 145 150 155 160
 Arg Arg Met Ile Gly Thr Asp Ala Phe Gln Glu Thr Pro Ile Val Glu
 165 170 175
 Val Thr Arg Ser Ile Thr Lys His Asn Tyr Leu Val Leu Asp Val Glu
 180 185 190
 Asp Ile Pro Arg Val Ile Gln Glu Ala Phe Phe Leu Ala Ser Ser Gly
 195 200 205
 Arg Pro Gly Pro Val Leu Val Asp Ile Pro Lys Asp Ile Gln Gln Gln
 210 215 220
 Met Ala Val Pro Val Trp Asp Thr Ser Met Asn Leu Pro Gly Tyr Ile
 225 230 235 240
 Ala Arg Leu Pro Lys Pro Pro Ala Thr Glu Leu Leu Glu Gln Val Leu
 245 250 255
 Arg Leu Val Gly Glu Ser Arg Arg Pro Ile Leu Tyr Val Gly Gly Gly
 260 265 270
 Cys Ser Ala Ser Gly Asp Glu Leu Arg Arg Phe Val Glu Leu Thr Gly
 275 280 285
 Ile Pro Val Thr Thr Thr Leu Met Gly Leu Gly Asn Phe Pro Ser Asp
 290 295 300
 Asp Pro Leu Ser Leu Arg Met Leu Gly Met His Gly Thr Val Tyr Ala
 305 310 315 320
 Asn Tyr Ala Val Asp Lys Ala Asp Leu Leu Leu Ala Phe Gly Val Arg
 325 330 335
 Phe Asp Asp Arg Val Thr Gly Lys Ile Glu Ala Phe Ala Ser Arg Ala
 340 345 350
 Lys Ile Val His Ile Asp Ile Asp Pro Ala Glu Ile Gly Lys Asn Lys
 355 360 365
 Gln Pro His Val Ser Ile Cys Ala Asp Val Lys Leu Ala Leu Gln Gly
 370 375 380
 Leu Asn Ala Leu Leu Asp Gln Ser Thr Thr Lys Thr Ser Ser Asp Phe
 385 390 395 400
 Ser Ala Trp His Asn Glu Leu Asp Gln Gln Lys Arg Glu Phe Pro Leu
 405 410 415

Gly Tyr Lys Thr Phe Gly Glu Glu Ile Pro Pro Gln Tyr Ala Ile Gln
420 425 430

Val Leu Asp Glu Leu Thr Lys Gly Glu Ala Ile Ile Ala Thr Gly Val
435 440 445

Gly Gln His Gln Met Trp Ala Ala Gln Tyr Tyr Thr Tyr Lys Arg Pro
450 455 460

Arg Gln Trp Leu Ser Ser Ala Gly Leu Gly Ala Met Gly Phe Gly Leu
465 470 475 480

Pro Ala Ala Ala Gly Ala Ser Val Ala Asn Pro Gly Val Thr Val Val
485 490 495

Asp Ile Asp Gly Asp Gly Ser Phe Leu Met Asn Ile Gln Glu Leu Ala
500 505 510

Leu Ile Arg Ile Glu Asn Leu Pro Val Lys Val Met Val Leu Asn Asn
515 520 525

Gln His Leu Gly Met Val Val Gln Trp Glu Asp Arg Phe Tyr Lys Ala
530 535 540

Asn Arg Ala His Thr Tyr Leu Gly Asn Pro Glu Cys Glu Ser Glu Ile
545 550 555 560

Tyr Pro Asp Phe Val Thr Ile Ala Lys Gly Phe Asn Ile Pro Ala Val
565 570 575

Arg Val Thr Lys Lys Ser Glu Val Arg Ala Ala Ile Lys Lys Met Leu
580 585 590

Asp Thr Pro Gly Pro Tyr Leu Leu Asp Ile Ile Val Pro His Gln Glu
595 600 605

His Val Leu Pro Met Ile Pro Ser Gly Gly Ala Phe Lys Asp Met Ile
610 615 620

Leu Asp Gly Asp Gly Arg Thr Val Tyr
625 630

<210> 5

<211> 1916

<212> ADN

<213> Oryza sativa

<400> 5

gcggccgcgg ccgccacctt gtccgcgcgc gcgacggcca agaccggccg taagaaccac 60
cagcgacacc acgtctttcc cgctcgaggc cgggtggggg cggcggcggt caggtgctcg 120
gcggtgtccc cggtcacccc gccgtccccg gcgcgcgcgc ccacgccgct ccggccgtgg 180
gggcgggccc agccccgcaa gggcgcgagc atcctcgtgg aggcgctgga gcggtgcggc 240
gtcagcgacg tggtcgcta cccgggcggc acgtccatgg agatccacca ggcgctgacg 300
cgctccccgg tcatcaccaa ccacctcttc cgccacgagc agggcgaggc gttcgcgggc 360
tccgggtacg cgcgcgcgtc cggccgcgtc ggggtctgcg tcgccacctc cggccccggg 420
gcaaccaacc tcgtgtccgc gctcgccgac ggcgtgctcg actccgtccc gatggtcgcc 480
atcacgggcc aggtcccccg ccgcatgac gccaccgacg ccttcaggga gacgcccata 540
gtcgaggtca cccgctccat caccaagcac aattaccttg tccttgatgt ggaggacatc 600
cccgcgtca tacaggaagc cttcttcctc gcgtcctcgg gccgtcctgg ccggtgctg 660
gtcgacatcc ccaaggacat ccagcagcag atggctgtgc cagtctggga cacctcgatg 720
aatctaccgg ggtacattgc acgcctgccc aagccaccgg cgacagaatt gcttgagcag 780

```

gtcttgcgtc tggttggcga gtcacggcgc cggattctct atgtcgggtg tggctgctct 840
gcatctggtg atgaattgcg ccggtttggt gagctgaccg gcatcccagt tacaaccact 900
ctgatggggc tcggcaattt cccagtgat gatccgttgt ccctgcgcat gcttgggatg 960
catggcacgg tgtacgcaaa ttatgcggtg gataaggctg acctgttgct tgcatttggc 1020
gtgcgggttg atgatcgtgt gacagggaaa attgaggctt ttgcaagcag ggccaagatt 1080
gtgcacattg acattgatcc agcggagatt ggaaagaaca agcaaccaca tgtgtcaatt 1140
tgcgcgatg ttaagcttgc tttacagggc ttgaatgctc tgctagacca gagcacaaca 1200
aagacaagtt ctgattttag tgcgtggcac aatgagttgg accagcagaa gagggagttt 1260
cctctggggg acaagacttt tgggtgaagag atcccaccgc aatatgctat tcagggtgctg 1320
gatgagctga cgaaagggga ggcaatcatc gctactggtg ttggacagca ccagatgtgg 1380
gcggcacaaat attacaccta caagcggcca cggcagtggt tgtcttcggc tggctcgggc 1440
gcaatgggat ttgggctgcc tgctgcagct ggtgcttctg tggctaacc aggtgtcaca 1500
gttgttgata ttgatgggga tggtagcttc ctcatgaaca ttcaggagtt ggcatgtac 1560
cgcattgaga acctcccggt gaagtgatg gtgttgaaca accaacattt gggtatgggt 1620
gtgcaatggg aggataggtt ttacaaggca aataggcgcc atacatactt gggcaacca 1680
gaatgtgaga gtgagatata tccagatttt gtgactattg ctaaagggtt caatattcct 1740
gcagtccgtg taacaaagaa gagtgaagtc cgtgccgcca tcaagaagat gctcgatacc 1800
ccagggccat acttgttgga tatcatcgtc ccacaccagg agcatgtgct gcctatgatc 1860
ccaagtgggg gcgcattcaa ggacatgatc ctggatggtg atggcaggac tgtgta 1916

```

<210> 6

<211> 638

<212> PRT

<213> *Oryza sativa*

<400> 6

Ala Ala Ala Ala Ala Thr Leu Ser Ala Ala Ala Thr Ala Lys Thr Gly
 1 5 10 15

Arg Lys Asn His Gln Arg His His Val Phe Pro Ala Arg Gly Arg Val
 20 25 30

Gly Ala Ala Ala Val Arg Cys Ser Ala Val Ser Pro Val Thr Pro Pro
 35 40 45

Ser Pro Ala Pro Pro Ala Thr Pro Leu Arg Pro Trp Gly Pro Ala Glu
 50 55 60

Pro Arg Lys Gly Ala Asp Ile Leu Val Glu Ala Leu Glu Arg Cys Gly
 65 70 75 80

Val Ser Asp Val Phe Ala Tyr Pro Gly Gly Thr Ser Met Glu Ile His
 85 90 95

Gln Ala Leu Thr Arg Ser Pro Val Ile Thr Asn His Leu Phe Arg His
 100 105 110

Glu Gln Gly Glu Ala Phe Ala Ala Ser Gly Tyr Ala Arg Ala Ser Gly
 115 120 125

Arg Val Gly Val Cys Val Ala Thr Ser Gly Pro Gly Ala Thr Asn Leu
 130 135 140

Val Ser Ala Leu Ala Asp Ala Leu Leu Asp Ser Val Pro Met Val Ala
 145 150 155 160

Ile Thr Gly Gln Val Pro Arg Arg Met Ile Gly Thr Asp Ala Phe Gln
 165 170 175

Glu Thr Pro Ile Val Glu Val Thr Arg Ser Ile Thr Lys His Asn Tyr
 180 185 190

Leu Val Leu Asp Val Glu Asp Ile Pro Arg Val Ile Gln Glu Ala Phe
 195 200 205
 Phe Leu Ala Ser Ser Gly Arg Pro Gly Pro Val Leu Val Asp Ile Pro
 210 215 220
 Lys Asp Ile Gln Gln Gln Met Ala Val Pro Val Trp Asp Thr Ser Met
 225 230 235 240
 Asn Leu Pro Gly Tyr Ile Ala Arg Leu Pro Lys Pro Pro Ala Thr Glu
 245 250 255
 Leu Leu Glu Gln Val Leu Arg Leu Val Gly Glu Ser Arg Arg Pro Ile
 260 265 270
 Leu Tyr Val Gly Gly Gly Cys Ser Ala Ser Gly Asp Glu Leu Arg Arg
 275 280 285
 Phe Val Glu Leu Thr Gly Ile Pro Val Thr Thr Thr Leu Met Gly Leu
 290 295 300
 Gly Asn Phe Pro Ser Asp Asp Pro Leu Ser Leu Arg Met Leu Gly Met
 305 310 315 320
 His Gly Thr Val Tyr Ala Asn Tyr Ala Val Asp Lys Ala Asp Leu Leu
 325 330 335
 Leu Ala Phe Gly Val Arg Phe Asp Asp Arg Val Thr Gly Lys Ile Glu
 340 345 350
 Ala Phe Ala Ser Arg Ala Lys Ile Val His Ile Asp Ile Asp Pro Ala
 355 360 365
 Glu Ile Gly Lys Asn Lys Gln Pro His Val Ser Ile Cys Ala Asp Val
 370 375 380
 Lys Leu Ala Leu Gln Gly Leu Asn Ala Leu Leu Asp Gln Ser Thr Thr
 385 390 395 400
 Lys Thr Ser Ser Asp Phe Ser Ala Trp His Asn Glu Leu Asp Gln Gln
 405 410 415
 Lys Arg Glu Phe Pro Leu Gly Tyr Lys Thr Phe Gly Glu Glu Ile Pro
 420 425 430
 Pro Gln Tyr Ala Ile Gln Val Leu Asp Glu Leu Thr Lys Gly Glu Ala
 435 440 445
 Ile Ile Ala Thr Gly Val Gly Gln His Gln Met Trp Ala Ala Gln Tyr
 450 455 460
 Tyr Thr Tyr Lys Arg Pro Arg Gln Trp Leu Ser Ser Ala Gly Leu Gly
 465 470 475 480
 Ala Met Gly Phe Gly Leu Pro Ala Ala Ala Gly Ala Ser Val Ala Asn
 485 490 495
 Pro Gly Val Thr Val Val Asp Ile Asp Gly Asp Gly Ser Phe Leu Met
 500 505 510
 Asn Ile Gln Glu Leu Ala Leu Ile Arg Ile Glu Asn Leu Pro Val Lys
 515 520 525

Val Met Val Leu Asn Asn Gln His Leu Gly Met Val Val Gln Trp Glu
530 535 540

Asp Arg Phe Tyr Lys Ala Asn Arg Ala His Thr Tyr Leu Gly Asn Pro
545 550 555 560

Glu Cys Glu Ser Glu Ile Tyr Pro Asp Phe Val Thr Ile Ala Lys Gly
565 570 575

Phe Asn Ile Pro Ala Val Arg Val Thr Lys Lys Ser Glu Val Arg Ala
580 585 590

Ala Ile Lys Lys Met Leu Asp Thr Pro Gly Pro Tyr Leu Leu Asp Ile
595 600 605

Ile Val Pro His Gln Glu His Val Leu Pro Met Ile Pro Ser Gly Gly
610 615 620

Ala Phe Lys Asp Met Ile Leu Asp Gly Asp Gly Arg Thr Val
625 630 635

<210> 7
<211> 1986
<212> ADN
<213> *Oryza sativa*

<400> 7
atggctacga cgcgcgcggc cgcggccgcc accttggtccg cgcgcgcgcac ggccaagacc 60
ggccgtaaga accaccagcg acaccacgtc tttcccgcgc gaggcgcggg gggggcggcg 120
gcggtcagggt gtcgcggcgg gtccccgggc accccgcgcgt ccccggcgcc gccggccacg 180
ccgctccggc cgtggggggc ggccgagccc cgcaaggggc cggacatcct cgtggaggcg 240
ctggagcggg gcggcgctcag cgacgtgttc gcctaccgg gcggcgcgct catggagatc 300
caccaggcgc tgacgcgcgc cccggtcac accaaccacc tcttcgcga cgagcagggc 360
gaggcggttc cgcgcgtccg gtacgcgcgc gcgtccggcc gcgtcgggg ctgcgtcgcc 420
acctccggcc ccggggcaac caacctcgtg tccgcgcgtc ccgacgcgt gctcgactcc 480
gtcccgatgg tcgccatcac gggccaggtc cccgcgcga tgatcggcac cgacgccttc 540
caggagacgc ccatagtoga ggtcacccgc tccatcacca agcacaatta ccttgctcct 600
gatgtggagg acatcccccg cgtcatacag gaagccttct tctcgcgtc ctcgggcgt 660
cctggcccgg tgctggctga catccccaag gacatccagc agcagatggc tgtgccagtc 720
tgggacacct cgtatgaatc accgggggtac attgcacgcc tgccaagcc accgcgcaca 780
gaattgcttg agcaggtctt gcgtctggtt ggcgagtcac ggcgcgccgat tctctatgtc 840
gggtggtggc gctctgcac tggtgatgaa ttgcgcgggt ttgttgagct gaccggcatc 900
ccagttacaa ccaactctgat gggcctcggc aatttcccca gtgatgatcc gttgtccctg 960
cgcatgcttg ggatgcatgg cacgggtgtac gcaaattatg cgggtggataa ggctgacctg 1020
ttgcttgcat ttggcgtgcg gtttgatgat cgtgtgacag ggaaaattga ggcttttgca 1080
agcaggggca agattgtgca cattgacatt gatccagcgg agattggaaa gaacaagcaa 1140
ccacatgtgt caatttgcgc agatgttaag cttgctttac agggcttgaa tgctctgcta 1200
gaccagagca caacaaagac aagttctgat tttagtgctg ggcacaatga gttggaccag 1260
cagaagaggg agtttctctt ggggtacaag acttttggtg aagagatccc accgcaatat 1320
gctattcagg tgctggatga gctgacgaaa ggggaggcaa tcatcgctac tgggttgga 1380
cagcaccaga ttggggcggc acaatattac acctacaagc ggccacggca gtggctgtct 1440
tcggctgggtc tgggcgcaat gggatttggg ctgcctgctg cagctgggtc ttctgtggct 1500
aaccocaggg tcacagttgt tgatattgat ggggatggta gcttcctcat gaacattcag 1560
gagttggcat tgatccgcat tgagaacctc ccggtgaagg tgatgggtgt gaacaaccaa 1620
catttgggta tggttgtgca atgggaggat aggttttaca aggcaaatag ggcgcataca 1680
tacttgggca acccagaatg tgagagttag atatatccag attttgtgac tattgctaaa 1740
gggttcaata ttcctgcagt ccgtgtaaca aagaagagtg aagtccgtgc cgccatcaag 1800
aagatgctcg ataccccagg gccatacttg ttggatatca tcgtcccaca ccaggagcat 1860
gtgctgccta tgatcccaag tgggggcgca ttcaaggaca tgatcctgga tggatgaggc 1920
aggactgtgt attaactat aatctgtatg ttggcaaagc accagcccgg cctatgtttg 1980
acctga 1986

<210> 8
 <211> 644
 <212> PRT
 <213> Oryza sativa

<400> 8
 Met Ala Thr Thr Ala Ala Ala Ala Ala Thr Leu Ser Ala Ala Ala
 1 5 10 15
 Thr Ala Lys Thr Gly Arg Lys Asn His Gln Arg His His Val Phe Pro
 20 25 30
 Ala Arg Gly Arg Val Gly Ala Ala Ala Val Arg Cys Ser Ala Val Ser
 35 40 45
 Pro Val Thr Pro Pro Ser Pro Ala Pro Pro Ala Thr Pro Leu Arg Pro
 50 55 60
 Trp Gly Pro Ala Glu Pro Arg Lys Gly Ala Asp Ile Leu Val Glu Ala
 65 70 75 80
 Leu Glu Arg Cys Gly Val Ser Asp Val Phe Ala Tyr Pro Gly Gly Ala
 85 90 95
 Ser Met Glu Ile His Gln Ala Leu Thr Arg Ser Pro Val Ile Thr Asn
 100 105 110
 His Leu Phe Arg His Glu Gln Gly Glu Ala Phe Ala Ala Ser Gly Tyr
 115 120 125
 Ala Arg Ala Ser Gly Arg Val Gly Val Cys Val Ala Thr Ser Gly Pro
 130 135 140
 Gly Ala Thr Asn Leu Val Ser Ala Leu Ala Asp Ala Leu Leu Asp Ser
 145 150 155 160
 Val Pro Met Val Ala Ile Thr Gly Gln Val Pro Arg Arg Met Ile Gly
 165 170 175
 Thr Asp Ala Phe Gln Glu Thr Pro Ile Val Glu Val Thr Arg Ser Ile
 180 185 190
 Thr Lys His Asn Tyr Leu Val Leu Asp Val Glu Asp Ile Pro Arg Val
 195 200 205
 Ile Gln Glu Ala Phe Phe Leu Ala Ser Ser Gly Arg Pro Gly Pro Val
 210 215 220
 Leu Val Asp Ile Pro Lys Asp Ile Gln Gln Gln Met Ala Val Pro Val
 225 230 235 240
 Trp Asp Thr Ser Met Asn Leu Pro Gly Tyr Ile Ala Arg Leu Pro Lys
 245 250 255
 Pro Pro Ala Thr Glu Leu Leu Glu Gln Val Leu Arg Leu Val Gly Glu
 260 265 270
 Ser Arg Arg Pro Ile Leu Tyr Val Gly Gly Gly Cys Ser Ala Ser Gly
 275 280 285
 Asp Glu Leu Arg Arg Phe Val Glu Leu Thr Gly Ile Pro Val Thr Thr
 290 295 300

Thr Leu Met Gly Leu Gly Asn Phe Pro Ser Asp Asp Pro Leu Ser Leu
 305 310 315 320
 Arg Met Leu Gly Met His Gly Thr Val Tyr Ala Asn Tyr Ala Val Asp
 325 330 335
 Lys Ala Asp Leu Leu Leu Ala Phe Gly Val Arg Phe Asp Asp Arg Val
 340 345 350
 Thr Gly Lys Ile Glu Ala Phe Ala Ser Arg Ala Lys Ile Val His Ile
 355 360 365
 Asp Ile Asp Pro Ala Glu Ile Gly Lys Asn Lys Gln Pro His Val Ser
 370 375 380
 Ile Cys Ala Asp Val Lys Leu Ala Leu Gln Gly Leu Asn Ala Leu Leu
 385 390 395 400
 Asp Gln Ser Thr Thr Lys Thr Ser Ser Asp Phe Ser Ala Trp His Asn
 405 410 415
 Glu Leu Asp Gln Gln Lys Arg Glu Phe Pro Leu Gly Tyr Lys Thr Phe
 420 425 430
 Gly Glu Glu Ile Pro Pro Gln Tyr Ala Ile Gln Val Leu Asp Glu Leu
 435 440 445
 Thr Lys Gly Glu Ala Ile Ile Ala Thr Gly Val Gly Gln His Gln Met
 450 455 460
 Trp Ala Ala Gln Tyr Tyr Thr Tyr Lys Arg Pro Arg Gln Trp Leu Ser
 465 470 475 480
 Ser Ala Gly Leu Gly Ala Met Gly Phe Gly Leu Pro Ala Ala Ala Gly
 485 490 495
 Ala Ser Val Ala Asn Pro Gly Val Thr Val Val Asp Ile Asp Gly Asp
 500 505 510
 Gly Ser Phe Leu Met Asn Ile Gln Glu Leu Ala Leu Ile Arg Ile Glu
 515 520 525
 Asn Leu Pro Val Lys Val Met Val Leu Asn Asn Gln His Leu Gly Met
 530 535 540
 Val Val Gln Trp Glu Asp Arg Phe Tyr Lys Ala Asn Arg Ala His Thr
 545 550 555 560
 Tyr Leu Gly Asn Pro Glu Cys Glu Ser Glu Ile Tyr Pro Asp Phe Val
 565 570 575
 Thr Ile Ala Lys Gly Phe Asn Ile Pro Ala Val Arg Val Thr Lys Lys
 580 585 590
 Ser Glu Val Arg Ala Ala Ile Lys Lys Met Leu Asp Thr Pro Gly Pro
 595 600 605
 Tyr Leu Leu Asp Ile Ile Val Pro His Gln Glu His Val Leu Pro Met
 610 615 620
 Ile Pro Ser Gly Gly Ala Phe Lys Asp Met Ile Leu Asp Gly Asp Gly
 625 630 635 640

Arg Thr Val Tyr

<210> 9
 <211> 1956
 <212> ADN
 <213> Chuỗi nhân tạo

<220>
 <223> Mô tả chuỗi nhân tạo: chuỗi Oryza đồng thuận

<400> 9
 gcggccgcgg cgcgccacgt gtcgcgcgcc gcgacggcca agaccggccg taagaaccac 60
 cagcgacacc acgtctttcc cgtcgcaggg cgggtggggg cggcgccggt caggtgctcg 120
 gcgggtgtccc cggtaacccc gcgtgcccg gcgcccgcgg ccacgccgct cgggcccgtg 180
 gggccggccg agccccgcaa gggcgcggac atcctcgtgg aggcgctgga gcgggtgcggc 240
 gtcagcgacg tgttcgccta cccgggcggc acgtccatgg agatccacca ggcgctgacg 300
 cgtccccggg tcatcaccaa ccacctcttc cgcacagagc agggcgaggc gttcgcggcg 360
 tccgggtacg cgcgcgcgtc cgcgcgcgtc ggggtctgcg tcgccacctc cggccccggg 420
 gcaaccaacc tcgtgtccgc gctgcgcgac gcgctgctcg actccgtccc gatggtcgcc 480
 atcagcggcc aggtcccccg cgcctatgac ggcacgcagc cctccaggga gacgcccata 540
 gtcgagggtca cccgctccat caccagcac aattaccttg tcttgatgt ggaggacac 600
 cccgcgctca tacaggaagc cttcttcctc gcgtccctcg gccgtcctgg cccggtgctg 660
 gtcgacatcc ccaaggacat ccagcagcag atggctgtgc cagtctggga cacctcgatg 720
 aatctaccgg ggtacattgc acgcctgccc aagccaccgg cgacagaatt gcttgagcag 780
 gtcttgctgc tgggtggcga gtcacggcgc ccgattctct atgtcgggtg tggctgctct 840
 gcatctggtg atgaattgcg ccggtttgtt gacgtgacgg gcatcccagt tacaaccact 900
 ctgatggggc tcggcaattt cccagtgat gatccgttgt cctgcgcgat gcttgggatg 960
 catggcacgg tgtacgcaaa ttatgcggtg gataaggctg acctgttgct tgcatttggc 1020
 gtgcgggttg atgatcgtgt gacagggaaa attgaggctt ttgcaagcag ggccaagatt 1080
 gtgcacattg acattgatcc agcggagatt ggaaagaaca agcaaccaca tgtgtcaatt 1140
 tgccagatg ttaagcttgc ttacagggc ttgaatgctc tgctagacca gacacaaca 1200
 aagacaagtt ctgattttag tgcgtggcac aatgagttgg accagcagaa gagggagttt 1260
 cctctggggt acaagacttt tggtagaag atccaccgc aatatgctat tcagggtgctg 1320
 gatgagctga cgaaggggga ggcaatcacc gctactgggt ttggacagca ccagatgtgg 1380
 gcggcacaaat attacacct caagcggcca cggcagtggc tgtcttcggc tggctcgggc 1440
 gcaatgggat ttgggtgtgc tgcgcagct ggtgctctg tggctaacc aggtgtcaca 1500
 gttgttgata ttgatgggga tggtagcttc ctcataaaca ttacaggagt ggcatgtatc 1560
 cgcattgaga acctcccggt gaaggtgatg gtgttgaaca accaacattt gggatgtgtt 1620
 gtgcaatggg aggataggtt ttacaaggca aataggcgcc atacatactt gggcaaccac 1680
 gaatgtgaga gtgagatata tccagatttt gtgactattg ctaaagggtt caatattcct 1740
 gcagtcctgt taacaaagaa gactgaagtc cgtgccgcc tcaagaagat gctcgatacc 1800
 ccaggggcat acttgttga tatcatcgtc ccacaccagg agcatgtgct gcctatgac 1860
 ccaagtgggg gcgcattcaa ggacatgac ctggatgggt atggcaggac tgtgtattaa 1920
 tctataatct gtatgttggc aaagcaccag cccggc 1956

<210> 10
 <211> 639
 <212> PRT
 <213> Chuỗi nhân tạo
 <220>
 <223> Mô tả chuỗi nhân tạo: chuỗi Oryza đồng thuận

<400> 10
 Ala Ala Ala Ala Thr Leu Ser Ala Ala Ala Thr Ala Lys Thr Gly
 1 5 10 15

Arg Lys Asn His Gln Arg His His Val Phe Pro Ala Arg Gly Arg Val
 20 25 30
 Gly Ala Ala Ala Val Arg Cys Ser Ala Val Ser Pro Val Thr Pro Pro
 35 40 45
 Ser Pro Ala Pro Pro Ala Thr Pro Leu Arg Pro Trp Gly Pro Ala Glu
 50 55 60
 Pro Arg Lys Gly Ala Asp Ile Leu Val Glu Ala Leu Glu Arg Cys Gly
 65 70 75 80
 Val Ser Asp Val Phe Ala Tyr Pro Gly Gly Thr Ser Met Glu Ile His
 85 90 95
 Gln Ala Leu Thr Arg Ser Pro Val Ile Thr Asn His Leu Phe Arg His
 100 105 110
 Glu Gln Gly Glu Ala Phe Ala Ala Ser Gly Tyr Ala Arg Ala Ser Gly
 115 120 125
 Arg Val Gly Val Cys Val Ala Thr Ser Gly Pro Gly Ala Thr Asn Leu
 130 135 140
 Val Ser Ala Leu Ala Asp Ala Leu Leu Asp Ser Val Pro Met Val Ala
 145 150 155 160
 Ile Thr Gly Gln Val Pro Arg Arg Met Ile Gly Thr Asp Ala Phe Gln
 165 170 175
 Glu Thr Pro Ile Val Glu Val Thr Arg Ser Ile Thr Lys His Asn Tyr
 180 185 190
 Leu Val Leu Asp Val Glu Asp Ile Pro Arg Val Ile Gln Glu Ala Phe
 195 200 205
 Phe Leu Ala Ser Ser Gly Arg Pro Gly Pro Val Leu Val Asp Ile Pro
 210 215 220
 Lys Asp Ile Gln Gln Gln Met Ala Val Pro Val Trp Asp Thr Ser Met
 225 230 235 240
 Asn Leu Pro Gly Tyr Ile Ala Arg Leu Pro Lys Pro Pro Ala Thr Glu
 245 250 255
 Leu Leu Glu Gln Val Leu Arg Leu Val Gly Glu Ser Arg Arg Pro Ile
 260 265 270
 Leu Tyr Val Gly Gly Gly Cys Ser Ala Ser Gly Asp Glu Leu Arg Arg
 275 280 285
 Phe Val Glu Leu Thr Gly Ile Pro Val Thr Thr Thr Leu Met Gly Leu
 290 295 300
 Gly Asn Phe Pro Ser Asp Asp Pro Leu Ser Leu Arg Met Leu Gly Met
 305 310 315 320
 His Gly Thr Val Tyr Ala Asn Tyr Ala Val Asp Lys Ala Asp Leu Leu
 325 330 335
 Leu Ala Phe Gly Val Arg Phe Asp Asp Arg Val Thr Gly Lys Ile Glu
 340 345 350

Ala Phe Ala Ser Arg Ala Lys Ile Val His Ile Asp Ile Asp Pro Ala
 355 360 365
 Glu Ile Gly Lys Asn Lys Gln Pro His Val Ser Ile Cys Ala Asp Val
 370 375 380
 Lys Leu Ala Leu Gln Gly Leu Asn Ala Leu Leu Asp Gln Ser Thr Thr
 385 390 395 400
 Lys Thr Ser Ser Asp Phe Ser Ala Trp His Asn Glu Leu Asp Gln Gln
 405 410 415
 Lys Arg Glu Phe Pro Leu Gly Tyr Lys Thr Phe Gly Glu Glu Ile Pro
 420 425 430
 Pro Gln Tyr Ala Ile Gln Val Leu Asp Glu Leu Thr Lys Gly Glu Ala
 435 440 445
 Ile Ile Ala Thr Gly Val Gly Gln His Gln Met Trp Ala Ala Gln Tyr
 450 455 460
 Tyr Thr Tyr Lys Arg Pro Arg Gln Trp Leu Ser Ser Ala Gly Leu Gly
 465 470 475 480
 Ala Met Gly Phe Gly Leu Pro Ala Ala Ala Gly Ala Ser Val Ala Asn
 485 490 495
 Pro Gly Val Thr Val Val Asp Ile Asp Gly Asp Gly Ser Phe Leu Met
 500 505 510
 Asn Ile Gln Glu Leu Ala Leu Ile Arg Ile Glu Asn Leu Pro Val Lys
 515 520 525
 Val Met Val Leu Asn Asn Gln His Leu Gly Met Val Val Gln Trp Glu
 530 535 540
 Asp Arg Phe Tyr Lys Ala Asn Arg Ala His Thr Tyr Leu Gly Asn Pro
 545 550 555 560
 Glu Cys Glu Ser Glu Ile Tyr Pro Asp Phe Val Thr Ile Ala Lys Gly
 565 570 575
 Phe Asn Ile Pro Ala Val Arg Val Thr Lys Lys Ser Glu Val Arg Ala
 580 585 590
 Ala Ile Lys Lys Met Leu Asp Thr Pro Gly Pro Tyr Leu Leu Asp Ile
 595 600 605
 Ile Val Pro His Gln Glu His Val Leu Pro Met Ile Pro Ser Gly Gly
 610 615 620
 Ala Phe Lys Asp Met Ile Leu Asp Gly Asp Gly Arg Thr Val Tyr
 625 630 635

<210> 11
 <211> 1936
 <212> ADN
 <213> Oryza sativa

<400> 11

```

atggctacga ccgcccgcgc cgccggccgc accttgtccg ccgcccgcgc ggccaagacc 60
ggccgtaaga accaccagcg acaccacgtc tttcccgcgc gagggccgggt gggggcggcg 120
gcggtcaggt gctcggcggt gtccccgggc acccgccgt ccccgccgc gccggccacg 180
ccgctccggc cgtggggggc ggccgagccc cgcaaggcg cgacatcct cgtggagcg 240
ctggagcggg gcggcgctcag cgacgtgttc gcctaccgg gcggcacgtc catggagatc 300
caccaggcgc tgacgcgctc cccggtcacc accaaccacc tcttcgcga cgagcagggc 360
gaggcggttc cggcgtccgc gtacgcgcgc gcgtccggcc gcgtcggggg ctgcgtcgcc 420
acctccggcc ccggggcaac caacctcgtg tccgcgctcg ccgacgcgct gctcgactcc 480
gtcccgatgg tcgccatcac gggccagggt ccccgccgc tgatcggcac cgacgccttc 540
caggagacgc ccatagtcga ggtcaccgc tccatcacca agcacaatta ccttgtcctt 600
gatgtggagg acatcccccg cgtcatacag gaagccttct tcctcgcgc ctccggccgt 660
cctggcccgg tgctggtcga catccccaag gacatccagc agcagatggc tgtgccagtc 720
tgggacacct cgatgaatct accggggtac attgcacgcc tgccaagcc acccgcgaca 780
gaattgcttg agcaggctct gcgtctgggt ggcgagtcac ggccgccgat tctctatgtc 840
ggtggtggct gctctgcac tggtgatgaa ttgcgccgt ttgttgagct gaccggcatc 900
ccagttacaa cactctgat gggcctcggc aatttccca gtgatgatcc gttgtccctg 960
cgcgtgcttg ggatgcatgg cacggtgtac gcaaattatg ccggtggataa ggctgacctg 1020
ttgcttgcat ttggcgtgcg gtttgatgat cgtgtgacag ggaaaattga ggcttttgca 1080
agcaggggcca agattgtgca cattgacatt gatccagcgg agattggaaa gaacaagcaa 1140
ccacatgtgt caatttgcgc agatgttaag cttgctttac agggcttgaa tgctctgcta 1200
gaccagagca caacaagac aagtctctgat tttagtgcgt ggcacaatga gttggaccag 1260
cagaagaggg agtttcctct ggggtacaag acttttgggt aagagatccc accgcaatat 1320
gctattcagg tgctggatga gctgacgaaa ggggaggcaa tcatcgctac tgggtttgga 1380
cagcaccaga tgtggcgccg acaatattac acctacaagc ggccacggca gtggctgtct 1440
tcggctggtc tgggcgcaat gggatttggg ctgcctgctg cagctgggtc ttctgtggct 1500
aaccagggtg tcacagttgt tgatattgat ggggatggta gcttcctcat gaacattcag 1560
gagttggcat tgatccgcat tgagaacctc ccggtgaagg tgatggtgtt gaacaaccaa 1620
catttgggta tggttgtgca atgggaggat aggttttaca aggcaaatag ggcgcataca 1680
tacttgggca acccagaatg tgagagtga atatatccag attttgtgac tattgctaaa 1740
gggttcaata ttctgcagc ccgtgtaaca aagaagagtg aagtcggtgc cgccatcaag 1800
aagatgctcg ataccacagg gccatacttg ttggatatca tcgtcccaca ccaggagcat 1860
gtgctgccta tgatcccaag tggggcgcca ttcaaggaca tgatcctgga tgggtgatggc 1920
aggactgtgt acctga 1936

```

<210> 12

<211> 644

<212> PRT

<213> *Oryza sativa*

<400> 12

```

Met Ala Thr Thr Ala Ala Ala Ala Ala Thr Leu Ser Ala Ala Ala
  1             5             10             15

```

```

Thr Ala Lys Thr Gly Arg Lys Asn His Gln Arg His His Val Phe Pro
  20             25             30

```

```

Ala Arg Gly Arg Val Gly Ala Ala Ala Val Arg Cys Ser Ala Val Ser
  35             40             45

```

```

Pro Val Thr Pro Pro Ser Pro Ala Pro Pro Ala Thr Pro Leu Arg Pro
  50             55             60

```

```

Trp Gly Pro Ala Glu Pro Arg Lys Gly Ala Asp Ile Leu Val Glu Ala
  65             70             75             80

```

```

Leu Glu Arg Cys Gly Val Ser Asp Val Phe Ala Tyr Pro Gly Gly Thr
  85             90             95

```

```

Ser Met Glu Ile His Gln Ala Leu Thr Arg Ser Pro Val Ile Thr Asn
 100             105             110

```

His Leu Phe Arg His Glu Gln Gly Glu Ala Phe Ala Ala Ser Gly Tyr
 115 120 125
 Ala Arg Ala Ser Gly Arg Val Gly Val Cys Val Ala Thr Ser Gly Pro
 130 135 140
 Gly Ala Thr Asn Leu Val Ser Ala Leu Ala Asp Ala Leu Leu Asp Ser
 145 150 155 160
 Val Pro Met Val Ala Ile Thr Gly Gln Val Pro Arg Arg Met Ile Gly
 165 170 175
 Thr Asp Ala Phe Gln Glu Thr Pro Ile Val Glu Val Thr Arg Ser Ile
 180 185 190
 Thr Lys His Asn Tyr Leu Val Leu Asp Val Glu Asp Ile Pro Arg Val
 195 200 205
 Ile Gln Glu Ala Phe Phe Leu Ala Ser Ser Gly Arg Pro Gly Pro Val
 210 215 220
 Leu Val Asp Ile Pro Lys Asp Ile Gln Gln Gln Met Ala Val Pro Val
 225 230 235 240
 Trp Asp Thr Ser Met Asn Leu Pro Gly Tyr Ile Ala Arg Leu Pro Lys
 245 250 255
 Pro Pro Ala Thr Glu Leu Leu Glu Gln Val Leu Arg Leu Val Gly Glu
 260 265 270
 Ser Arg Arg Pro Ile Leu Tyr Val Gly Gly Gly Cys Ser Ala Ser Gly
 275 280 285
 Asp Glu Leu Arg Arg Phe Val Glu Leu Thr Gly Ile Pro Val Thr Thr
 290 295 300
 Thr Leu Met Gly Leu Gly Asn Phe Pro Ser Asp Asp Pro Leu Ser Leu
 305 310 315 320
 Arg Met Leu Gly Met His Gly Thr Val Tyr Ala Asn Tyr Ala Val Asp
 325 330 335
 Lys Ala Asp Leu Leu Leu Ala Phe Gly Val Arg Phe Asp Asp Arg Val
 340 345 350
 Thr Gly Lys Ile Glu Ala Phe Ala Ser Arg Ala Lys Ile Val His Ile
 355 360 365
 Asp Ile Asp Pro Ala Glu Ile Gly Lys Asn Lys Gln Pro His Val Ser
 370 375 380
 Ile Cys Ala Asp Val Lys Leu Ala Leu Gln Gly Leu Asn Ala Leu Leu
 385 390 395 400
 Asp Gln Ser Thr Thr Lys Thr Ser Ser Asp Phe Ser Ala Trp His Asn
 405 410 415
 Glu Leu Asp Gln Gln Lys Arg Glu Phe Pro Leu Gly Tyr Lys Thr Phe
 420 425 430
 Gly Glu Glu Ile Pro Pro Gln Tyr Ala Ile Gln Val Leu Asp Glu Leu
 435 440 445

Thr Lys Gly Glu Ala Ile Ile Ala Thr Gly Val Gly Gln His Gln Met
 450 455 460
 Trp Ala Ala Gln Tyr Tyr Thr Tyr Lys Arg Pro Arg Gln Trp Leu Ser
 465 470 475 480
 Ser Ala Gly Leu Gly Ala Met Gly Phe Gly Leu Pro Ala Ala Ala Gly
 485 490 495
 Ala Ser Val Ala Asn Pro Gly Val Thr Val Val Asp Ile Asp Gly Asp
 500 505 510
 Gly Ser Phe Leu Met Asn Ile Gln Glu Leu Ala Leu Ile Arg Ile Glu
 515 520 525
 Asn Leu Pro Val Lys Val Met Val Leu Asn Asn Gln His Leu Gly Met
 530 535 540
 Val Val Gln Trp Glu Asp Arg Phe Tyr Lys Ala Asn Arg Ala His Thr
 545 550 555 560
 Tyr Leu Gly Asn Pro Glu Cys Glu Ser Glu Ile Tyr Pro Asp Phe Val
 565 570 575
 Thr Ile Ala Lys Gly Phe Asn Ile Pro Ala Val Arg Val Thr Lys Lys
 580 585 590
 Ser Glu Val Arg Ala Ala Ile Lys Lys Met Leu Asp Thr Pro Gly Pro
 595 600 605
 Tyr Leu Leu Asp Ile Ile Val Pro His Gln Glu His Val Leu Pro Met
 610 615 620
 Ile Pro Ser Gly Gly Ala Phe Lys Asp Met Ile Leu Asp Gly Asp Gly
 625 630 635 640
 Arg Thr Val Tyr

1/21
FIG.1A

Trình tự nucleotit AHAS một phần từ dòng lúa IMINTA 1 (SEQ ID NO:1)

CCTTGTCCGCCGCCGCGAC
GGCCAAGACCGGCCGTAAGAACCACCAGCGACACCACGTCTTTCCCGCTC
GAGGCCGGGTGGGGCGGCGCGGTCAGGTGCTCGGCGGTGTCCCCGGTC
ACCCCGCCGTCCCCGGCGCCGCCGCCGCTCCGGCCGTGGGGGCC
GGCCGAGCCCCGAAGGGCGCGACATCCTCGTGGAGGCGCTGGAGCGGT
GCGGCGTCAGCGACGTGTTTCGCTTACCCGGGCGGCACGTCCATGGAGATC
CACCAGGCGCTGACGCGCTCCCCGGTCATCACCACCAACCTCTTCCGCCA
CGAGCAGGGCGAGGCGTTCGCGGCGTCCGGGTACGCGCGCGCGTCCGGCC
GCGTCGGGGTCTGCGTCGCCACCTCCGGCCCCGGGGCAACCAACCTCGTG
TCCGCGCTCGCCGACGCGCTGCTCGACTCCGTCCCGATGGTCGCCATCAC
GGGCCAGGTCCCCCGCCGCATGATCGGCACCGACGCCTTCCAGGAGACGC
CCATAGTCGAGGTCACCCGCTCCATCACCAGCACAATTACCTTGTCTT
GATGTGGAGGACATCCCCCGGTCATACAGGAAGCCTTCTTCCTCGCGTC
CTCGGGCCGTCTTGGCCCGGTGCTGGTCGACATCCCCAAGGACATCCAGC
AGCAGATGGCTGTGCCAGTCTGGGACACCTCGATGAATCTACCGGGGTAC
ATTGCACGCCTGCCCAAGCCACCCGCGACAGAATTGCTTGAGCAGGTCTT
GCGTCTGGTTGGCGAGTCACGGCGCCCGATTCTCTATGTGGTGGTGGCT
GCTCTGCATCTGGTGATGAATTGCGCCGGTTTGTGAGCTGACCGGCATC
CCAGTTACAACCACTCTGATGGGCCTCGGCAATTTCCCCAGTGATGATCC
GTTGTCCCTGCGCATGCTTGGGATGCATGGCACGGTGTACGCAAATTATG
CGGTGGATAAGGCTGACCTGTTGCTTGCATTTGGCGTGCGGTTTGATGAT
CGTGTGACAGGGAAAATTGAGGCTTTTGAAGCAGGGCCAAGATTGTGCA
CATTGACATTGATCCAGCGGAGATTGGAAAGACAAGCAACCACATGTGT
CAATTTGCGCAGATGTTAAGCTTGCTTTACAGGGCTTGAATGCTCTGCTA
GACCAGAGCACAACAAGACAAGTTCTGATTTTAGTGCGTGGCACAATGA
GTTGGACCAGCAGAAGAGGGAGTTTCTCTGGGGTACAAGACTTTTGGTG
AAGAGATCCCACCGCAATATGCTATTAGGTGCTGGATGAGCTGACGAAA
GGGGAGGCAATCATCGCTACTGGTGTGGACAGCACCAGATGTGGGCGGC
ACAATATTACACCTACAAGCGGCCACGGCAGTGGCTGTCTTCGGCTGGTC
TGGGCGCAATGGGATTTGGGCTGCCTGCTGCAGCTGGTGCTTCTGTGGCT
AACCCAGGTGTCACAGTTGTTGATATTGATGGGGATGGTAGCTTCCTCAT
GAACATTCAGGAGTTGGCATTGATCCGCATTGAGAACCTCCCGGTGAAGG
TGATGGTGTGTAACAACCAACATTTGGGTATGGTTGTGCAATGGGAGGAT
AGGTTTTACAAGGCAAATAGGGCGCATACTTGGGCAACCCAGAATG
TGAGAGTGAGATATATCCAGATTTTGTGACTATTGCTAAAGGGTTCAATA
TTCTTGCAGTCCGTGTAACAAAGAAGAGTGAAGTCCGTGCCGCCATCAAG
AAGATGCTCGATACCCAGGGCCATACTTGTGGATATCATCGTCCCA
CCAGGAGCATGTGCTGCCTATGATCCCAAGTGGGGGCGCATTCAAGGACA
TGATCCTGGATGGTGATGGCAGGACTGTGTATTAATCTATAATCTGTATG
TTGGCAAAGCACCAGCCCCGC

2/21

FIG. 1B

Trình tự axit amin AHAS một phần được suy diễn từ dòng lúa IMINTA 1
(SEQ ID NO: 2)

LSAAATAKTGRKNHQHHVFPARGRVGAAAVRCSAVSPV
 TPPSPAPPATPLRPWGPAEPRKGADILVEALERC GVSDVFAYPGGTSMEI
 HQALTRSPVITNHLFRHEQGEAFAASGYARASGRVGVCVATSGPGATNLV
 SALADALLDSVPMVAITGQVPRRMIGTDAFQETPIVEVTRSITKHNYLVL
 DVEDIPRVIQEAFFLASSGRPGPVLVDIPKDIQQQMAVPVWDTSMNLPGY
 IARLPKPPATELLEQVLRVLVGESRRPILYVGGGCSASGDELRRFVELTGI
 PVTTLMLGLGNFPSDDPLSLRMLGMHGTIVYANYAVDKADLLAFGVRFDD
 RVTGKIEAFASRAKIVHIDIDPAEIGKNKQPHVSICADVKLALQGLNALL
 DQSTTKTSSDFSAAWHNELDQQKREFPLGYKTFGEEIPPQYAIQVLDELTK
 GEAIATGVGQHQMWAQAQYYTYKRPRQWLSSAGLGAMGFGLPAAAGASVA
 NPGVTVVDIDGGSFLMNIQELALIRIENLPVKVMVLNNQHLGMVVQWED
 RFYKANRAHTYLGNPECESEIYPDFVTIAKGFNIPAVRVTKKSEVRAAIK
 KMLDTPGPYLLDIIVPHQEHVLEPMIPSGGAFKDMILDGDGRTVY

3/21

FIG.1C

Trình tự nucleotit AHAS một phần từ dòng lúa IMINTA 4 (SEQ ID NO: 3)

CCTTGTCCGCCGCCGCGAC

GGCCAAGACCGGCCGTAAGAACCACCAGCGACACCACGTCTTTCCCGCTC
 GAGGCCGGGTGGGGGCGGCGGCGGTGAGGTGCTCGGCGGTGTCCCCGGTC
 ACCCCGCCGTCCCCGGCGCCGCCGCCACGCCGCTCCGGCCGTGGGGGCC
 GGCCGAGCCCCGCAAGGGCGCGGACATCCTCGTGGAGGCGCTGGAGCGGT
 GCGGCGTCAGCGACGTGTTTCGCCTACCCGGGCGGCACGTCCATGGAGATC
 CACCAGGCGCTGACGCGCTCCCCGGTCATCACCAACCACCTCTTCCGCCA
 CGAGCAGGGCGAGGCGTTTCGGGCGTCCGGGTACGCGCGCGCGTCCGGCC
 GCGTCCGGGTCTGCGTCCGCACCTCCGGCCCCGGGGCAACCAACCTCGTG
 TCCGCGCTCGCCGACGCGCTGCTCGACTCCGTCCCGATGGTCGCCATCAC
 GGGCCAGGTCCCCCGCGCATGATCGGCACCGACGCCTTCCAGGAGACGC
 CCATAGTCGAGGTCACCCGCTCCATCACCAAGCACAATTACCTTGTCTT
 GATGTGGAGGACATCCCCCGCGTCATACAGGAAGCCTTCTTCTCGCGTC
 CTCGGGCCGTCTTGGCCCGGTGCTGGTCGACATCCCCAAGGACATCCAGC
 AGCAGATGGCTGTGCCAGTCTGGGACACCTCGATGAATCTACCGGGGTAC
 ATTGCACGCCTGCCCAAGCCACCCGCGACAGAATTGCTTGAGCAGGTCTT
 GCGTCTGGTTGGCGAGTCACGGCGCCCGATTCTCTATGTCGGTGGTGGCT
 GCTCTGCATCTGGTGATGAATTGCGCCGGTTTGTGAGCTGACCGGCATC
 CCAGTTACAACCACTCTGATGGGCCTCGGCAATTTCCCCAGTGATGATCC
 GTTGTCCCTGCGCATGCTTGGGATGCATGGCACGGGTGTACGCAAATTATG
 CGGTGGATAAGGCTGACCTGTTGCTTGCATTTGGCGTGGGTTTGATGAT
 CGTGTGACAGGGAAAATTGAGGCTTTTGCAAGCAGGGCCAAGATTGTGCA
 CATTGACATTGATCCAGCGGAGATTGGAAAGAACAAGCAACCACATGTGT
 CAATTTGCGCAGATGTTAAGCTTGCTTTACAGGGCTTGAATGCTCTGCTA
 GACCAGAGCACAACAAAGACAAGTTCTGATTTTAGTGCGTGGCACAATGA
 GTTGGACCAGCAGAAGAGGGAGTTTCTCTGGGGTACAAGACTTTTGGTG
 AAGAGATCCCACCGCAATATGCTATTCAGGTGCTGGATGAGCTGACGAAA
 GGGGAGGCAATCATCGCTACTGGTGTGACAGCACCAGATGTGGGCGGC
 ACAATATTACACCTACAAGCGGCCACGGCAGTGGCTGTCTTCGGCTGGTC
 TGGGCGCAATGGGATTTGGGCTGCCTGCTGCAGCTGGTGTCTCTGTGGCT
 AACCAGGTGTCACAGTTGTTGATATTGATGGGGATGGTAGCTTCCTCAT
 GAACATTACAGGAGTTGGCATTGATCCGCATTGAGAACCTCCCCGTGAAGG
 TGATGGTGTGTAACAACCAACATTTGGGTATGGTTGTGCAATGGGAGGAT
 AGGTTTTACAAGGCAATAGGGCGCATACATACTTGGGCAACCCAGAATG
 TGAGAGTGAGATATATCCAGATTTTGTGACTATTGCTAAAGGGTTCAATA
 TTCCTGCAGTCCGTGTAACAAAGAAGAGTGAAGTCCGTGCCGCCATCAAG
 AAGATGCTCGATACCCAGGGCCATACTTGTGGATATCATCGTCCCA
 CCAGGAGCATGTGCTGCCTATGATCCCAAGTGGGGCGCATTCAGGACA
 TGATCCTGGATGGTGATGGCAGGACTGTGTATTAATCTATAATCTGTATG
 TTGGCA

4/21

FIG.1D

Trình tự axit amin AHAS một phần được suy diễn từ dòng lúa IMINTA 4
(SEQ ID NO: 4)

LSAAATAKTGRKNHQRHHVFPARGRVGAAAVRCSAVSPV
TPPSPAPPATPLRPWGPAEPRKGADILVEALERC GVSDVFAYPPGTSMEI
HQALTRSPVITNHLFRHEQGEAFAASGYARASGRVGVCVATSGPGATNLV
SALADALLDSVPMVAITGQVPRRMIGTDAFQETPIVEVTRSITKHNYLV
DVEDIPRVIQEAFFLASSGRPGPVLVDIPKDIQQQMAVPVWDTSMNLP
GYIARLPKPPATELLEQVLRVLVGESRRPILYVGGGCSASGDELRRFVELTGI
PVTITLMGLGNFPSDDPLSLRMLGMHGT VYANYAVDKADLLLA FGVRFDD
RVTGKIEAFASRAKIVHIDIDPAEIGKNKQPHVSI CADVKLALQGLNALL
DQSTTKTS SDFS AWHNELDQQKREFPLGYKTFGEEIPPQYAIQVLDELTK
GEAIIATGVGQHQMWA AQYYTYKRPRQWLSSAGLGAMGFGLPAAAGASVA
NPGVTVVDIDGDGSFLMNIQELALIRIENLPVKVMVLNNQHLGMVQWED
RFYKANRAHTYLG NPECESEIYPDFVTIAKGFNIPAVRVTKKSEVRAAIK
KMLDTPGPYLLDIIVPHQEHVLP MIPSGGAFKDMILDGDGRTVY

5/21

FIG.1E

Trình tự nucleotit AHAS một phần từ dòng lúa IMINTA 5 (SEQ ID NO: 5)

GCGGCCGCGGCCGCCACCTTGTCGCGCGCCGCGAC
 GGCCAAGACCGGCCGTAAGAACCACCAGCGACACCACGTCTTTCCCGCTC
 GAGGCCGGGTGGGGGCGGCGGGTCAGGTGCTCGGCGGTGTCCCCGGTC
 ACCCCGCGGTCCCCGGCGCCGCCGCCACGCCGCTCCGGCCGTGGGGGCC
 GGCCGAGCCCCGCAAGGGCGCGGACATCCTCGTGAGGCGCTGGAGCGGT
 GCGGCGTCAGCGACGTGTTTCGCCTACCCGGGCGGCACGTCCATGGAGATC
 CACCAGGCGCTGACGCGCTCCCCGGTCATCACCAACCACCTCTTCCGCCA
 CGAGCAGGGCGAGGCGTTTCGCGGCGTCCGGGTACGCGCGCGCGTCCGGCC
 GCGTCGGGGTCTGCGTCGCCACCTCCGGCCCCGGGGCAACCAACCTCGTG
 TCCGCGCTCGCCGACGCGCTGCTCGACTCCGTCCCGATGGTCGCCATCAC
 GGGCCAGGTCCCCCGCCGCATGATCGGCACCGACGCCTTCCAGGAGACGC
 CCATAGTCGAGGTACCCGCTCCATCACCAAGCACAATTACCTTGTCTT
 GATGTGGAGGACATCCCCCGCGTCATACAGGAAGCCTTCTTCTCGCGTC
 CTCGGGCCGTCTTGGCCCCGGTGTGTTGCGACATCCCCAAGGACATCCAGC
 AGCAGATGGCTGTGCCAGTCTGGGACACCTCGATGAATCTACCGGGGTAC
 ATTGCACGCCTGCCCAAGCCACCCGCGACAGAATTGCTTGAGCAGGTCTT
 GCGTCTGGTTGGCGAGTCACGGCGCCCCGATTCTCTATGTCGGTGGTGGCT
 GCTCTGCATCTGGTGATGAATTGCGCCGGTTTGTGAGCTGACCGGCATC
 CCAGTTACAACCACTCTGATGGGCCTCGGCAATTTCCCCAGTGATGATCC
 GTTGTCCCTGCGCATGCTTGGGATGCATGGCACGGTGTACGCAAATTATG
 CGGTGGATAAGGCTGACCTGTTGCTTGCAATTTGGCGTGCGGTTTGATGAT
 CGTGTGACAGGGAAAATTGAGGCTTTTGCAAGCAGGGCCAAGATTGTGCA
 CATTGACATTGATCCAGCGGAGATTGGAAAGAACAAGCAACCACATGTGT
 CAATTTGCGCAGATGTTAAGCTTGCTTTACAGGGCTTGAATGCTCTGCTA
 GACCAGAGCACAACAAGACAAGTTCTGATTTTGTGCGTGGCACAATGA
 GTTGGACCAGCAGAAGAGGGAGTTTCTCTGGGGTACAAGACTTTTGGTG
 AAGAGATCCCACCGCAATATGCTATTCAGGTGCTGGATGAGCTGACGAAA
 GGGGAGGCAATCATCGCTACTGGTGTGGACAGCACCAGATGTGGGCGGC
 ACAATATTACACCTACAAGCGGCCACGGCAGTGGCTGTCTTCGGCTGGTC
 TGGGCGCAATGGGATTTGGGCTGCCTGCTGCAGCTGGTGCTTCTGTGGCT
 AACCAGGTGTCACAGTTGTTGATATTGATGGGGATGGTAGCTTCCTCAT
 GAACATTCAGGAGTTGGCATTGATCCGCATTGAGAACCTCCCGGTGAAGG
 TGATGGTGTGTAACAACCAACATTTGGGTATGGTTGTGCAATGGGAGGAT
 AGGTTTTACAAGGCAAATAGGGCGCATACTTGGGCAACCCAGAATG
 TGAGAGTGAGATATATCCAGATTTTGTGACTATTGCTAAAGGGTTCAATA
 TTCCTGCAGTCCGTGTAACAAGAAGAGTGAAGTCCGTGCCGCCATCAAG
 AAGATGCTCGATACCCAGGGCCATACTTGTGGATATCATCGTCCCACA
 CCAGGAGCATGTGCTGCCTATGATCCCAAGTGGGGGCGCATTCAAGGACA
 TGATCCTGGATGGTGTGATGGCAGGACTGTGTA

6/21

FIG. 1F

Trình tự axit amin AHAS một phần được suy diễn từ dòng lúa IMINTA 5 (SEQ ID NO: 6)

AAAAATLSAAATAKTGRKNHQRHHVFPARGRVGAAAVRCSAVSPV
TPPSPAPPATPLRPWGPAPRKGADILVEALERCVSDFAYPGGTSMEI
HQALTRSPVITNHLFRHEQGEAFAASGYARASGRVGVCVATSGPGATNLV
SALADALLDSVPMVAITGQVPRRMIGTDAFQETPIVEVTRSITKHNLYLV
DVEDIPRVIQEAFFLASSGRPGPVLVDIPKDIQQQMAVPVWDTSMNLPGY
IARLPKPPATELLEQVLRVLVGESRRPILYVGGGCSASGDELRRFVELTGI
PVTTTLMGLGNFPSDDPLSLRMLGMHGTVYANYAVDKADLLLAFGVRFDD
RVTGKIEAFASRAKIVHIDIDPAEIGKNKQPHVSIKADVKLALQGLNALL
DQSTTKTSSDFSAAWHNELDQQKREFPLGYKTFGEEIPQYAIQVLDELTK
GEAIATGVGQHQMWAQYYTYKRPROWLSSAGLGAMGFLPAAAGASVA
NPGVTVVDIDGDSFLMNIQELALIRIENLPVKVMVLNNQHLGMVVQWED
RFYKANRAHTYLGNPECESEIYPDFVTIAKGFNIPAVRVTKKSEVRAAIK
KMLDTPGPYLLDIIVPHQEHVLPMPSSGGAFKDMILDGDGRTV

7/21

FIG.1G

Trình tự nucleotit AHAS từ dòng lúa I47 kiểu hoang (SEQ ID NO: 7)

ATGGCTACGACCGCCGCGCGCCGCGCGCCACCTTGTCCGCGCGCGCGAC
 GGCCAAGACCGGCCGTAAGAACCACCAGCGACACCACGTCTTTCCCGCTC
 GAGGCCGGGTGGGGGCGGCGCGGTCAGGTGCTCGGCGGTGTCCCCGGTC
 ACCCCGCCGTCCCCGGCGCCGCGGCCACGCCGCTCCGGCCGTGGGGGCC
 GGCCGAGCCCCGCAAGGGCGCGGACATCCTCGTGGAGGCGCTGGAGCGGT
 GCGGCGTCAGCGACGTGTTGCGCTACCCGGGCGGCGGTCCATGGAGATC
 CACCAGGCGCTGACGCGCTCCCCGGTCATCACCACCAACCTCTTCCGCCA
 CGAGCAGGGCGAGGCGTTCGCGGCGTCCGGGTACGCGCGCGCGTCCGGCC
 GCGTCGGGGTCTGCGTCGCCACCTCCGGCCCCGGGGCAACCAACCTCGTG
 TCCGCGCTCGCCGACGCGCTGCTCGACTCCGTCCCGATGGTCGCCATCAC
 GGGCCAGGTCCCCGCCGCGCATGATCGGCACCGACGCCCTTCCAGGAGACGC
 CCATAGTCGAGGTACCCGCTCCATCACCAGCACAATTACCTTGTCTTT
 GATGTGGAGGACATCCCCGCGTCATACAGGAAGCCTTCTTCTCGCGTC
 CTCGGGCGCTCCTGGCCCCGTGCTGGTGGACATCCCCAAGGACATCCAGC
 AGCAGATGGCTGTGCCAGTCTGGGACACCTCGATGAATCTACCGGGGTAC
 ATTGCACGCCGTGCCAAGCCACCCGCGACAGAAATGCTTGAGCAGGTCTT
 GCGTCTGGTTGGCGAGTCACGGCGCCCGATTCTCTATGTGGTGGTGGCT
 GCTCTGCATCTGGTGATGAATTGCGCCGGTTTGTGAGCTGACCGGCATC
 CCAGTTACAACCACTCTGATGGGCCTCGGCAATTTCCCCAGTGATGATCC
 GTTGTCCCTGCGCATGCTTGGGATGCATGGCACGGTGTACGCAAATTATG
 CGGTGGATAAGGCTGACCTGTTGCTTGCATTTGGCGTGCGGTTTGATGAT
 CGTGTGACAGGGAAAATTGAGGCTTTTGCAAGCAGGGCCAAGATTGTGCA
 CATTGACATTGATCCAGCGGAGATTGGAAAGAACAAAGCAACCACATGTGT
 CAATTTGCGCAGATGTTAAGCTTGCTTTACAGGGCTTGAATGCTCTGCTA
 GACCAGAGCACAACAAAGACAAGTTCTGATTTTAGTGCGTGGCACAAATGA
 GTTGGACCAGCAGAAGAGGGAGTTTCTCTGGGGTACAAGACTTTTGGTG
 AAGAGATCCCACCGCAATATGCTATTACAGGTGCTGGATGAGCTGACGAAA
 GGGGAGGCAATCATCGCTACTGGTGTGGACAGCACCAGATGTGGGCGGC
 ACAATATTACACCTACAAGCGGCCACGGCAGTGGCTGTCTTCGGCTGGTC
 TGGGCGCAATGGGATTTGGGCTGCCTGCTGCAGCTGGTGCTTCTGTGGCT
 AACCCAGGTGTACAGTTGTTGATATTGATGGGGATGGTAGCTTCCTCAT
 GAACATTCAGGAGTTGGCATTGATCCGCATTGAGAACCTCCCGGTGAAGG
 TGATGGTGTGGAACAACCAACATTTGGGTATGGTTGTGCAATGGGAGGAT
 AGGTTTACAAGGCAAAATAGGGCGCATACATACTGGGCAACCCAGAATG
 TGAGAGTGAGATATATCCAGATTTTGTGACTATTGCTAAAGGGTTCAATA
 TTCTTGCAAGTCCGTGTAACAAAGAAGAGTGAAGTCCGTGCCGCCATCAAG
 AAGATGCTCGATACCCAGGGCCATACCTTGTGGATATCATCGTCCCACA
 CCAGGAGCATGTGCTGCCTATGATCCCAAGTGGGGGCGCATTCAAGGACA
 TGATCCTGGATGGTGTGGCAGGACTGTGTATTAATCTATAATCTGTATG
 TTGGCAAAGCACCAGCCCGGCCTATGTTTGACCTGA

8/21

FIG.1H

Trình tự axit amin AHAS được suy diễn từ dòng lúa I47 kiểu hoang (SEQ ID NO: 8)

MATTAAAAATLSAAATAKTGRKNHQRRHVFPARGRVGAAAVRCSAVSPV
TPPSPAPPATPLRPWGPAPRKGADILVEALERCVSDFAYPPGASMEI
HQALTRSPVITNHLFRHEQGEAFAASGYARASGRVGVCVATSGPGATNLV
SALADALLDSVPMVAITGQVPRRMIGTDAFQETPIVEVTRSITKHNVLVL
DVEDIPRVIQEAFFLASSGRPGPVLVDIPKDIQQQMAVPVWDTSMNLPGY
IARLPKPPATELLEQVLRIVGESRRPILYVGGGCSASGDELRRFVELTGI
PVTITLMGLGNFPSDDPLSLRMLGMHGTIVYANYAVDKADLLLAFGVRFDD
RVTGKIEAFASRAKIVHIDIDPAEIGKNKQPHVSICADVKLALQGLNALL
DQSTTKTSSDFSAWHNELDQQKREFPLGYKTFGEEIPQYAIQVLDELTK
GEAIIATGVGQHQMWAQAQYYTYKRPRQWLSSAGLGAMGFGLPAAAGASVA
NPGVTVVDIDGDSFLMNIQELALIRIENLPVKVMVLNNQHLGMVVQWED
RFYKANRAHTYLGNEPECESEIYPDFVTIAKGFNIPAVRVTKKSEVRAAIK
KMLDTPGPYLLDIIVPHQEHVLPMIPSGGAFKDMILDGDGRTVY

9/21
FIG.2

Sự sắp xếp các trình tự nucleotit của IMINTA 1, IMINTA 4, và IMINTA 5 với các chuỗi AHAS giống lúa kiểu hoang

1	50
Lúa I1	(1) -----CCTTGTCCGCCGCCGCGAC
Lúa I4	(1) -----CCTTGTCCGCCGCCGCGAC
Lúa I5	(1) -----GCGGCCGCGGCCGCCACCTTGTCCGCCGCCGCGAC
wt _ I47	(1) ATGGCTACGACCGCCGCCGCCGCCGCCACCTTGTCCGCCGCCGCGAC
Sự liên ứng	(1) GCGGCCGCGGCCGCCACCTTGTCCGCCGCCGCGAC
	51 100
Lúa I1	(20) GGCCAAGACCGCCCGTAAGAACCACCAGCGACACCACGTCTTTCCCGCTC
Lúa I4	(20) GGCCAAGACCGCCCGTAAGAACCACCAGCGACACCACGTCTTTCCCGCTC
Lúa I5	(36) GGCCAAGACCGCCCGTAAGAACCACCAGCGACACCACGTCTTTCCCGCTC
wt _ I47	(51) GGCCAAGACCGCCCGTAAGAACCACCAGCGACACCACGTCTTTCCCGCTC
Sự liên ứng	(51) GGCCAAGACCGCCCGTAAGAACCACCAGCGACACCACGTCTTTCCCGCTC
	101 150
Lúa I1	(70) GAGGCCGGGTGGGGGCGGCCGGTCAGGTGCTCGGCCGTGTCCCCGGTC
Lúa I4	(70) GAGGCCGGGTGGGGGCGGCCGGTCAGGTGCTCGGCCGTGTCCCCGGTC
Lúa I5	(86) GAGGCCGGGTGGGGGCGGCCGGTCAGGTGCTCGGCCGTGTCCCCGGTC
wt _ I47	(101) GAGGCCGGGTGGGGGCGGCCGGTCAGGTGCTCGGCCGTGTCCCCGGTC
Sự liên ứng	(101) GAGGCCGGGTGGGGGCGGCCGGTCAGGTGCTCGGCCGTGTCCCCGGTC
	151 200
Lúa I1	(120) ACCCCGCCGTCCCCGGCGCCGCCGCCACGCCGCTCCGGCCGTGGGGGCC
Lúa I4	(120) ACCCCGCCGTCCCCGGCGCCGCCGCCACGCCGCTCCGGCCGTGGGGGCC
Lúa I5	(136) ACCCCGCCGTCCCCGGCGCCGCCGCCACGCCGCTCCGGCCGTGGGGGCC
wt _ I47	(151) ACCCCGCCGTCCCCGGCGCCGCCGCCACGCCGCTCCGGCCGTGGGGGCC
Sự liên ứng	(151) ACCCCGCCGTCCCCGGCGCCGCCGCCACGCCGCTCCGGCCGTGGGGGCC
	201 250
Lúa I1	(170) GGCCGAGCCCCGCAAGGGCGCGGACATCCTCGTGAGGCGCTGGAGCGGT
Lúa I4	(170) GGCCGAGCCCCGCAAGGGCGCGGACATCCTCGTGAGGCGCTGGAGCGGT
Lúa I5	(186) GGCCGAGCCCCGCAAGGGCGCGGACATCCTCGTGAGGCGCTGGAGCGGT
wt _ I47	(201) GGCCGAGCCCCGCAAGGGCGCGGACATCCTCGTGAGGCGCTGGAGCGGT
Sự liên ứng	(201) GGCCGAGCCCCGCAAGGGCGCGGACATCCTCGTGAGGCGCTGGAGCGGT
	251 300
Lúa I1	(220) GCGGCGTCAGCGACGTGTTTCGCCATCCCGGGCGGC CGTCCATGGAGATC
Lúa I4	(220) GCGGCGTCAGCGACGTGTTTCGCCATCCCGGGCGGC CGTCCATGGAGATC
Lúa I5	(236) GCGGCGTCAGCGACGTGTTTCGCCATCCCGGGCGGC CGTCCATGGAGATC
wt _ I47	(251) GCGGCGTCAGCGACGTGTTTCGCCATCCCGGGCGGC CGTCCATGGAGATC
Sự liên ứng	(251) GCGGCGTCAGCGACGTGTTTCGCCATCCCGGGCGGCACGTCCATGGAGATC
	301 350
Lúa I1	(270) CACCAGGCGCTGACGCGCTCCCCGGTCATACCAACCACCTCTTCCGCCA
Lúa I4	(270) CACCAGGCGCTGACGCGCTCCCCGGTCATACCAACCACCTCTTCCGCCA
Lúa I5	(286) CACCAGGCGCTGACGCGCTCCCCGGTCATACCAACCACCTCTTCCGCCA
wt _ I47	(301) CACCAGGCGCTGACGCGCTCCCCGGTCATACCAACCACCTCTTCCGCCA
Sự liên ứng	(301) CACCAGGCGCTGACGCGCTCCCCGGTCATACCAACCACCTCTTCCGCCA
	351 400
Lúa I1	(320) CGAGCAGGGCGAGGCGTTTCGCGGCGTCCGGGTACGCGCGCGCGTCCGGCC
Lúa I4	(320) CGAGCAGGGCGAGGCGTTTCGCGGCGTCCGGGTACGCGCGCGCGTCCGGCC
Lúa I5	(336) CGAGCAGGGCGAGGCGTTTCGCGGCGTCCGGGTACGCGCGCGCGTCCGGCC
wt _ I47	(351) CGAGCAGGGCGAGGCGTTTCGCGGCGTCCGGGTACGCGCGCGCGTCCGGCC
Sự liên ứng	(351) CGAGCAGGGCGAGGCGTTTCGCGGCGTCCGGGTACGCGCGCGCGTCCGGCC

10/21

	401	450
Lúa I1	(370) GCGTCGGGGTCTGCGTCGCCACCTCCGGCCCCGGGGCAACCAACCTCGTG	
Lúa I4	(370) GCGTCGGGGTCTGCGTCGCCACCTCCGGCCCCGGGGCAACCAACCTCGTG	
Lúa I5	(386) GCGTCGGGGTCTGCGTCGCCACCTCCGGCCCCGGGGCAACCAACCTCGTG	
wt _ I47	(401) GCGTCGGGGTCTGCGTCGCCACCTCCGGCCCCGGGGCAACCAACCTCGTG	
Sự liên ứng	(401) GCGTCGGGGTCTGCGTCGCCACCTCCGGCCCCGGGGCAACCAACCTCGTG	
	451	500
Lúa I1	(420) TCCGCGCTCGCCGACGCGCTGCTCGACTCCGTCCCGATGGTCGCCATCAC	
Lúa I4	(420) TCCGCGCTCGCCGACGCGCTGCTCGACTCCGTCCCGATGGTCGCCATCAC	
Lúa I5	(436) TCCGCGCTCGCCGACGCGCTGCTCGACTCCGTCCCGATGGTCGCCATCAC	
wt _ I47	(451) TCCGCGCTCGCCGACGCGCTGCTCGACTCCGTCCCGATGGTCGCCATCAC	
Sự liên ứng	(451) TCCGCGCTCGCCGACGCGCTGCTCGACTCCGTCCCGATGGTCGCCATCAC	
	501	550
Lúa I1	(470) GGGCCAGGTCCCCCGCCGATGATCGGCACCGACGCCCTCCAGGAGACGC	
Lúa I4	(470) GGGCCAGGTCCCCCGCCGATGATCGGCACCGACGCCCTCCAGGAGACGC	
Lúa I5	(486) GGGCCAGGTCCCCCGCCGATGATCGGCACCGACGCCCTCCAGGAGACGC	
wt _ I47	(501) GGGCCAGGTCCCCCGCCGATGATCGGCACCGACGCCCTCCAGGAGACGC	
Sự liên ứng	(501) GGGCCAGGTCCCCCGCCGATGATCGGCACCGACGCCCTCCAGGAGACGC	
	551	600
Lúa I1	(520) CCATAGTCGAGGTACCCGCTCCATCACCAGCACAATTACCTTGTCCTT	
Lúa I4	(520) CCATAGTCGAGGTACCCGCTCCATCACCAGCACAATTACCTTGTCCTT	
Lúa I5	(536) CCATAGTCGAGGTACCCGCTCCATCACCAGCACAATTACCTTGTCCTT	
wt _ I47	(551) CCATAGTCGAGGTACCCGCTCCATCACCAGCACAATTACCTTGTCCTT	
Sự liên ứng	(551) CCATAGTCGAGGTACCCGCTCCATCACCAGCACAATTACCTTGTCCTT	
	601	650
Lúa I1	(570) GATGTGGAGGACATCCCCCGCTCATAACAGGAAGCCTTCTTCCTCGCGTC	
Lúa I4	(570) GATGTGGAGGACATCCCCCGCTCATAACAGGAAGCCTTCTTCCTCGCGTC	
Lúa I5	(586) GATGTGGAGGACATCCCCCGCTCATAACAGGAAGCCTTCTTCCTCGCGTC	
wt _ I47	(601) GATGTGGAGGACATCCCCCGCTCATAACAGGAAGCCTTCTTCCTCGCGTC	
Sự liên ứng	(601) GATGTGGAGGACATCCCCCGCTCATAACAGGAAGCCTTCTTCCTCGCGTC	
	651	700
Lúa I1	(620) CTCGGGCCGTCTCTGGCCCCGCTGCTGGTTCGACATCCCCAAGGACATCCAGC	
Lúa I4	(620) CTCGGGCCGTCTCTGGCCCCGCTGCTGGTTCGACATCCCCAAGGACATCCAGC	
Lúa I5	(636) CTCGGGCCGTCTCTGGCCCCGCTGCTGGTTCGACATCCCCAAGGACATCCAGC	
wt _ I47	(651) CTCGGGCCGTCTCTGGCCCCGCTGCTGGTTCGACATCCCCAAGGACATCCAGC	
Sự liên ứng	(651) CTCGGGCCGTCTCTGGCCCCGCTGCTGGTTCGACATCCCCAAGGACATCCAGC	
	701	750
Lúa I1	(670) AGCAGATGGCTGTGCCAGTCTGGGACACCTCGATGAATCTACCGGGGTAC	
Lúa I4	(670) AGCAGATGGCTGTGCCAGTCTGGGACACCTCGATGAATCTACCGGGGTAC	
Lúa I5	(686) AGCAGATGGCTGTGCCAGTCTGGGACACCTCGATGAATCTACCGGGGTAC	
wt _ I47	(701) AGCAGATGGCTGTGCCAGTCTGGGACACCTCGATGAATCTACCGGGGTAC	
Sự liên ứng	(701) AGCAGATGGCTGTGCCAGTCTGGGACACCTCGATGAATCTACCGGGGTAC	
	751	800
Lúa I1	(720) ATTGCACGCCTGCCAAGCCACCCGCGACAGAATTGCTTGAGCAGGTCTT	
Lúa I4	(720) ATTGCACGCCTGCCAAGCCACCCGCGACAGAATTGCTTGAGCAGGTCTT	
Lúa I5	(736) ATTGCACGCCTGCCAAGCCACCCGCGACAGAATTGCTTGAGCAGGTCTT	
wt _ I47	(751) ATTGCACGCCTGCCAAGCCACCCGCGACAGAATTGCTTGAGCAGGTCTT	
Sự liên ứng	(751) ATTGCACGCCTGCCAAGCCACCCGCGACAGAATTGCTTGAGCAGGTCTT	
	801	850
Lúa I1	(770) GCGTCTGGTTGGCGAGTCACGGCGCCCGATTCTCTATGTCGGTGGTGGCT	
Lúa I4	(770) GCGTCTGGTTGGCGAGTCACGGCGCCCGATTCTCTATGTCGGTGGTGGCT	
Lúa I5	(786) GCGTCTGGTTGGCGAGTCACGGCGCCCGATTCTCTATGTCGGTGGTGGCT	
wt _ I47	(801) GCGTCTGGTTGGCGAGTCACGGCGCCCGATTCTCTATGTCGGTGGTGGCT	
Sự liên ứng	(801) GCGTCTGGTTGGCGAGTCACGGCGCCCGATTCTCTATGTCGGTGGTGGCT	

11/21

	851	900
Lúa I1	(820) GCTCTGCATCTGGTGATGAATTGCGCCGGTTTGTGAGCTGACCGGCATC	
Lúa I4	(820) GCTCTGCATCTGGTGATGAATTGCGCCGGTTTGTGAGCTGACCGGCATC	
Lúa I5	(836) GCTCTGCATCTGGTGATGAATTGCGCCGGTTTGTGAGCTGACCGGCATC	
wt _ I47	(851) GCTCTGCATCTGGTGATGAATTGCGCCGGTTTGTGAGCTGACCGGCATC	
Sự liên ứng	(851) GCTCTGCATCTGGTGATGAATTGCGCCGGTTTGTGAGCTGACCGGCATC	900
	901	950
Lúa I1	(870) CCAGTTACAACCACTCTGATGGGCCTCGGCAATTTCCCCAGTGATGATCC	
Lúa I4	(870) CCAGTTACAACCACTCTGATGGGCCTCGGCAATTTCCCCAGTGATGATCC	
Lúa I5	(886) CCAGTTACAACCACTCTGATGGGCCTCGGCAATTTCCCCAGTGATGATCC	
wt _ I47	(901) CCAGTTACAACCACTCTGATGGGCCTCGGCAATTTCCCCAGTGATGATCC	
Sự liên ứng	(901) CCAGTTACAACCACTCTGATGGGCCTCGGCAATTTCCCCAGTGATGATCC	950
	951	1000
Lúa I1	(920) GTTGTCCCTGCGCATGCTTGGGATGCATGGCACGGTGTACGCAAATTATG	
Lúa I4	(920) GTTGTCCCTGCGCATGCTTGGGATGCATGGCACGGTGTACGCAAATTATG	
Lúa I5	(936) GTTGTCCCTGCGCATGCTTGGGATGCATGGCACGGTGTACGCAAATTATG	
wt _ I47	(951) GTTGTCCCTGCGCATGCTTGGGATGCATGGCACGGTGTACGCAAATTATG	
Sự liên ứng	(951) GTTGTCCCTGCGCATGCTTGGGATGCATGGCACGGTGTACGCAAATTATG	1000
	1001	1050
Lúa I1	(970) CGGTGGATAAGGCTGACCTGTTGCTTGCATTTGGCGTGCGGTTTGATGAT	
Lúa I4	(970) CGGTGGATAAGGCTGACCTGTTGCTTGCATTTGGCGTGCGGTTTGATGAT	
Lúa I5	(986) CGGTGGATAAGGCTGACCTGTTGCTTGCATTTGGCGTGCGGTTTGATGAT	
wt _ I47	(1001) CGGTGGATAAGGCTGACCTGTTGCTTGCATTTGGCGTGCGGTTTGATGAT	
Sự liên ứng	(1001) CGGTGGATAAGGCTGACCTGTTGCTTGCATTTGGCGTGCGGTTTGATGAT	1050
	1051	1100
Lúa I1	(1020) CGTGTGACAGGGAAAATTGAGGCTTTTGCAAGCAGGGCCAAGATTGTGCA	
Lúa I4	(1020) CGTGTGACAGGGAAAATTGAGGCTTTTGCAAGCAGGGCCAAGATTGTGCA	
Lúa I5	(1036) CGTGTGACAGGGAAAATTGAGGCTTTTGCAAGCAGGGCCAAGATTGTGCA	
wt _ I47	(1051) CGTGTGACAGGGAAAATTGAGGCTTTTGCAAGCAGGGCCAAGATTGTGCA	
Sự liên ứng	(1051) CGTGTGACAGGGAAAATTGAGGCTTTTGCAAGCAGGGCCAAGATTGTGCA	1100
	1101	1150
Lúa I1	(1070) CATTGACATTGATCCAGCGGAGATTGGAAGAACAAGCAACCACATGTGT	
Lúa I4	(1070) CATTGACATTGATCCAGCGGAGATTGGAAGAACAAGCAACCACATGTGT	
Lúa I5	(1086) CATTGACATTGATCCAGCGGAGATTGGAAGAACAAGCAACCACATGTGT	
wt _ I47	(1101) CATTGACATTGATCCAGCGGAGATTGGAAGAACAAGCAACCACATGTGT	
Sự liên ứng	(1101) CATTGACATTGATCCAGCGGAGATTGGAAGAACAAGCAACCACATGTGT	1150
	1151	1200
Lúa I1	(1120) CAATTTGCGCAGATGTTAAGCTTGCTTTACAGGGCTTGAATGCTCTGCTA	
Lúa I4	(1120) CAATTTGCGCAGATGTTAAGCTTGCTTTACAGGGCTTGAATGCTCTGCTA	
Lúa I5	(1136) CAATTTGCGCAGATGTTAAGCTTGCTTTACAGGGCTTGAATGCTCTGCTA	
wt _ I47	(1151) CAATTTGCGCAGATGTTAAGCTTGCTTTACAGGGCTTGAATGCTCTGCTA	
Sự liên ứng	(1151) CAATTTGCGCAGATGTTAAGCTTGCTTTACAGGGCTTGAATGCTCTGCTA	1200
	1201	1250
Lúa I1	(1170) GACCAGAGCACAACAAAGACAAGTTCTGATTTTAGTGCGTGGCACAATGA	
Lúa I4	(1170) GACCAGAGCACAACAAAGACAAGTTCTGATTTTAGTGCGTGGCACAATGA	
Lúa I5	(1186) GACCAGAGCACAACAAAGACAAGTTCTGATTTTAGTGCGTGGCACAATGA	
wt _ I47	(1201) GACCAGAGCACAACAAAGACAAGTTCTGATTTTAGTGCGTGGCACAATGA	
Sự liên ứng	(1201) GACCAGAGCACAACAAAGACAAGTTCTGATTTTAGTGCGTGGCACAATGA	1250
	1251	1300
Lúa I1	(1220) GTTGGACCAGCAGAAGAGGGAGTTTCCTCTGGGGTACAAGACTTTTGGTG	
Lúa I4	(1220) GTTGGACCAGCAGAAGAGGGAGTTTCCTCTGGGGTACAAGACTTTTGGTG	
Lúa I5	(1236) GTTGGACCAGCAGAAGAGGGAGTTTCCTCTGGGGTACAAGACTTTTGGTG	
wt _ I47	(1251) GTTGGACCAGCAGAAGAGGGAGTTTCCTCTGGGGTACAAGACTTTTGGTG	
Sự liên ứng	(1251) GTTGGACCAGCAGAAGAGGGAGTTTCCTCTGGGGTACAAGACTTTTGGTG	1300

12/21

Lúa I1	1301	1350
Lúa I4	(1270) AAGAGATCCCACCGCAATATGCTATTCAGGTGCTGGATGAGCTGACGAAA	
Lúa I5	(1270) AAGAGATCCCACCGCAATATGCTATTCAGGTGCTGGATGAGCTGACGAAA	
wt _ I47	(1286) AAGAGATCCCACCGCAATATGCTATTCAGGTGCTGGATGAGCTGACGAAA	
Sự liên ứng	(1301) AAGAGATCCCACCGCAATATGCTATTCAGGTGCTGGATGAGCTGACGAAA	
Lúa I1	1351	1400
Lúa I4	(1320) GGGGAGGCAATCATCGCTACTGGTGTGGACAGCACCAGATGTGGGCGGC	
Lúa I5	(1320) GGGGAGGCAATCATCGCTACTGGTGTGGACAGCACCAGATGTGGGCGGC	
wt _ I47	(1336) GGGGAGGCAATCATCGCTACTGGTGTGGACAGCACCAGATGTGGGCGGC	
Sự liên ứng	(1351) GGGGAGGCAATCATCGCTACTGGTGTGGACAGCACCAGATGTGGGCGGC	
Lúa I1	1401	1450
Lúa I4	(1370) ACAATATTACACCTACAAGCGGCCACGGCAGTGGCTGTCTTCGGCTGGTC	
Lúa I5	(1370) ACAATATTACACCTACAAGCGGCCACGGCAGTGGCTGTCTTCGGCTGGTC	
wt _ I47	(1386) ACAATATTACACCTACAAGCGGCCACGGCAGTGGCTGTCTTCGGCTGGTC	
Sự liên ứng	(1401) ACAATATTACACCTACAAGCGGCCACGGCAGTGGCTGTCTTCGGCTGGTC	
Lúa I1	1451	1500
Lúa I4	(1420) TGGGCGCAATGGGATTTGGGCTGCCTGCTGCAGCTGGTGCCTCTGTGGCT	
Lúa I5	(1420) TGGGCGCAATGGGATTTGGGCTGCCTGCTGCAGCTGGTGCCTCTGTGGCT	
wt _ I47	(1436) TGGGCGCAATGGGATTTGGGCTGCCTGCTGCAGCTGGTGCCTCTGTGGCT	
Sự liên ứng	(1451) TGGGCGCAATGGGATTTGGGCTGCCTGCTGCAGCTGGTGCCTCTGTGGCT	
Lúa I1	1501	1550
Lúa I4	(1470) AACCCAGGTGTCAAGTTGTTGATATTGATGGGGATGGTAGCTTCCTCAT	
Lúa I5	(1470) AACCCAGGTGTCAAGTTGTTGATATTGATGGGGATGGTAGCTTCCTCAT	
wt _ I47	(1486) AACCCAGGTGTCAAGTTGTTGATATTGATGGGGATGGTAGCTTCCTCAT	
Sự liên ứng	(1501) AACCCAGGTGTCAAGTTGTTGATATTGATGGGGATGGTAGCTTCCTCAT	
Lúa I1	1551	1600
Lúa I4	(1520) GAACATTCAGGAGTTGGCATTGATCCGCATTGAGAACCTCCCGTGAAGG	
Lúa I5	(1520) GAACATTCAGGAGTTGGCATTGATCCGCATTGAGAACCTCCCGTGAAGG	
wt _ I47	(1536) GAACATTCAGGAGTTGGCATTGATCCGCATTGAGAACCTCCCGTGAAGG	
Sự liên ứng	(1551) GAACATTCAGGAGTTGGCATTGATCCGCATTGAGAACCTCCCGTGAAGG	
Lúa I1	1601	1650
Lúa I4	(1570) TGATGGTGTGAACAACCAACATTTGGGTATGGTTGTGCAATGGGAGGAT	
Lúa I5	(1570) TGATGGTGTGAACAACCAACATTTGGGTATGGTTGTGCAATGGGAGGAT	
wt _ I47	(1586) TGATGGTGTGAACAACCAACATTTGGGTATGGTTGTGCAATGGGAGGAT	
Sự liên ứng	(1601) TGATGGTGTGAACAACCAACATTTGGGTATGGTTGTGCAATGGGAGGAT	
Lúa I1	1651	1700
Lúa I4	(1620) AGGTTTACAAAGGCAATAGGGCGCATACATACTTGGGCAACCCAGAATG	
Lúa I5	(1620) AGGTTTACAAAGGCAATAGGGCGCATACATACTTGGGCAACCCAGAATG	
wt _ I47	(1636) AGGTTTACAAAGGCAATAGGGCGCATACATACTTGGGCAACCCAGAATG	
Sự liên ứng	(1651) AGGTTTACAAAGGCAATAGGGCGCATACATACTTGGGCAACCCAGAATG	
Lúa I1	1701	1750
Lúa I4	(1670) TGAGAGTGAGATATATCCAGATTTTGTGACTATTGCTAAAGGGTTCAATA	
Lúa I5	(1670) TGAGAGTGAGATATATCCAGATTTTGTGACTATTGCTAAAGGGTTCAATA	
wt _ I47	(1686) TGAGAGTGAGATATATCCAGATTTTGTGACTATTGCTAAAGGGTTCAATA	
Sự liên ứng	(1701) TGAGAGTGAGATATATCCAGATTTTGTGACTATTGCTAAAGGGTTCAATA	

13/21

	1751	1800
Lúa I1	(1720) TTCCTGCAGTCCGTGTAACAAAGAAGAGTGAAGTCCGTGCCGCCATCAAG	
Lúa I4	(1720) TTCCTGCAGTCCGTGTAACAAAGAAGAGTGAAGTCCGTGCCGCCATCAAG	
Lúa I5	(1736) TTCCTGCAGTCCGTGTAACAAAGAAGAGTGAAGTCCGTGCCGCCATCAAG	
wt _ I47	(1751) TTCCTGCAGTCCGTGTAACAAAGAAGAGTGAAGTCCGTGCCGCCATCAAG	
Sự liên ứng	(1751) TTCCTGCAGTCCGTGTAACAAAGAAGAGTGAAGTCCGTGCCGCCATCAAG	
	1801	1850
Lúa I1	(1770) AAGATGCTCGATACCCAGGGCCATACTTGTTGGATATCATCGTCCCACA	
Lúa I4	(1770) AAGATGCTCGATACCCAGGGCCATACTTGTTGGATATCATCGTCCCACA	
Lúa I5	(1786) AAGATGCTCGATACCCAGGGCCATACTTGTTGGATATCATCGTCCCACA	
wt _ I47	(1801) AAGATGCTCGATACCCAGGGCCATACTTGTTGGATATCATCGTCCCACA	
Sự liên ứng	(1801) AAGATGCTCGATACCCAGGGCCATACTTGTTGGATATCATCGTCCCACA	
	1851	1900
Lúa I1	(1820) CCAGGAGCATGTGCTGCCTATGATCCCAAGTGGGGGCGCATTCAAGGACA	
Lúa I4	(1820) CCAGGAGCATGTGCTGCCTATGATCCCAAGTGGGGGCGCATTCAAGGACA	
Lúa I5	(1836) CCAGGAGCATGTGCTGCCTATGATCCCAAGTGGGGGCGCATTCAAGGACA	
wt _ I47	(1851) CCAGGAGCATGTGCTGCCTATGATCCCAAGTGGGGGCGCATTCAAGGACA	
Sự liên ứng	(1851) CCAGGAGCATGTGCTGCCTATGATCCCAAGTGGGGGCGCATTCAAGGACA	
	1901	1950
Lúa I1	(1870) TGATCCTGGATGGTGTATGGCAGGACTGTGTATTAATCTATAATCTGTATG	
Lúa I4	(1870) TGATCCTGGATGGTGTATGGCAGGACTGTGTATTAATCTATAATCTGTATG	
Lúa I5	(1886) TGATCCTGGATGGTGTATGGCAGGACTGTGTA-----	
wt _ I47	(1901) TGATCCTGGATGGTGTATGGCAGGACTGTGTATTAATCTATAATCTGTATG	
Sự liên ứng	(1901) TGATCCTGGATGGTGTATGGCAGGACTGTGTATTAATCTATAATCTGTATG	
	1951	1986
Lúa I1	(1920) TTGGCAAAGCACCAGCCCGGC-----	
Lúa I4	(1920) TTGGCA-----	
Lúa I5	(1917) -----	
wt _ I47	(1951) TTGGCAAAGCACCAGCCCGGCCTATGTTGACCTGA	
Sự liên ứng	(1951) TTGGCAAAGCACCAGCCCGGC	

14/21
FIG.3

Sự sắp xếp các trình tự nucleotit của IMINTA 1, IMINTA 4, và IMINTA 5 với các chuỗi AHAS giống lúa kiểu hoang

	1	50
Lúa I1	(1) -----LSAAATAKTGRKNHQRHHVFPARGRVGAAAVRCSAVSPV	
Lúa I4	(1) -----LSAAATAKTGRKNHQRHHVFPARGRVGAAAVRCSAVSPV	
Lúa I5	(1) -----AAAAATLSAAATAKTGRKNHQRHHVFPARGRVGAAAVRCSAVSPV	
Lúa _wt_ I47	(1) MATTAATAATAATLSAAATAKTGRKNHQRHHVFPARGRVGAAAVRCSAVSPV	
Sự liên ứng	(1) AAAAAATLSAAATAKTGRKNHQRHHVFPARGRVGAAAVRCSAVSPV	
	51	100
Lúa I1	(40) TPPSPAPPATPLRPWGPAPRKGADILVEALERCGRVSDVFAYPGGTSMEI	
Lúa I4	(40) TPPSPAPPATPLRPWGPAPRKGADILVEALERCGRVSDVFAYPGGTSMEI	
Lúa I5	(46) TPPSPAPPATPLRPWGPAPRKGADILVEALERCGRVSDVFAYPGGTSMEI	
Lúa _wt_ I47	(51) TPPSPAPPATPLRPWGPAPRKGADILVEALERCGRVSDVFAYPGGTSMEI	
Sự liên ứng	(51) TPPSPAPPATPLRPWGPAPRKGADILVEALERCGRVSDVFAYPGGTSMEI	
	101	150
Lúa I1	(90) HQALTRSPVITNHLFRHEQGEAFAASGYARASGRVGVCVATSGPGATNLV	
Lúa I4	(90) HQALTRSPVITNHLFRHEQGEAFAASGYARASGRVGVCVATSGPGATNLV	
Lúa I5	(96) HQALTRSPVITNHLFRHEQGEAFAASGYARASGRVGVCVATSGPGATNLV	
Lúa _wt_ I47	(101) HQALTRSPVITNHLFRHEQGEAFAASGYARASGRVGVCVATSGPGATNLV	
Sự liên ứng	(101) HQALTRSPVITNHLFRHEQGEAFAASGYARASGRVGVCVATSGPGATNLV	
	151	200
Lúa I1	(140) SALADALLDSVPMVAITGQVPRRMIGTDAFQETPIVEVTRSITKHNVLV	
Lúa I4	(140) SALADALLDSVPMVAITGQVPRRMIGTDAFQETPIVEVTRSITKHNVLV	
Lúa I5	(146) SALADALLDSVPMVAITGQVPRRMIGTDAFQETPIVEVTRSITKHNVLV	
Lúa _wt_ I47	(151) SALADALLDSVPMVAITGQVPRRMIGTDAFQETPIVEVTRSITKHNVLV	
Sự liên ứng	(151) SALADALLDSVPMVAITGQVPRRMIGTDAFQETPIVEVTRSITKHNVLV	
	201	250
Lúa I1	(190) DVEDIPRVIQEAFFLASSGRPGFVLVDIPKDIQQQMAVPVWDTSMNLPGY	
Lúa I4	(190) DVEDIPRVIQEAFFLASSGRPGFVLVDIPKDIQQQMAVPVWDTSMNLPGY	
Lúa I5	(196) DVEDIPRVIQEAFFLASSGRPGFVLVDIPKDIQQQMAVPVWDTSMNLPGY	
Lúa _wt_ I47	(201) DVEDIPRVIQEAFFLASSGRPGFVLVDIPKDIQQQMAVPVWDTSMNLPGY	
Sự liên ứng	(201) DVEDIPRVIQEAFFLASSGRPGFVLVDIPKDIQQQMAVPVWDTSMNLPGY	
	251	300
Lúa I1	(240) IARLPKPPATELLEQVLRVIGESRRPILYVGGGCSASGDELRRFVELTGI	
Lúa I4	(240) IARLPKPPATELLEQVLRVIGESRRPILYVGGGCSASGDELRRFVELTGI	
Lúa I5	(246) IARLPKPPATELLEQVLRVIGESRRPILYVGGGCSASGDELRRFVELTGI	
Lúa _wt_ I47	(251) IARLPKPPATELLEQVLRVIGESRRPILYVGGGCSASGDELRRFVELTGI	
Sự liên ứng	(251) IARLPKPPATELLEQVLRVIGESRRPILYVGGGCSASGDELRRFVELTGI	
	301	350
Lúa I1	(290) PVTTLTLMGLGNFSPDDPLSLRMLGMHGT VYANYAVDKADLLLAFGVRFDD	
Lúa I4	(290) PVTTLTLMGLGNFSPDDPLSLRMLGMHGT VYANYAVDKADLLLAFGVRFDD	
Lúa I5	(296) PVTTLTLMGLGNFSPDDPLSLRMLGMHGT VYANYAVDKADLLLAFGVRFDD	
Lúa _wt_ I47	(301) PVTTLTLMGLGNFSPDDPLSLRMLGMHGT VYANYAVDKADLLLAFGVRFDD	
Sự liên ứng	(301) PVTTLTLMGLGNFSPDDPLSLRMLGMHGT VYANYAVDKADLLLAFGVRFDD	
	351	400
Lúa I1	(340) RVTGKIEAFASRAKIVHIDIDPAEIGKNKQPHVSI CADVKLALQGLNALL	
Lúa I4	(340) RVTGKIEAFASRAKIVHIDIDPAEIGKNKQPHVSI CADVKLALQGLNALL	
Lúa I5	(346) RVTGKIEAFASRAKIVHIDIDPAEIGKNKQPHVSI CADVKLALQGLNALL	
Lúa _wt_ I47	(351) RVTGKIEAFASRAKIVHIDIDPAEIGKNKQPHVSI CADVKLALQGLNALL	
Sự liên ứng	(351) RVTGKIEAFASRAKIVHIDIDPAEIGKNKQPHVSI CADVKLALQGLNALL	

15/21

	401		450
Lúa I1	(390)	DQSTTKTSSDFS AWHNELDQOKREFPLGYKTFGEEIPPOYAIQVLDLTK	
Lúa I4	(390)	DQSTTKTSSDFS AWHNELDQOKREFPLGYKTFGEEIPPOYAIQVLDLTK	
Lúa I5	(396)	DQSTTKTSSDFS AWHNELDQOKREFPLGYKTFGEEIPPOYAIQVLDLTK	
Lúa _wt_ I47	(401)	DQSTTKTSSDFS AWHNELDQOKREFPLGYKTFGEEIPPOYAIQVLDLTK	
Sự liên ứng	(401)	DQSTTKTSSDFS AWHNELDQOKREFPLGYKTFGEEIPPOYAIQVLDLTK	451
			500
Lúa I1	(440)	GEAIATGVGQHQM WAAQYYTYKRPRQWLSSAGLGAMGFGLPAAAGASVA	
Lúa I4	(440)	GEAIATGVGQHQM WAAQYYTYKRPRQWLSSAGLGAMGFGLPAAAGASVA	
Lúa I5	(446)	GEAIATGVGQHQM WAAQYYTYKRPRQWLSSAGLGAMGFGLPAAAGASVA	
Lúa _wt_ I47	(451)	GEAIATGVGQHQM WAAQYYTYKRPRQWLSSAGLGAMGFGLPAAAGASVA	
Sự liên ứng	(451)	GEAIATGVGQHQM WAAQYYTYKRPRQWLSSAGLGAMGFGLPAAAGASVA	501
			550
Lúa I1	(490)	NPGVTVVDIDGGSFLMNIQELALIRIENLPVKVMVLNNQHLGMVVQWED	
Lúa I4	(490)	NPGVTVVDIDGGSFLMNIQELALIRIENLPVKVMVLNNQHLGMVVQWED	
Lúa I5	(496)	NPGVTVVDIDGGSFLMNIQELALIRIENLPVKVMVLNNQHLGMVVQWED	
Lúa _wt_ I47	(501)	NPGVTVVDIDGGSFLMNIQELALIRIENLPVKVMVLNNQHLGMVVQWED	
Sự liên ứng	(501)	NPGVTVVDIDGGSFLMNIQELALIRIENLPVKVMVLNNQHLGMVVQWED	551
			600
Lúa I1	(540)	RFYKANRAHTYLGNPECESEIYPDFVTIAKGFNIPAVRVTKKSEVRRAIK	
Lúa I4	(540)	RFYKANRAHTYLGNPECESEIYPDFVTIAKGFNIPAVRVTKKSEVRRAIK	
Lúa I5	(546)	RFYKANRAHTYLGNPECESEIYPDFVTIAKGFNIPAVRVTKKSEVRRAIK	
Lúa _wt_ I47	(551)	RFYKANRAHTYLGNPECESEIYPDFVTIAKGFNIPAVRVTKKSEVRRAIK	
Sự liên ứng	(551)	RFYKANRAHTYLGNPECESEIYPDFVTIAKGFNIPAVRVTKKSEVRRAIK	601
			644
Lúa I1	(590)	KMLDTPGPYLLDIIIVPHQEHVLPMPISGGAFKDMILDGDGRTVY	
Lúa I4	(590)	KMLDTPGPYLLDIIIVPHQEHVLPMPISGGAFKDMILDGDGRTVY	
Lúa I5	(596)	KMLDTPGPYLLDIIIVPHQEHVLPMPISGGAFKDMILDGDGRTV-	
Lúa _wt_ I47	(601)	KMLDTPGPYLLDIIIVPHQEHVLPMPISGGAFKDMILDGDGRTVY	
Sự liên ứng	(601)	KMLDTPGPYLLDIIIVPHQEHVLPMPISGGAFKDMILDGDGRTVY	

FIG.4A

Trình tự nucleotit AHAS có độ dài hoàn chỉnh tạo ra khả năng kháng chất diệt cỏ imidazolinon (SEQ ID NO: 11)

ATGGCTACGACCGCCGCGCGCCGCGCCGCGCCACCTTGTCCGCGCGCGCGAC
 GGCCAAGACCGGCCGTAAGAACCACCAGCGACACCACGTCTTTCCCGCTC
 GAGGCCGGGTGGGGGCGGCGCGGTTCAGGTGCTCGGCGGTGTCCCGGTC
 ACCCCGCCGTCCCCGCGCGCGCGCCGACGCCGCTCCGGCCGTGGGGGCC
 GGCCGAGCCCCGCAAGGGCGCGGACATCCTCGTGGAGGCGCTGGAGCGGT
 GCGGCGTCAGCGACGTGTTCCGCTACCCGGGCGGCACGTCCATGGAGATC
 CACCAGGCGCTGACGCGCTCCCCGGTCATCACCACCAACCTCTTCCGCCA
 CGAGCAGGGCGAGGCGTTCGCGGCGTCCGGGTACGCGCGCGCGTCCGGCC
 GCGTCGGGGTCTGCGTCGCCACCTCCGGCCCCGGGGCAACCAACCTCGTG
 TCCGCGCTCGCCGACGCGCTGCTCGACTCCGTCCCGATGGTCGCCATCAC
 GGGCCAGGTCCCCCGCCGCATGATCGGCACCGACGCCTTCCAGGAGACGC
 CCATAGTCGAGGTCACCCGCTCCATCACCAGCACAATTACCTTGTCTT
 GATGTGGAGGACATCCCCCGCTCATAAGGAAGCCTTCTTCTCGCGTC
 CTCGGGCGCTCCTGGCCCGGTGCTGGTTCGACATCCCCAAGGACATCCAGC
 AGCAGATGGCTGTGCCAGTCTGGGACACCTCGATGAATCTACCGGGGTAC
 ATTGCACGCCTGCCCAAGCCACCCGCGACAGAATTGCTTGAGCAGGTCTT
 GCGTCTGGTTGGCGAGTCACGGCGCCCGATTCTCTATGTGCGGTGGTGGCT
 GCTCTGCATCTGGTGATGAATTGCGCCGGTTTGTGAGCTGACCGGCATC
 CCAGTTACAACCACTCTGATGGGCCTCGGCAATTTCCCCAGTGATGATCC
 GTTGTCCCTGCGCATGCTTGGGATGCATGGCACGGTGTACGCAAATTATG
 CGGTGGATAAGGCTGACCTGTTGCTTGCATTTGGCGTGCGGTTTGATGAT
 CGTGTGACAGGGAAAATTGAGGCTTTTGCAAGCAGGGCCAAGATTGTGCA
 CATTGACATTGATCCAGCGGAGATTGGAAAGAACAAGCAACCACATGTGT
 CAATTTGCGCAGATGTTAAGCTTGCTTTACAGGGCTTGAATGCTCTGCTA
 GACCAGAGCACAACAAGACAAGTTCTGATTTTAGTGCGTGGCACAATGA
 GTTGGACCAGCAGAAGAGGGAGTTTCCCTCTGGGGTACAAGACTTTTGGTG
 AAGAGATCCACCGCAATATGCTATTCAGGTGCTGGATGAGCTGACGAAA
 GGGGAGGCAATCATCGCTACTGGTGTGGACAGCACCAGATGTGGGCGGC
 ACAATATTACACCTACAAGCGGCCACGGCAGTGGCTGTCTTCGGCTGGTC
 TGGGCGCAATGGGATTTGGGCTGCCTGCTGCAGCTGGTGCTTCTGTGGCT
 AACCAGGTGTCACAGTTGTTGATATTGATGGGGATGGTAGCTTCCTCAT
 GAACATTCAGGAGTTGGCATTGATCCGCATTGAGAACCTCCCGGTGAAGG
 TGATGGTGTTGAACAACCAACATTTGGGTATGGTTGTGCAATGGGAGGAT
 AGGTTTTACAAGGCAAATAGGGCGCATACTTGGGCAACCCAGAATG
 TGAGAGTGAGATATATCCAGATTTTGTGACTATTGCTAAAGGGTTCAATA
 TTCTTGCAGTCCGTGTAACAAAGAAGAGTGAAGTCCGTGCCGCCATCAAG
 AAGATGCTCGATACCCAGGGCCATACTTGTGGATATCATCGTCCCACA
 CCAGGAGCATGTGCTGCCTATGATCCCAAGTGGGGGCGCATTCAGGACA
 TGATCCTGGATGGTGATGGCAGGACTGTGTACCTGA

17/21

FIG.4B

Trình tự axit amin AHAS có độ dài hoàn chỉnh được suy diễn tạo ra khả năng kháng chất diệt cỏ imidazolinon (SEQ ID NO: 12)

MATTAAAAATLSAAATAKTGRKNHQRRHHVFPARGRVGAAAVRCSAVSPV
 TPPSPAPPATPLRPWGPAEPRKGADILVEALERCGVSDVFAYPGGTSMEI
 HQALTRSPVITNHLFRHEQGEAFAASGYARASGRVGVCVATSGPGATNLV
 SALADALLDSVPMVAITGQVPRRMIGTDAFQETPIVEVTRSITKHNYLVL
 DVEDIPRVIQEAFFLASSGRPGPVLVDIPKDIQQQMAVPVWDTSMNLPGY
 IARLPKPPATELLEQVLRVLVGESRRPILYVGGGCSASGDELRRFVELTGI
 PVTTLMLGLGNFPSDDPLSLRMLGMHGTVYANYAVDKADLLLAFGVRFDD
 RVTGKIEAFASRAKIVHIDIDPAEIGKNKQPHVSIKADVKLALQGLNALL
 DQSTTKTSSDFSAWHNELDQQKREFPLGYKTFGEEIPPQYAIQVLDELTK
 GEAIATGVGQHQMWAQYYTYKRPRQWLSSAGLGAMGFGLPAAAGASVA
 NPGVTVVDIDGDGSFLMNIQELALIRIENLPVKVMVLNNQHLGMVVQWED
 RFYKANRAHTYLGNPECESEIYPDFVTIAKGFNIPAVRVTKKSEVRRAIK
 KMLDTPGPYLLDIIVPHQEHVLPMIIPSGGAFKDMILDGDGRTVY

18/21

FIG.5

I	II	III
IMINTA 1 không được xử lý	IRGA 417	IMINTA 1 không được xử lý
IMINTA 1 3X	IMINTA 1 không được xử lý	IMINTA 1 3X
IRGA 417	IMINTA 1 3X	IRGA 417

20/21

FIG.7

Sản lượng hạt độ ẩm 14%

Việc xử lý	Sản lượng hạt trung bình Kg/ha
IMINTA 1 3X	3323 a
IMINTA 1 TEST	2908 a
IRGA 417	2796 a
l.s.d	763
c.v.%	11,2
P =	0,244

21/21

FIG.8

Thành phần sản lượng

Việc xử lý	Chuỳ/m ²	1000 trọng lượng hạt	% khoảng trống	Bông con/ chuỳ	Bông con/m ²
IMINTA 1 3X	453 a	21,7567 a	37,26	59,23 a	26804 a
IMINTA 1 không được xử lý	405 ab	21,2567 b	37,05	51,06 a	21145 ab
IRGA 417	307 b	22,1067 a	27,99	62,10 a	19061 b
l.s.d	116	0,4386	14,9	3,29	6889
c.v.%	13,2	0,9	19,2	2,52	13,6
P =	0,057	0,014	0,257	0,002	0,076