

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 376 003**

51 Int. Cl.:  
**C12N 15/82** (2006.01)  
**C12N 9/10** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **07703096 .3**  
96 Fecha de presentación: **29.01.2007**  
97 Número de publicación de la solicitud: **1989312**  
97 Fecha de publicación de la solicitud: **12.11.2008**

54 Título: **USO DE TREHALOSA-6-FOSFATO SINTASA PARA MODULAR EL CRECIMIENTO VEGETAL.**

30 Prioridad:  
**27.01.2006 EP 06100950**  
**19.04.2006 EP 06112770**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**08.03.2012**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**08.03.2012**

73 Titular/es:  
**VIB VZW**  
**RIJVISSCHESTRAAT 120**  
**9052 ZWIJNAARDE, BE y**  
**K.U. LEUVEN RESEARCH AND DEVELOPMENT**

72 Inventor/es:  
**LEYMAN, Barbara;**  
**RAMON, Matthew;**  
**ROLLAND, Filip;**  
**THEVELEIN, Johan;**  
**VAN DIJCK, Patrick y**  
**VANDESTEENE, Lies**

74 Agente/Representante:  
**Lehmann Novo, Isabel**

ES 2 376 003 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Uso de trehalosa-6-fosfato sintasa para modular el crecimiento vegetal

La presente invención se refiere al uso de la inactivación de una trehalosa-6-fosfato sintasa vegetal de clase II para promover el crecimiento vegetal. Más específicamente, se refiere al uso de la inactivación de la trehalosa-6-fosfato sintasa de clase II, que comprende tanto una parte similar a sintasa como una parte similar a fosfatasa, para promover el crecimiento vegetal. Preferiblemente, la actividad de la trehalosa-6-fosfato sintasa de clase II se disminuye para obtener una mayor producción de biomasa vegetal. La trehalosa es un disacárido muy extendido, que aparece en bacterias, hongos, insectos y plantas. En microbios, la acumulación de trehalosa está asociada generalmente con resistencia a estrés, no al menos con resistencia a estrés osmótico y de desecación. En plantas, sin embargo, excepto para algunas plantas de la resurrección tales como *Selaginella lepidophylla*, el papel de la trehalosa es menos claro.

En la mayoría de los casos, la síntesis de trehalosa es un proceso de dos etapas en el que la trehalosa-6-fosfato sintasa (TPS) sintetiza trehalosa-6-fosfato (T6P), seguido de una desfosforilación hasta trehalosa mediante T6P fosfatasa (TPP). Aunque en la mayoría de las plantas la trehalosa es muy poco detectable, están presentes múltiples homólogos tanto del gen de TPS como de TPP, por ejemplo en *Arabidopsis* (Vogel et al., 2001; Leyman et al., 2001; Eastmond et al., 2003). La acumulación de trehalosa obtenida en plantas transgénicas, transformadas con genes heterólogos de la biosíntesis de trehalosa, conduce a una tolerancia mejorada a estrés abiótico (Garg et al., 2002; Jang et al., 2003). Sin embargo, la ausencia de acumulación significativa de trehalosa en la mayoría de las plantas, a pesar de la presencia de múltiples genes de la biosíntesis de trehalosa, prueba el papel regulador de los productos génicos en lugar del papel de la trehalosa como protector contra el estrés. De hecho, varios autores sugieren un papel regulador para TPS (Avonce et al 2004) y su producto génico T6P en el metabolismo del azúcar (Eastmond et al., 2003) y la síntesis del almidón (Kolbe et al., 2005). T6P es indispensable para la utilización de hidratos de carbono y el crecimiento (Schluepmann et al., 2003), pero la acumulación de T6P parece provocar una inhibición del crecimiento en plántulas (Schluepmann et al., 2004). Los actuales datos son algunas veces contradictorios, y el papel de los genes de la biosíntesis de trehalosa todavía está lejos de estar claro. Ninguna de estas publicaciones relaciona un posible papel de TPS de las plantas, en particular TPS vegetal de clase II, con el crecimiento y producción vegetales.

El documento EP0901527 describe la regulación del metabolismo vegetal modificando el nivel de T6P. Más específicamente, se reivindica un incremento en la producción de plantas incrementando la disponibilidad intracelular de trehalosa-6-fosfato. Sin embargo, bastante contradictoriamente, también se reivindica la estimulación del crecimiento de una célula o tejido vegetal disminuyendo la disponibilidad intracelular de trehalosa-6-fosfato. Nuevamente, como se muestra en la bibliografía reciente, esto indica que el balance de T6P es muy delicado, y está lejos de ser sencillo. Se llevó a cabo la modulación del contenido de T6P expresando genes heterólogos de TPS y TPP en la planta. Aunque la patente menciona que se pueden obtener resultados similares mediante un aumento o disminución de los genes endógenos, se podría esperar que, debido al gran número de genes vegetales, la supresión o sobreexpresión de uno de esos genes tiene sólo un efecto limitado sobre la concentración de T6P, si es que la tiene en absoluto. Esto es especialmente cierto para los genes de TPS de clase II, en los que están presentes tanto un dominio semejante a sintasa como un dominio semejante a fosfatasa. Si ambos dominios están activos, el producto final sería trehalosa en lugar de T6P. Además, para al menos dos genes de TPS de clase II de *Arabidopsis*, AtTPS7 y AtTPS8, no se pudo detectar ninguna actividad de sintasa ni de fosfatasa (Vogel et al., 2001; Eastmond et al., 2003), dando a entender que una manipulación de estos genes no afectaría en absoluto al contenido de T6P de la planta.

Sorprendentemente, se encontró que la inactivación de una TPS de clase II vegetal se puede usar para promover el crecimiento vegetal y la producción de biomasa. De hecho, contrariamente a lo que se podría esperar en base a la bibliografía, la inactivación de la actividad de TPS vegetal conduce a un incremento del crecimiento del tallo y de las raíces, y a un aumento de la biomasa vegetal.

Un primer aspecto de la invención es el uso de la inactivación de una TPS de clase II vegetal para la promoción del crecimiento vegetal. El término "vegetal", como se usa aquí, engloba plantas completas, ancestros y progenie de las plantas, y partes vegetales, incluyendo semillas, brotes, tallos, hojas, raíces (incluyendo tubérculos), flores, y tejidos y órganos, en el que cada uno de los mencionados anteriormente comprende el gen/ácido nucleico de interés. El término "vegetal" también engloba células vegetales, cultivos en suspensión, tejido de callo, embriones, regiones meristemáticas, gametofitos, esporofitos, polen y microesporas, en el que, nuevamente, cada uno de los mencionados anteriormente comprende el gen/ácido nucleico de interés. Las plantas que son particularmente útiles en los métodos de la invención incluyen todas las plantas que pertenecen a la superfamilia Viridiplantae, en particular plantas monocotiledóneas y dicotiledóneas. Como ejemplo no limitante, puede ser una cosecha usada para alimento o forraje, por lo que el incremento de raíces, hojas, tallo o biomasa de semillas aumenta el rendimiento de la cosecha. Como alternativa, la cosecha se puede usar con fines ornamentales o industriales, tal como la producción de almidón, o se puede usar como materia prima para la producción de biocombustible. Las cosechas conocidas para biocombustible son conocidas por la persona experta en la técnica, e incluyen, pero no se limitan a,

cosechas alimentarias tales como maíz, haba de soja, linaza, colza, caña de azúcar, cosechas industriales, tales como cáñamo y panizo de pradera, pero también biomasa maderera tal como álamo y sauce.

TPS, como se usa aquí, se refiere a la homología estructural del gen y proteína con otros miembros de la familia de trehalosa-6-fosfato, pero no implica que la proteína tiene una actividad sintetizadora de trehalosa-6-fosfato efectiva. Preferiblemente, dicha TPS tiene un dominio homólogo a la glucosil transferasa 20 (pfam00982.12). El término “dominio” se refiere a un conjunto de aminoácidos conservados en posiciones específicas a lo largo de un alineamiento de secuencias de proteínas evolutivamente relacionadas. Mientras que los aminoácidos en otras posiciones pueden variar entre homólogos, los aminoácidos que están muy conservados en posiciones específicas indican aminoácidos que son probablemente esenciales en la estructura, estabilidad o actividad de una proteína. Identificados mediante su grado elevado de conservación en secuencias alineadas de una familia de homólogos proteicos, se pueden usar como identificadores para determinar si cualquier polipéptido en cuestión pertenece a una familia polipeptídica previamente identificada. Como ejemplo no limitante, debido a su estructura, TPS, como se usa aquí, puede tener una actividad de T6P fosfatasa, o una combinación de actividad de sintasa y fosfatasa. El uso de la inactivación de TPS, como se menciona aquí, cubre el uso de la inactivación del gen, el uso de la inactivación de la proteína, así como el uso de compuestos que disminuyen la actividad de la proteína. Como ejemplo no limitante, un compuesto que disminuye la actividad de la TPS puede ser un anticuerpo inactivador anti-TPS.

Preferiblemente dicha TPS es una TPS de clase II, según la clasificación en *Arabidopsis thaliana*. Una TPS de clase II comprende tanto un dominio semejante a trehalosa-6-fosfato sintasa, así como un dominio semejante a trehalosa-6-fosfato fosfatasa (Leyman et al, 2001, Vogel et al., 2001); preferiblemente, dicha TPS de clase II comprende un dominio semejante a trehalosa-6-fosfato sintasa, así como un dominio semejante a trehalosa-6-fosfato fosfatasa que comprende una caja de fosfatasa con la secuencia LDYD (G/D) T y/o una caja de fosfatasa con la secuencia GDD(R/Q)SD; más preferiblemente, dicha TPS de clase II comprende tanto un dominio semejante a trehalosa-6-fosfato sintasa como un dominio semejante a trehalosa-6-fosfato fosfatasa que comprende al menos una, preferiblemente dos cajas de fosfatasa como se describe por Leyman et al. (2001). Incluso más preferiblemente, dicha TPS se selecciona de un grupo que consiste en SEC ID N° 1-15 (AtTPS5-11, ortólogo del arroz, ortólogos del álamo), o sus homólogos, ortólogos o parálogos. “Homólogos” de una proteína engloba péptidos, oligopéptidos, polipéptidos, proteínas y enzimas que tienen sustituciones, supresiones y/o inserciones de aminoácidos con relación a la proteína sin modificar en cuestión, y que tienen actividad biológica y funcional similar a la proteína sin modificar de la que derivan. Una supresión se refiere a la eliminación de uno o más aminoácidos de una proteína. Una inserción se refiere a la introducción de uno o más restos de aminoácidos en un sitio predeterminado en una proteína. Las inserciones pueden comprender fusiones N-terminales y/o C-terminales, así como inserciones intrasecuencias de aminoácidos individuales o múltiples aminoácidos. Una sustitución se refiere a una sustitución de aminoácidos de la proteína por otros aminoácidos que tienen propiedades similares (tal como similar hidrofobia, hidrofilia, antigenicidad, propensión a formar o romper estructuras helicoidales  $\alpha$  o estructuras de láminas  $\beta$ ). Las sustituciones de aminoácidos son típicamente de restos individuales, pero se pueden agrupar dependiendo de las restricciones funcionales sobre el polipéptido; las inserciones serán habitualmente del orden de alrededor de 1 a 10 restos de aminoácidos. Las sustituciones de aminoácidos son preferiblemente sustituciones de aminoácidos conservativas. Las tablas de sustituciones conservativas son bien conocidas en la técnica.

“Ortólogos” y “parálogos” engloban conceptos evolutivos usados para describir las relaciones ancestrales de genes. Los parálogos son genes dentro de la misma especie que se han originado a través de la duplicación de un gen ancestral, y los ortólogos son genes procedentes de diferentes organismos que se han originado a través de evolución de las especies. Los ortólogos y parálogos se pueden encontrar fácilmente llevando a cabo una denominada búsqueda BLAST recíproca. Típicamente, esto implica utilizar un primer programa BLAST que implica comparar mediante alineamiento SEC ID N° 1 o SEC ID N° 4 como secuencia problema (*query*), usando BLASTP o TBLASTN (usando valores estándar por defecto). Los resultados de BLAST se pueden filtrar opcionalmente. Las secuencias de longitud completa de los resultados filtrados o de los resultados no filtrados se vuelven entonces a someter a un programa BLAST (segundo BLAST) frente a secuencias del organismo del que deriva la secuencia problema (cuando la secuencia problema corresponde a AtTPS8 o AtTPS5, el segundo BLAST sería por lo tanto frente a secuencias de *Arabidopsis thaliana*). Entonces se comparan los resultados del primer y segundo BLASTs. Un parólogo se identifica si un acierto de clasificación elevada del primer BLAST es de la misma especie de la que deriva la secuencia problema, y un nuevo BLAST daría entonces idealmente como resultado la secuencia problema entre el acierto más elevado; un ortólogo se identifica si un acierto de clasificación elevada en el primer BLAST no es de la misma especie de la que deriva la secuencia problema, y preferiblemente los resultados con el nuevo BLAST en la secuencia problema están entre los aciertos más elevados. Los aciertos de clasificación elevada son aquellos que tienen un bajo valor E. Cuanto menor es el valor E, más significativa es la puntuación (o, en otras palabras, menor es la probabilidad de que se encuentre el acierto por casualidad). La computación del valor E es bien conocida en la técnica. Además de los valores E, las comparaciones también se pueden puntuar mediante porcentaje de identidad. Porcentaje de identidad se refiere al número de aminoácidos idénticos entre las dos secuencias polipeptídicas comparadas, a lo largo de una longitud particular. En el caso de grandes familias, se puede usar ClustalW, seguido de un árbol de unión de vecinos, para ayudar a visualizar el agrupamiento de genes relacionados e identificar ortólogos y parálogos. Como alternativa, los homólogos, ortólogos y parálogos se pueden

identificar mediante búsquedas de dominios de un dominio de trehalosa sintasa, y de uno de los dominios de fosfatasa. La secuencia proteica de longitud completa se compara entonces con SEC ID N° 4, usando bl2seq (Tatusova y Madden, 1999). Usando este alineamiento, un ortólogo o parólogo tiene al menos identidades del 50%, preferiblemente identidades del 55%, más preferiblemente identidades del 60%. Como ejemplos no limitantes, los ortólogos de AtTPS8 están presentes en *Oryza sativa* (números de acceso de Genpept ABF94728, BAF06162 y BAF11342), *Brassica oleracea* (número de acceso de Genpept ABD65165), *Medicago trunculata* (número de acceso de Genpept ABE86430), *Cyripedium parviflorum* (número de acceso de Genpept AAN86570) y *Ginlo biloba* (número de acceso de Genbank AAX16015).

En una realización preferida, dicha TPS es AtTPS8 (SEC ID N° 4). En otra realización preferida, dicha TPS es AtTPS5 (SEC ID N° 1).

Preferiblemente, dicho uso es una inactivación de la actividad de TPS, y dicha promoción es un incremento en la biomasa vegetal y/o rendimiento vegetal. Los métodos para inactivar la actividad de TPS son conocidos por la persona experta en la técnica, e incluyen, pero no se limitan a, la desactivación génica, el uso de ARNi, silenciamiento génico, desactivación del promotor de TPS, mutaciones inactivadoras en el promotor de TPS o en la región codificante, o la síntesis por la planta de anticuerpos inactivadores frente a TPS. Preferiblemente, se obtiene un aumento de la biomasa vegetal y/o del rendimiento vegetal mediante el aumento del crecimiento de las raíces, el aumento del grosor del tallo, el aumento del número de hojas y/o el aumento del tamaño de las semillas. Una realización preferida es el uso de la inactivación de TPS para promover el crecimiento vegetal, mediante lo cual dicha modulación se obtiene en ausencia de luz. El término "rendimiento" significa en general un producto medible de valor económico, típicamente relacionado con una cosecha específica, con un área, o con un período de tiempo. Las partes individuales de las plantas contribuyen directamente al rendimiento basándose en su número, tamaño y/o peso, o el rendimiento real es el rendimiento por acre para una cosecha y año, que se determina dividiendo la producción total (incluye la producción tanto cosechada como tasada) por acres plantadas. Los términos "incrementar", "mejorar" o "potenciar" son intercambiables, y significarán, en el sentido de la aplicación, al menos un 5%, 6%, 7%, 8%, 9% o 10%, preferiblemente al menos 15% o 20%, más preferiblemente 25%, 30%, 35% o 40% más rendimiento y/o crecimiento en comparación con plantas de control como se define aquí. Un aumento del rendimiento de las semillas se puede manifestar por sí mismo como uno o más de los siguientes: a) un incremento en la biomasa de las semillas (peso total de semillas), que puede ser en una base de semilla individual y/o por planta y/o por hectárea o acre; b) un aumento del número de flores por planta; c) un aumento del número de semillas (llenas); d) un aumento de la tasa de llenado de semillas (que se expresa como la relación entre el número de semillas llenas dividido entre el número total de semillas); e) un aumento del índice de cosechas, que se expresa como la relación del rendimiento de partes cosechables, tales como semillas, dividido entre la biomasa total; y f) un aumento del peso de mil granos (TKW), que se extrapola a partir del número de semillas llenas contadas y su peso total. Un incremento de TKW puede resultar de un incremento del tamaño de las semillas y/o peso de las semillas, y también puede resultar de un incremento en el tamaño de embriones y/o endosperma.

Otro aspecto de la invención es el uso de la inactivación de una TPS de clase II vegetal, como se define anteriormente, para la promoción de la síntesis de almidón. Preferiblemente, dicha promoción es un incremento en la síntesis de almidón. Preferiblemente, dicha TPS es una TPS de clase II, según la clasificación en *Arabidopsis thaliana*. Una TPS de clase II comprende tanto un dominio semejante a trehalosa-6-fosfato sintasa como un dominio semejante a trehalosa-6-fosfato fosfatasa (Leyman et al., 2001, Vogel et al., 2001). Incluso más preferiblemente, dicha TPS se selecciona del grupo que consiste en SEC ID N° 1-15 (TPS5-11, ortólogo del arroz, ortólogo del álamo). En una realización preferida, dicha TPS es AtTPS8 (SEC ID N° 4). En otra realización preferida, dicha TPS es AtTPS5 (SEC ID N° 1).

Todavía otro aspecto de la invención es un método para mejorar diversos rasgos relacionados con el rendimiento en plantas con relación a plantas de control, que comprende modular la expresión y/o traducción en una planta de un ácido nucleico de TPS de clase II y/o un polipéptido de TPS de clase II, en el que dicha expresión modulada consiste en una reducción o eliminación sustancial de la expresión y/o producción de un gen endógeno de TPS de clase II en una planta. Como ejemplo no limitante, dicha reducción o eliminación sustancial se puede obtener mediante silenciamiento de la expresión génica mediado por ARN, mediante coexpresión, mediante el uso de secuencias de ácido nucleico antisentido de TPS de clase II, o mediante el uso de

Todavía otro aspecto de la invención es el método para la producción de una planta transgénica que tiene un rendimiento aumentado con relación a plantas de control, método el cual comprende:

- (i) introducir y expresar en una planta un constructo genético que comprende una o más secuencias de control para reducir la expresión y/o traducción en una planta de un gen endógeno de TPS de clase II; y
- (ii) cultivar la planta, parte vegetal o célula vegetal en condiciones que promuevan el crecimiento y desarrollo vegetal.

Las secuencias de control, como se usa aquí, son secuencias que incluyen en la expresión y/o traducción el gen de TPS de clase II, conocidas por la persona experta en la técnica e incluyen, pero no se limitan a, secuencias que provocan la coexpresión, secuencias que codifican ARN antisentido, y ARNi.

5 También se describe una planta, obtenible según el método de la invención, por lo que dicha planta tiene una expresión reducida de un gen endógeno de TPS de clase II debido a la introducción, en una planta, de una secuencia de ácido nucleico de control de TPS de clase II. La expresión reducida, como se usa aquí, es una expresión que está sustancialmente disminuida cuando la expresión se compara con una planta de control no transformada que se hizo crecer en las mismas condiciones. Los métodos para medir la expresión son conocidos por la persona experta en la técnica; una reducción sustancial es una reducción con preferiblemente 10%, más  
10 preferiblemente 20%, e incluso más preferiblemente 30%.

Breve descripción de las figuras

Figura 1: Longitud de la raíz de *AtTPS8* KO en medio MS, con y sin sacarosa, en luz y en la oscuridad. GT2, GT4 y GT6 son diferentes líneas KO de *AtTPS8*

Figura 2: Niveles de expresión de *AtCYCD3* y *ApL3* en el contexto de *AtTPS8* KO

15 Figura 3: Caracterización fenotípica de las plantas adultas con *AtTPS8* KO en comparación con plantas WT

Figura 4: Datos de la expresión de *AtTPS5* de SALK\_144791

Figura 5: Medidas de la longitud de las raíces de la línea SALK\_144791.

Figura 6: Fenotipo de la línea SALK\_144791 *AtTPS5* KO, en comparación con WT (Columbia), en medio 1 x MS, 1% de sacarosa.

20 Figura 7: Fenotipo de la línea SALK\_144791 *AtTPS5* KO, en comparación con WT (Columbia), en medio 1 x MS, 1% de sacarosa: ensayo sobre el efecto agravitrófico.

Figura 8: Datos de expresión de *AtTPS5* de GT12622

Figura 9: Fenotipo de la línea de Gene Trap GT12622 *AtTPS5* KO, en comparación con WT (Landsberg erecta), en medio 1 x MS, 1% de sacarosa.

25 Figura 10: Fenotipo de la línea de Gene Trap GT12622 *AtTPS5* KO, en comparación con WT (Landsberg erecta), en medio 1 x MS, 1% de sacarosa: ensayo sobre el efecto agravitrófico.

Ejemplos

*Materiales y métodos para los ejemplos*

*Material vegetal para AtTPS8*

30 Se transformaron plantas de *Arabidopsis* de tipo salvaje (Columbia) con constructos de silenciamiento y de sobreexpresión (véase posteriormente). Además, se obtuvo una línea de Gene Trap (GT13138, Landsberg erecta) a través del laboratorio de Martienssen en Cold Spring Harbor Laboratory. Para estudiar el fenotipo de estas plantas, se obtuvieron líneas homocigotas. Se esterilizó la superficie de las semillas, y se hicieron germinar en cápsulas de Petri orientadas verticalmente en medio 1x de Murashige y Skoog (Duchefa) solidificado con agar puro (Duchefa),  
35 con 1% de sacarosa o sin sacarosa (como se indica en las figuras), en un ciclo diario de 12 h a 22°C y 12 h de oscuridad a 18°C. Diez días después de la germinación, se midió la longitud de las raíces de las plantas. Las plantas que se hicieron crecer en condiciones de oscuridad se mantuvieron en la oscuridad durante todo el período de tiempo.

*Constructos*

40 Para el silenciamiento de *AtTPS8* (At1g70290) en *Arabidopsis*, se usaron los vectores de Gateway, pDONR207 y pK7GWIWG2 (Karimi et al, 2002). Se amplificaron 149 pb de una secuencia específica de *AtTPS8* con dos cebadores que contienen los sitios de recombinación *AttB1* y *AttB2*. Cebador directo, GGGGACAAGTTTGTACAAAAAAGCAGGC-TCCGAAGTAACTTCTACCTCC; cebador inverso, GGGGACCACTTTGTACAAG-AAAGCTGGGTCCCATCTCTAAGTTGTAAGT. El constructo se transformó en  
45 células de *Agrobacterium* competentes (cepa C58C1), y se transformó en plantas de *Arabidopsis* WT usando el método inmersión de tejidos florales (Clough, 2005). Se seleccionaron semillas T0 en canamicina, y se transfirieron al suelo para fijar las semillas. Estas semillas T1 se seleccionaron nuevamente en canamicina, y se cribaron en busca de líneas T2 homocigotas.

El constructo de sobreexpresión de *AtTPS8* se obtuvo usando el vector vegetal PCB302. *AtTPS8* de longitud completa se amplificó a partir de ADNc de protoplasto con los siguientes cebadores: cebador directo, CGGGATCCATGGTGTCAAGATCTTGTGCTAA; cebador inverso, AAGGCC-TAACGATGCTTTCAAATGCAACTT. El constructo se transformó en *Agrobacterium* y plantas como se describe anteriormente.

#### 5 *Línea de Gene Trap*

La línea de Gene Trap (GT13138, *Landsberg erecta*) se obtuvo del laboratorio de Martienssen en Cold Spring Harbor Laboratory. Un vector pWS32, que contiene un elemento transposable *Ds* con el gen  $\beta$ -glucuronidasa (GUS) como informador y el gen de neomicin fosfotransferasa (NPTII) como marcador seleccionable, se transformó en *Arabidopsis*, en la que se insertó aleatoriamente en el genoma. Los ensayos de glucuronidasa revelaron inserciones en exones de diferentes genes. Los sitios de inserción se amplificaron entonces mediante TAIL PCR (Liu et al., 1995), y se secuenciaron. Estas secuencias se validaron y anotaron según la secuencia del genoma de *Arabidopsis*.

#### Material vegetal para *AtTPS5*

La línea SALK "SALK 144791" (*Arabidopsis thaliana*, ecotipo *Columbia*) estaba disponible a partir de la colección de Alonso/Crosby/Ecker de plantas transformadas con T-DNA de *Agrobacterium*, y se ordenó en NASC/ABRC. La secuencia de ADN de flanqueo de T-DNA se recuperó y se secuenció por el Salk Institute Genomic analysis Laboratory (SIGnAL), USA, y se predijo que estaba en el primer exón del gen de *AtTPS5* (At4g17770). Las líneas indexadas de secuencias ordenadas segregaron líneas T3. Con el marcador *NPTII* (resistencia a canamicina) y PCR, se seleccionaron plantas homocigotas, en lo sucesivo denominadas como línea 070(2) (cebador directo: 5'TCCTGCTTATATCCCACCTGAGC3'; y cebador inverso: 5'GCGCCGCTTAAAGAAGGAGAA3'). Las secuencias se obtuvieron con el cebador de T-DNA del borde izquierdo (Lba1: 5'TGGTTCACGTAGTGGGCCATCG3'), y el T-DNA se encontró en la posición 923 con relación al codón de INICIO en el ADNc de *AtTPS5*.

La línea de Gene Trap GT12622 (*Arabidopsis thaliana*, ecotipo *Landsberg erecta*) se ordenó de la colección de líneas de inserción de transposones producidas en el laboratorio de Martienssen de Cold Spring Harbor Laboratory, USA (Sundaresan et al., 1995; Martienssen, 1998). La línea se generó usando los transposones *Disociación (Ds)* del maíz, manipulados mediante ingeniería para que portasen un gen informador *uidA* ( $\beta$ -glucuronidasa (GUS)) y un gen de resistencia a canamicina *NPTII* (neomicin fosfotransferasa). Los genes informadores de Gene Trap no tienen promotor, de forma que la expresión de GUS sólo se puede producir cuando el informador se inserta en un gen cromosómico transcrito, creando una fusión transcripcional. Estos elementos monitorizan simultáneamente la expresión génica y destruyen la función del gen endógeno. El constructo de Gene Trap tiene un aceptor con múltiples empalmes fusionado al gen de GUS. Basándose en las secuencias de flanqueo del sitio de inserción obtenidas mediante TAIL-PCR, CSHL predijo que la línea GT12622 posee una única inserción de un elemento DS transposable de Gene Trap en alguna parte en el extremo del primer exón del gen de *AtTPS5* (At4g17770). Las líneas indexadas de secuencias suministradas fueron semillas F3. Con el marcador de canamicina y la PCR, se obtuvieron líneas desactivadas de *AtTPS5* homocigotas (F5), en lo sucesivo denominadas como línea GT4.1 y GT6.2. Se diseñaron cebadores específicos de los genes (cebador directo: 5'TTGGGCGCGTAGCTTTATAC3', y cebador inverso: 5'CAAGAAGATATGAAAACAGCCTCA3'), junto con cebadores en los bordes del constructo de Gene Trap, para amplificar secuencias de flanqueo específicas del sitio de inserción. El lugar exacto de inserción es en la posición 1930 (en el primer exón) en la secuencia de ADNc de *AtTPS5*.

#### 40 *Ejemplo 1: Las líneas de desactivación de TPS8 muestran un crecimiento mejorado en diferentes condiciones de crecimiento*

En la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, la trehalosa es sintetizada en dos reacciones a partir de UDP-glucosa y glucosa-6-fosfato mediante trehalosa-6-fosfato sintasa (codificada por *TPS1*) y trehalosa-6-fosfato fosfatasa (codificada por *TPS2*). En el genoma de *Arabidopsis thaliana*, se han detectado 11 genes semejantes a TPS. Esos genes se pueden agrupar en dos subfamilias, que presentan la mayor similitud con *TPS1* de levadura (que codifica TPS en levadura; clase I) o *TPS2* (que codifica TPP en levadura; clase II) (Leyman et al. 2001). No se sabe casi nada sobre los genes de TPP de tipo clase II en *Arabidopsis*. Para estudiar el efecto de estos genes, se construyeron líneas de desactivación (KO), líneas de ARNi y líneas de sobreexpresión, y se estudiaron como se describe en Materiales y Métodos.

Las líneas se estudiaron en medio 1x de Murashige y Skoog (Duchefa) solidificado con agar puro (Duchefa) (MS), con o sin adición de sacarosa. Las líneas de desactivación representativas se analizaron después de 10 días de germinación. Los resultados para la *AtTPS8* KO se resumen en la Figura 1. Independientemente de las condiciones de crecimiento, la línea KO mostró siempre un incremento significativo en la longitud de las raíces, aunque el efecto fue ligeramente más pronunciado cuando estaba presente la sacarosa en el medio.

#### *Ejemplo 2: La inactivación de TPS8 promueve la expresión de CYCD3 y ApL3*

55 Para analizar el mecanismo subyacente del incremento en el crecimiento, se estudió mediante PCR en tiempo real el efecto de la *AtTPS8* KO sobre la expresión del gen de ciclo celular *AtCYCD3*, y sobre el gen de la biosíntesis del

almidón *ApL3*. Comparados con el tipo salvaje (wt), la expresión tanto de *ApL3* como de *AtCYCD3*, fue significativamente mayor. Los resultados se muestran en la Figura 2. Especialmente, el resultado de *ApL3* es inesperado, ya que Kolbe et al. (2005) han demostrado recientemente que T6P es inductor de la síntesis del almidón, mientras que se podría esperar que la concentración de T6P es menor en la *AtTPS8* KO.

5 *Ejemplo 3: La inactivación de TPS8 da como resultado mayor biomasa y plantas más grandes*

Las plántulas del tipo salvaje y de *AtTPS8* KO se pusieron en el suelo, y se hicieron crecer durante 30 días, para comparar los fenotipos de las plantas adultas. Las plántulas adultas de *AtTPS8* KO crecen más rápidamente en el suelo, tienen más hojas en forma de roseta pero más pequeñas, y el tallo de inflorescencia es el doble de grueso que en el tipo salvaje. La línea KO tiene aproximadamente dos veces tantas silicuas como wt. Las hojas caulinares de la línea KO son mucho más grandes y parecen más hojas en forma de roseta (Figura 3). Esto conduce a un mayor rendimiento de semillas y a un mayor rendimiento de biomasa global de la planta.

*Ejemplo 4: La inactivación de TPS5 promueve el crecimiento de las raíces*

Para evaluar la expresión de *AtTPS5* en la línea SALK\_144791, se aisló ARN de 50 plántulas de la línea 070(2). Los experimentos de RT-PCR (cebador directo: 5'GCACCTCTCAACGCTGATTT3', y cebador inverso: 5'AAGCCCTATGGTTCCACGTT3') en ADNc demostraron una drástica disminución de la expresión de *AtTPS5* (figura 4). Para la caracterización fenotípica, se esterilizaron semillas de la línea 070(2) mediante humectación (100 ml de lejía + 3 ml de HCl al 37%) durante 4-6 horas, y se impregnaron/estratificaron durante dos días en luz constante a 4°C. Después de dos días, las semillas se pusieron en placas estériles con medio para plantas (medio 1x MS pH 5,7 (KOH), 1% de sacarosa) y se incubaron verticalmente en una cámara de crecimiento con un ciclo de luz-oscuridad de 12 h-12 h, 70 microE, 22°C día, 18°C noche. Después de 7 días de germinación, se midieron las longitudes de las raíces de 18 plántulas. Las líneas SALK mostraron un incremento significativo en la longitud de las raíces (figura 5). Este resultado se confirmó en un segundo experimento, y se tomaron fotos de las plántulas después de 13 días de germinación (véase la figura 6). Las plántulas parecieron tener raíces en cierto modo más largas. Sin embargo, es necesario confirmar esto. Algunas placas se giraron 90° para comprobar los posibles efectos gravitróficos. Después de 4 días, no se detectó ningún efecto agravitrófico (figura 7).

*Ejemplo 4: La inactivación de TPS5 de Gene Trap promueve el crecimiento de las raíces y de los hipocotilos*

Para evaluar la expresión de *AtTPS5* en las líneas homocigotas de *TPS5* de Gene Trap, se aisló ARN de 50 plántulas de dos líneas de GT sometidas a desactivación. La RT-PCR (cebador directo: 5'GCACCTCTCAACGCTGATTT3', y cebador inverso: 5'AAGCCCTATGGTTCCACGTT3') demostró una disminución drástica de la expresión de *AtTPS5* (figura 8). Las semillas se esterilizaron mediante humectación (100 ml de lejía + 3 ml de HCl al 37%) durante 4-6 horas, y se impregnaron/estratificaron durante dos días en luz constante a 4°C. Después de dos días, las semillas se pusieron en placas estériles con medio para plantas (medio 1x MS pH 5,7 (KOH), 1% de sacarosa) y se incubaron verticalmente en una cámara de crecimiento con un ciclo de luz-oscuridad de 12 h-12 h, 70 microE, 22°C día, 18°C noche. Diez días después de la germinación, se tomaron fotos de las plántulas (figura 9). Las plántulas parecieron tener raíces significativamente más largas, e hipocotilos más largos. Varios días después de girar las placas 90°, y contrariamente a lo que se observó en Columbia, las plantas mostraron efectos agravitróficos (figura 10).

Referencias

- 40 - Avonce, N., Leyman, D., Mascorro-Gallardo, J.O., Van Dijck, P., Thevelein, J.M. y Iturriaga, G. (2004). The Arabidopsis trehalose-6-p synthase *AtTPS1* gene is a regulator of glucose, abscisic acid and stress signaling. Plant Physiol. 136, 3649-3659.
- Eastmond, P.J., Li, Y. y Graham, I.A. (2003). Is trehalose-6-phosphate a regulator of sugar metabolism in plants? J. Exp. Bot. 54, 533-537.
- 45 - Garg, A.K., Kim, J.K., Owens, T.G., Ranwala, A.P., Choi, Y.D., Kochian, L.V. y Wu, R.J. (2002) Trehalose accumulation in rice plants confers high tolerance levels to different abiotic stresses.
- Jang, I.C., Oh, S.J., Seo, J.S., Choi, W.B., Song, Si., Kim, C.H., Kim, Y.S., Seo, H.S., Choi, Y.D., Nahm, B.H. y Kim, J.K. (2003). Expression of bifunctional fusion of the *Escherichia coli* genes for trehalose-6-phosphate synthase and trehalose-6-phosphate phosphatase in transgenic rice plants increase trehalose accumulation and abiotic stress tolerance without stunting growth. Plant Physiol. 131, 516-524.
- 50 - Kolbe, 1., Tiessen, A., Schlupepman, H., Paul, M., Ulrich, S. And Giegenberger, P. (2005). Trehalose-6-phosphate regulates starch synthesis via posttranslational redox activation of ADP-glucose pyrophosphorylase Proc. Nat. Acad. Sci. USA 102, 11118-11123.

- Leyman, B. Van Dijck, P. y Thevelein, J.M. (2001). An unexpected plethora of trehalose biosynthesis genes in *Arabidopsis thaliana*. *Trends Plant Sci.* 6, 510-513.
- Schluepmann, H., Pellny, T., van Dijken, A. Smeekens, S. y Paul, M. (2003) Trehalose-6-phosphate is indispensable for carbohydrate utilization and growth in *Arabidopsis thaliana*. *Proc. Natl. Aced. Sci. USA* 100, 6849-6854.
- Schluepmann, H., van Dijken, A., Aghdasi, M., Wobbes, B., Paul, M. y Smeekens, S. (2004) Trehalose mediated growth inhibition of *Arabidopsis* seedlings is due to trehalose-6-phosphate accumulation. *Plant Physiol.* 135, 879-890.
- Tatusova, T.A. y Madden, T.L. (1999). Blast 2 sequences - a new tool for comparing protein and nucleotide sequences", *FEMS Microbiol Lett.* 174, 247-250.
- Vogel, G., Fiehn, O., Jean-Richard-dit-Bressel, L., Boller, T., Wiemken, A., Aeschbacher, R.A. y Wingler, A. (2001). Trehalose metabolism in *Arabidopsis*: occurrence of trehalose and molecular cloning and characterization of trehalose-6-phosphate synthase homologues. *J. Experim. Botany* 52, 1817-1826.

LISTADO DE SECUENCIAS

- 15 <110> VIB vzw  
     K.U. Leuven Research and Development
- <120> Uso de trehalosa-6-fosfato sintasa para modular el crecimiento vegetal
- <130> JTH/TPS/V229
- <150> EP06100950.2
- 20 <151> 27-01-2006
- <150> EP06112770.0
- <151> 19-04-2006
- <160> 28
- <170> PatentIn version 3.3
- 25 <210> 1
- <211> 865
- <212> PRT
- <213> *Arabidopsis thaliana*
- <400> 1



ES 2 376 003 T3

Met Ile Ser Asp Tyr Leu Arg His Cys Ile Tyr Phe Thr Cys Cys Arg  
 1 5 10 15

Asp Met Val Ser Arg Ser Tyr Ser Asn Leu Leu Asp Leu Ala Ser Gly  
 20 25 30

Asn Phe His Ser Phe Ser Arg Glu Lys Lys Arg Phe Pro Arg Val Ala  
 35 40 45

Thr Val Thr Gly Val Leu Ser Glu Leu Asp Asp Asp Asn Asn Ser Asn  
 50 55 60

Ser Val Cys Ser Asp Ala Pro Ser Ser Val Thr Gln Asp Arg Ile Ile  
 65 70 75 80

Ile Val Gly Asn Gln Leu Pro Ile Lys Ser His Arg Asn Ser Ala Gly  
 85 90 95

Lys Leu Ser Phe Ser Trp Asp Asn Asp Ser Leu Leu Leu Gln Leu Lys  
 100 105 110

Asp Gly Met Arg Glu Asp Met Glu Val Val Tyr Ile Gly Cys Leu Lys  
 115 120 125

Glu Gln Ile Asp Thr Val Glu Gln Asp Asp Val Ser Gln Arg Leu Leu  
 130 135 140

Glu Asn Phe Lys Cys Val Pro Ala Tyr Ile Pro Pro Glu Leu Phe Thr  
 145 150 155 160

Lys Tyr Tyr His Gly Phe Cys Lys Gln His Leu Trp Pro Leu Phe His  
 165 170 175

ES 2 376 003 T3

Tyr Met Leu Pro Leu Thr Pro Asp Leu Gly Gly Arg Phe Asp Arg Ser  
 180 185 190

Leu Trp Gln Ala Tyr Leu Ser Val Asn Lys Ile Phe Ala Asp Lys Val  
 195 200 205

Met Glu Val Ile Ser Pro Asp Asp Asp Phe Val Trp Val His Asp Tyr  
 210 215 220

His Leu Met Val Leu Pro Thr Phe Leu Arg Lys Arg Phe Asn Arg Val  
 225 230 235 240

Lys Leu Gly Phe Phe Leu His Ser Pro Phe Pro Ser Ser Glu Ile Tyr  
 245 250 255

Arg Thr Leu Pro Val Arg Asn Glu Leu Leu Arg Ala Leu Leu Asn Ala  
 260 265 270

Asp Leu Ile Gly Phe His Thr Phe Asp Tyr Ala Arg His Phe Leu Ser  
 275 280 285

Cys Cys Ser Arg Met Leu Gly Leu Ser Tyr Gln Ser Lys Arg Gly Thr  
 290 295 300

Ile Gly Leu Glu Tyr Tyr Gly Arg Thr Leu Gln Ser Ile Leu Asn Leu  
 305 310 315 320

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

Gln Lys Val Leu Leu Gly Val Asp Asp Met Asp Ile Phe Lys Gly Ile  
 340 345 350

Ser Leu Lys Leu Leu Ala Met Glu Gln Leu Leu Thr Gln His Pro Glu  
 355 360 365

Lys Arg Gly Arg Val Val Leu Val Gln Ile Ala Asn Pro Ala Arg Gly  
 370 375 380

Arg Gly Lys Asp Val Gln Glu Val Gln Ser Glu Thr Glu Ala Thr Val  
 385 390 395 400

Lys Arg Ile Asn Glu Met Phe Gly Arg Pro Gly Tyr Gln Pro Val Val  
 405 410 415

Leu Ile Asp Thr Pro Leu Gln Phe Phe Glu Arg Ile Ala Tyr Tyr Val  
 420 425 430

Ile Ala Glu Cys Cys Leu Val Thr Ala Val Arg Asp Gly Met Asn Leu  
 435 440 445

ES 2 376 003 T3

Ile Pro Tyr Glu Tyr Ile Ile Cys Arg Gln Gly Asn Pro Lys Leu Asn  
450 455 460

Glu Thr Ile Gly Leu Asp Pro Ser Ala Ala Lys Lys Ser Met Leu Val  
465 470 475 480

Val Ser Glu Phe Ile Gly Cys Ser Pro Ser Leu Ser Gly Ala Ile Arg  
485 490 495

Val Asn Pro Trp Asn Ile Asp Ala Val Thr Glu Ala Met Asp Tyr Ala  
500 505 510

Leu Ile Val Ser Glu Ala Glu Lys Gln Met Arg His Glu Lys His His  
515 520 525

Lys Tyr Val Ser Thr His Asp Val Ala Tyr Trp Ala Arg Ser Phe Ile  
530 535 540

Gln Asp Leu Glu Arg Ala Cys Gly Asp His Val Arg Lys Arg Cys Trp  
545 550 555 560

Gly Ile Gly Phe Gly Leu Gly Phe Arg Val Val Ala Leu Asp Pro Ser  
565 570 575

Phe Lys Lys Leu Ser Ile Glu His Ile Val Ser Ala Tyr Lys Arg Thr  
580 585 590

Lys Asn Arg Ala Ile Leu Leu Asp Tyr Asp Gly Thr Met Val Gln Pro  
595 600 605

Gly Ser Ile Arg Thr Thr Pro Thr Arg Glu Thr Ile Glu Ile Leu Asn  
610 615 620

Asn Leu Ser Ser Asp Pro Lys Asn Ile Val Tyr Leu Val Ser Gly Lys  
625 630 635 640

Asp Arg Arg Thr Leu Thr Glu Trp Phe Ser Ser Cys Asp Asp Leu Gly  
645 650 655

Leu Gly Ala Glu His Gly Tyr Phe Ile Arg Pro Asn Asp Gly Thr Asp  
660 665 670

Trp Glu Thr Ser Ser Leu Val Ser Gly Phe Glu Trp Lys Gln Ile Ala  
675 680 685

Glu Pro Val Met Arg Leu Tyr Thr Glu Thr Thr Asp Gly Ser Thr Ile  
690 695 700

Glu Thr Lys Glu Thr Ala Leu Val Trp Asn Tyr Gln Phe Ala Asp Pro  
705 710 715 720

ES 2 376 003 T3

Asp Phe Gly Ser Cys Gln Ala Lys Glu Leu Met Glu His Leu Glu Ser  
 725 730 735

Val Leu Thr Asn Asp Pro Val Ser Val Lys Thr Gly Gln Gln Leu Val  
 740 745 750

Glu Val Lys Pro Gln Gly Val Asn Lys Gly Leu Val Ala Glu Arg Leu  
 755 760 765

Leu Thr Thr Met Gln Glu Lys Gly Lys Leu Leu Asp Phe Ile Leu Cys  
 770 775 780

Val Gly Asp Asp Arg Ser Asp Glu Asp Met Phe Glu Val Ile Met Ser  
 785 790 795 800

Ala Lys Asp Gly Pro Ala Leu Ser Pro Val Ala Glu Ile Phe Ala Cys  
 805 810 815

Thr Val Gly Gln Lys Pro Ser Lys Ala Lys Tyr Tyr Leu Asp Asp Thr  
 820 825 830

Ala Glu Ile Ile Arg Met Leu Asp Gly Leu Ala Ala Thr Asn Thr Thr  
 835 840 845

Ile Ser Asp Gln Thr Asp Ser Thr Ala Thr Val Pro Thr Lys Asp Leu  
 850 855 860

Phe  
 865

<210> 2

<211> 847

<212> PRT

5 <213> *Arabidopsis thaliana*

<400> 2

Met Val Ser Arg Ser Tyr Ser Asn Leu Leu Glu Leu Ala Ser Gly Asp  
 1 5 10 15

Ser Pro Thr Phe Gly Arg Met Asn Arg Gln Ile Pro Arg Ile Met Ala  
 20 25 30

Val Ala Gly Ile Met Ser Asn Ile Asp Asn Asp Ser Lys Asp Thr Asp  
 35 40 45

Leu Ser Pro Lys Asp Arg Ile Ile Ile Val Ala Asn Glu Leu Pro Ile  
 50 55 60

Arg Ala Gln Arg Arg Val Asp Gly Asn Gly Trp Asn Phe Ser Trp Asp  
 65 70 75 80

ES 2 376 003 T3

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

ES 2 376 003 T3

Met Glu Gln Leu Leu Met Gln His Pro Glu Trp Gln Gly Lys Val Val  
355 360 365

Leu Val Gln Ile Ala Asn Pro Ala Arg Gly Lys Gly Lys Asp Val Lys  
370 375 380

Glu Met Gln Ala Glu Thr Tyr Ser Thr Val Lys Arg Ile Asn Glu Thr  
385 390 395 400

Phe Gly Arg Pro Gly Tyr Asp Pro Ile Val Leu Ile Asp Ala Pro Leu  
405 410 415

Lys Phe Tyr Glu Arg Val Ala Tyr Tyr Val Val Ala Glu Cys Cys Leu  
420 425 430

Val Thr Ala Val Arg Asp Gly Met Asn Leu Ile Pro Tyr Glu Tyr Ile  
435 440 445

Val Ser Arg Gln Gly Asn Glu Lys Leu Asp Lys Ile Leu Lys Leu Glu  
450 455 460

Ala Asn Asn Arg Asn Lys Lys Ser Met Leu Val Val Ser Glu Phe Ile  
465 470 475 480

Gly Cys Ser Pro Ser Leu Ser Gly Ala Ile Arg Val Asn Pro Trp Asn  
485 490 495

Val Asp Ala Val Ala Asp Ala Met Asp Ser Ala Leu Glu Val Ala Glu  
500 505 510

Pro Glu Lys Gln Leu Arg His Glu Lys His Tyr Lys Tyr Val Ser Thr  
515 520 525

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

Ser Cys Gly Glu His Gly Arg Arg Arg Cys Trp Gly Ile Gly Phe Gly  
545 550 555 560

Leu Ser Phe Arg Val Val Ala Leu Asp Gln Ser Phe Arg Lys Leu Ser  
565 570 575

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

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

Arg Pro Ser Ser Lys Ser Ile Asp Ile Leu Asn Thr Leu Cys Arg Asp  
610 615 620

ES 2 376 003 T3

Lys Gly Asn Leu Val Phe Ile Val Ser Ala Lys Ser Arg Glu Thr Leu  
625 630 635 640

Ser Asp Trp Phe Ser Pro Cys Glu Lys Leu Gly Ile Ala Ala Glu His  
645 650 655

Gly Tyr Phe Leu Arg Leu Arg Lys Ala Val Glu Trp Glu Asn Cys Val  
660 665 670

Ala Ala Val Asp Cys Ser Trp Lys Gln Ile Ala Glu Pro Val Met Glu  
675 680 685

Leu Tyr Thr Glu Thr Thr Asp Gly Ser Thr Ile Glu Asp Lys Glu Thr  
690 695 700

Ala Leu Val Trp Ser Tyr Glu Asp Ala Asp Pro Asp Phe Gly Ser Cys  
705 710 715 720

Gln Ala Lys Glu Leu Leu Asp His Leu Glu Ser Val Leu Ala Asn Glu  
725 730 735

Pro Val Thr Val Lys Arg Gly Gln Asn Tyr Val Glu Val Lys Pro Gln  
740 745 750

Gly Val Ser Lys Gly Leu Ile Ala Arg Arg Met Leu Ser Met Met Gln  
755 760 765

Glu Arg Gly Thr Leu Pro Glu Phe Val Leu Cys Ile Gly Asp Asp Arg  
770 775 780

Ser Asp Glu Asp Met Phe Glu Val Ile Cys Ser Ser Thr Glu Gly Pro  
785 790 795 800

Ser Ile Ala Pro Arg Ala Glu Ile Phe Ala Cys Thr Val Gly Gln Lys  
805 810 815

Pro Ser Lys Ala Lys Tyr Tyr Leu Asp Asp Thr Thr Glu Ile Val Arg  
820 825 830

Leu Met His Gly Leu Ala Ser Val Thr Asp Gln Ile Thr Pro Val  
835 840 845

<210> 3

<211> 851

<212> PRT

5 <213> *Arabidopsis thaliana*

<400> 3

Met Ile Ser Arg Ser Tyr Thr Asn Leu Leu Asp Leu Ala Ser Gly Asn  
1 5 10 15

ES 2 376 003 T3

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



ES 2 376 003 T3

Glu Tyr Tyr Gly Arg Thr Val Gly Ile Lys Ile Met Pro Val Gly Ile  
 290 295 300

Asn Met Gly Arg Ile Gln Ser Val Met Arg Tyr Ser Glu Glu Glu Gly  
 305 310 315 320

Lys Val Met Glu Leu Arg Asn Arg Phe Glu Gly Lys Thr Val Leu Leu  
 325 330 335

Gly Ile Asp Asp Met Asp Ile Phe Lys Gly Ile Asn Leu Lys Leu Leu  
 340 345 350

Ala Met Glu Gln Met Leu Arg Gln His Pro Asn Trp Arg Gly Arg Ala  
 355 360 365

Val Leu Val Gln Ile Val Asn Pro Ala Arg Gly Lys Gly Ile Asp Val  
 370 375 380

Glu Glu Ile Arg Gly Glu Ile Glu Glu Ser Cys Arg Arg Ile Asn Gly  
 385 390 395 400

Glu Phe Gly Lys Pro Gly Tyr Gln Pro Ile Ile Tyr Ile Asp Thr Pro  
 405 410 415

Val Ser Ile Asn Glu Ile Asn Ala Tyr Tyr His Ile Ala Glu Cys Val  
 420 425 430

Val Val Thr Ala Val Arg Asp Gly Met Asn Leu Thr Pro Tyr Glu Tyr  
 435 440 445

Ile Val Cys Arg Gln Gly Leu Leu Gly Ser Glu Ser Asp Phe Ser Gly  
 450 455 460

Pro Lys Lys Ser Met Leu Val Ala Ser Glu Phe Ile Gly Cys Ser Pro  
 465 470 475 480

Ser Leu Ser Gly Ala Ile Arg Val Asn Pro Trp Asn Val Glu Ala Thr  
 485 490 495

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

Leu Arg His Glu Lys His Phe Arg Tyr Val Ser Thr His Asp Val Ala  
 515 520 525

Tyr Trp Ser Arg Ser Phe Leu Gln Asp Leu Glu Arg Ile Cys Val Asp  
 530 535 540

His Phe Lys Lys Arg Cys Trp Gly Met Gly Ile Ser Phe Gly Phe Arg  
 545 550 555 560

ES 2 376 003 T3

Val Val Ala Leu Asp Pro Asn Phe Arg Lys Leu Ser Ile Pro Cys Ile  
 565 570 575  
 Val Ser Asp Tyr Lys Arg Ala Lys Ser Arg Ala Ile Leu Leu Asp Tyr  
 580 585 590  
 Asp Gly Thr Leu Met Pro Gln Asn Ser Ile Asn Lys Ala Pro Ser Gln  
 595 600 605  
 Glu Val Leu Asn Phe Leu Asp Ala Leu Cys Glu Asp Lys Lys Asn Ser  
 610 615 620  
 Ile Phe Ile Val Ser Gly Arg Gly Arg Glu Ser Leu Ser Lys Trp Phe  
 625 630 635 640  
 Thr Pro Cys Lys Lys Ile Gly Ile Ala Ala Glu His Gly Tyr Phe Leu  
 645 650 655  
 Lys Trp Ser Gly Ser Glu Glu Trp Glu Thr Cys Gly Gln Ser Ser Asp  
 660 665 670  
 Phe Gly Trp Met Gln Ile Val Glu Pro Val Met Lys Gln Tyr Thr Glu  
 675 680 685  
 Ser Thr Asp Gly Ser Ser Ile Glu Ile Lys Glu Ser Ala Leu Val Trp  
 690 695 700  
 Gln Tyr Arg Asp Ala Asp Pro Gly Phe Gly Ser Leu Gln Ala Lys Glu  
 705 710 715 720  
 Met Leu Glu His Leu Glu Ser Val Leu Ala Asn Glu Pro Val Ala Val  
 725 730 735  
 Lys Ser Gly His Tyr Ile Val Glu Val Lys Pro Gln Gly Val Ser Lys  
 740 745 750  
 Gly Ser Val Ser Glu Lys Ile Phe Ser Ser Met Ala Gly Lys Gly Lys  
 755 760 765  
 Pro Val Asp Phe Val Leu Cys Ile Gly Asp Asp Arg Ser Asp Glu Asp  
 770 775 780  
 Met Phe Glu Ala Ile Gly Asn Ala Met Ser Lys Arg Leu Leu Cys Asp  
 785 790 795 800  
 Asn Ala Leu Val Phe Ala Cys Thr Val Gly Gln Lys Pro Ser Lys Ala  
 805 810 815  
 Lys Tyr Tyr Leu Asp Asp Thr Thr Glu Val Thr Cys Met Leu Glu Ser  
 820 825 830

ES 2 376 003 T3

Leu Ala Glu Ala Ser Glu Ala Ser Asn Phe Ser Met Arg Glu Leu Asp  
 835 840 845

Glu Ala Leu  
 850

<210> 4

<211> 826

<212> PRT

5 <213> *Arabidopsis thaliana*

<400> 4

Met Thr Val Pro Gly Ile Ile Thr Asp Val Asp Gly Asp Thr Thr Ser  
 1 5 10 15

Glu Val Thr Ser Thr Ser Gly Gly Ser Arg Glu Arg Lys Ile Ile Val  
 20 25 30

Ala Asn Met Leu Pro Leu Gln Ser Lys Arg Asp Ala Glu Thr Gly Lys  
 35 40 45

Trp Cys Phe Asn Trp Asp Glu Asp Ser Leu Gln Leu Gln Leu Arg Asp  
 50 55 60

Gly Phe Ser Ser Glu Thr Glu Phe Leu Tyr Val Gly Ser Leu Asn Val  
 65 70 75 80

Asp Ile Glu Thr Asn Glu Gln Glu Glu Val Ser Gln Lys Leu Leu Glu  
 85 90 95

Glu Phe Asn Cys Val Ala Thr Phe Leu Ser Gln Glu Leu Gln Glu Met  
 100 105 110

Phe Tyr Leu Gly Phe Cys Lys His Gln Leu Trp Pro Leu Phe His Tyr  
 115 120 125

Met Leu Pro Met Phe Pro Asp His Gly Asp Arg Phe Asp Arg Arg Leu  
 130 135 140

Trp Gln Ala Tyr Val Ser Ala Asn Lys Ile Phe Ser Asp Arg Val Met  
 145 150 155 160

Glu Val Ile Asn Pro Glu Asp Asp Tyr Val Trp Ile Gln Asp Tyr His  
 165 170 175

Leu Met Val Leu Pro Thr Phe Leu Arg Lys Arg Phe Asn Arg Ile Lys  
 180 185 190

Leu Gly Phe Phe Leu His Ser Pro Phe Pro Ser Ser Glu Ile Tyr Arg  
 195 200 205

Thr Leu Pro Val Arg Asp Glu Ile Leu Arg Gly Leu Leu Asn Cys Asp

ES 2 376 003 T3

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





ES 2 376 003 T3

Met Val Ser Arg Ser Cys Ala Asn Phe Leu Asp Leu Ala Ser Trp Asp  
 1 5 10 15

Leu Leu Asp Phe Pro Gln Thr Gln Arg Ala Leu Pro Arg Val Met Thr  
 20 25 30

Val Pro Gly Ile Ile Ser Glu Leu Asp Gly Gly Tyr Ser Asp Gly Ser  
 35 40 45

Ser Asp Val Asn Ser Ser Asn Ser Ser Arg Glu Arg Lys Ile Ile Val  
 50 55 60

Ala Asn Met Leu Pro Leu Gln Ala Lys Arg Asp Thr Glu Thr Gly Gln  
 65 70 75 80

Trp Cys Phe Ser Trp Asp Glu Asp Ser Leu Leu Leu Gln Leu Arg Asp  
 85 90 95

Gly Phe Ser Ser Asp Thr Glu Phe Val Tyr Ile Gly Ser Leu Asn Ala  
 100 105 110

Asp Ile Gly Ile Ser Glu Gln Glu Glu Val Ser His Lys Leu Leu Leu  
 115 120 125

Asp Phe Asn Cys Val Pro Thr Phe Leu Pro Lys Glu Met Gln Glu Lys  
 130 135 140

Phe Tyr Leu Gly Phe Cys Lys His His Leu Trp Pro Leu Phe His Tyr  
 145 150 155 160

Met Leu Pro Met Phe Pro Asp His Gly Asp Arg Phe Asp Arg Arg Leu  
 165 170 175

ES 2 376 003 T3

Trp Gln Ala Tyr Val Ser Ala Asn Lys Ile Phe Ser Asp Arg Val Met  
180 185 190

Glu Val Ile Asn Pro Glu Glu Asp Tyr Val Trp Ile His Asp Tyr His  
195 200 205

Leu Met Val Leu Pro Thr Phe Leu Arg Lys Arg Phe Asn Arg Ile Lys  
210 215 220

Leu Gly Phe Phe Leu His Ser Pro Phe Pro Ser Ser Glu Ile Tyr Arg  
225 230 235 240

Thr Leu Pro Val Arg Asp Asp Leu Leu Arg Gly Leu Leu Asn Cys Asp  
245 250 255

Leu Ile Gly Phe His Thr Phe Asp Tyr Ala Arg His Phe Leu Ser Cys  
260 265 270

Cys Ser Arg Met Leu Gly Leu Asp Tyr Glu Ser Lys Arg Gly His Ile  
275 280 285

Gly Leu Asp Tyr Phe Gly Arg Thr Val Phe Ile Lys Ile Leu Pro Val  
290 295 300

Gly Ile His Met Gly Arg Leu Glu Ser Val Leu Asn Leu Pro Ser Thr  
305 310 315 320

Ala Ala Lys Met Lys Glu Ile Gln Glu Gln Phe Lys Gly Lys Lys Leu  
325 330 335

Ile Leu Gly Val Asp Asp Met Asp Ile Phe Lys Gly Ile Ser Leu Lys  
340 345 350

Leu Ile Ala Met Glu Arg Leu Phe Glu Thr Tyr Trp His Met Arg Gly  
355 360 365

Lys Leu Val Leu Ile Gln Ile Val Asn Pro Ala Arg Ala Thr Gly Lys  
370 375 380

Asp Val Glu Glu Ala Lys Lys Glu Thr Tyr Ser Thr Ala Lys Arg Ile  
385 390 395 400

Asn Glu Arg Tyr Gly Ser Ala Gly Tyr Gln Pro Val Ile Leu Ile Asp  
405 410 415

Arg Leu Val Pro Arg Tyr Glu Lys Thr Ala Tyr Tyr Ala Met Ala Asp  
420 425 430

Cys Cys Leu Val Asn Ala Val Arg Asp Gly Met Asn Leu Val Pro Tyr  
435 440 445



ES 2 376 003 T3

Lys Tyr Ile Ile Cys Arg Gln Gly Thr Pro Gly Met Asp Lys Ala Met  
 450 455 460

Gly Ile Ser His Asp Ser Ala Arg Thr Ser Met Leu Val Val Ser Glu  
 465 470 475 480

Phe Ile Gly Cys Ser Pro Ser Leu Ser Gly Ala Ile Arg Val Asn Pro  
 485 490 495

Trp Asp Val Asp Ala Val Ala Glu Ala Val Asn Leu Ala Leu Thr Met  
 500 505 510

Gly Glu Thr Glu Lys Arg Leu Arg His Glu Lys His Tyr His Tyr Val  
 515 520 525

Ser Thr His Asp Val Gly Tyr Trp Ala Lys Ser Phe Met Gln Asp Leu  
 530 535 540

Glu Arg Ala Cys Arg Glu His Tyr Asn Lys Arg Cys Trp Gly Ile Gly  
 545 550 555 560

Phe Gly Leu Ser Phe Arg Val Leu Ser Leu Ser Pro Ser Phe Arg Lys  
 565 570 575

Leu Ser Ile Asp His Ile Val Ser Thr Tyr Arg Asn Thr Gln Arg Arg  
 580 585 590

Ala Ile Phe Leu Asp Tyr Asp Gly Thr Leu Val Pro Glu Ser Ser Ile  
 595 600 605

Ile Lys Thr Pro Asn Ala Glu Val Leu Ser Val Leu Lys Ser Leu Cys  
 610 615 620

Gly Asp Pro Lys Asn Thr Val Phe Val Val Ser Gly Arg Gly Trp Glu  
 625 630 635 640

Ser Leu Ser Asp Trp Leu Ser Pro Cys Glu Asn Leu Gly Ile Ala Ala  
 645 650 655

Glu His Gly Tyr Phe Ile Arg Trp Ser Ser Lys Lys Glu Trp Glu Thr  
 660 665 670

Cys Tyr Ser Ser Ala Glu Ala Glu Trp Lys Thr Met Val Glu Pro Val  
 675 680 685

Met Arg Ser Tyr Met Asp Ala Thr Asp Gly Ser Thr Ile Glu Tyr Lys  
 690 695 700

Glu Ser Ala Leu Val Trp His His Gln Asp Ala Asp Pro Asp Phe Gly  
 705 710 715 720

ES 2 376 003 T3

Ala Cys Gln Ala Lys Glu Leu Leu Asp His Leu Glu Ser Val Leu Ala  
725 730 735

Asn Glu Pro Val Val Val Lys Arg Gly Gln His Ile Val Glu Val Lys  
740 745 750

Pro Gln Gly Val Ser Lys Gly Leu Ala Val Glu Lys Val Ile His Gln  
755 760 765

Met Val Glu Asp Gly Asn Pro Pro Asp Met Val Met Cys Ile Gly Asp  
770 775 780

Asp Arg Ser Asp Glu Asp Met Phe Glu Ser Ile Leu Ser Thr Val Thr  
785 790 795 800

Asn Pro Asp Leu Pro Met Pro Pro Glu Ile Phe Ala Cys Thr Val Gly  
805 810 815

Arg Lys Pro Ser Lys Ala Lys Tyr Phe Leu Asp Asp Val Ser Asp Val  
820 825 830

Leu Lys Leu Leu Gly Gly Leu Ala Ala Ala Thr Ser Ser Ser Lys Pro  
835 840 845

Glu Tyr Gln Gln Gln Ser Ser Ser Leu His Thr Gln Val Ala Phe Glu  
850 855 860

Ser Ile Ile  
865

<210> 6

<211> 861

<212> PRT

5 <213> *Arabidopsis thaliana*

<400> 6

Met Gly Ser Lys Ser Phe Gly Asn Leu Leu Asp Leu Ala Ser Gly Asp  
1 5 10 15

Leu Leu Asp Ile Pro Gln Thr Pro Arg Tyr Leu Pro Arg Val Met Thr  
20 25 30

Val Pro Gly Ile Ile Ser Asp Val Asp Gly Tyr Gly Ile Ser Asp Gly  
35 40 45

Asp Ser Asp Val Ile Ser Leu Pro Cys Arg Glu Arg Lys Ile Ile Val  
50 55 60

Ala Asn Phe Leu Pro Leu Asn Gly Lys Lys Asp Ser Glu Thr Gly Lys  
65 70 75 80

ES 2 376 003 T3

Trp Lys Phe Ser Leu Asp Asn Asp Ser Pro Leu Leu His Leu Lys Asp  
85 90 95

Gly Phe Ser Pro Glu Thr Glu Val Ile Tyr Val Gly Ser Leu Lys Thr  
100 105 110

His Val Asp Val Ser Glu Gln Asp Glu Val Ser His Asn Leu Phe Glu  
115 120 125

Glu Phe Asn Cys Val Ala Thr Phe Leu Pro Gln Asp Val His Lys Lys  
130 135 140

Phe Tyr Leu Gly Phe Cys Lys Gln Gln Leu Trp Pro Leu Phe His Tyr  
145 150 155 160

Met Leu Pro Met Cys Pro Asp His Gly Glu Arg Phe Asp Arg Gly Leu  
165 170 175

Trp Gln Ala Tyr Val Ser Ala Asn Lys Ile Phe Ala Asp Lys Val Met  
180 185 190

Gly Val Ile Asn Leu Glu Glu Asp Tyr Ile Trp Ile His Asp Tyr His  
195 200 205

Leu Met Val Leu Pro Thr Phe Leu Arg Arg Arg Phe His Arg Val Lys  
210 215 220

Leu Gly Phe Phe Leu His Ser Pro Phe Pro Ser Ser Glu Ile Tyr Arg  
225 230 235 240

Thr Leu Pro Val Arg Glu Glu Leu Leu Arg Gly Leu Leu Asn Cys Asp  
245 250 255

Leu Ile Gly Phe His Thr Phe Asp Tyr Ala Arg His Phe Leu Ser Cys  
260 265 270

Cys Cys Arg Met Leu Gly Leu Glu Tyr Glu Ser Lys Arg Gly His Ile  
275 280 285

Ala Leu Asp Tyr Leu Gly Arg Thr Val Phe Leu Lys Ile Leu Pro Ile  
290 295 300

Gly Ile His Met Gly Arg Leu Glu Ser Val Leu Asn Leu Pro Ala Thr  
305 310 315 320

Ala Glu Lys Leu Lys Glu Ile Gln Glu Lys Tyr Arg Gly Lys Lys Ile  
325 330 335

Ile Leu Gly Val Asp Asp Met Asp Ile Phe Lys Gly Leu Ser Leu Lys  
340 345 350

ES 2 376 003 T3

Ile Leu Ala Phe Glu His Leu Leu Gln Gln Tyr Pro Ser Met Leu Gly  
355 360 365

Lys Ile Val Leu Ile Gln Ile Val Asn Pro Ala Arg Gly Ser Gly Lys  
370 375 380

Asp Val Gln Glu Ala Arg Lys Glu Thr Tyr Asp Thr Val Lys Arg Ile  
385 390 395 400

Asn Glu Arg Tyr Gly Ser His Asp Tyr Glu Pro Val Val Leu Ile Asp  
405 410 415

Arg Pro Val Pro Arg Phe Glu Lys Ser Ala Tyr Tyr Ala Leu Ala Glu  
420 425 430

Cys Cys Ile Val Asn Ala Val Arg Asp Gly Met Asn Leu Val Pro Tyr  
435 440 445

Lys Tyr Thr Val Cys Arg Gln Gly Thr Pro Ser Met Asn Lys Ser Leu  
450 455 460

Gly Val Ser Asp Asp Leu Pro Arg Thr Ser Thr Leu Val Leu Ser Glu  
465 470 475 480

Phe Ile Gly Cys Ser Pro Ser Leu Ser Gly Ala Ile Arg Val Asn Pro  
485 490 495

Trp Asp Val Asp Ala Val Ala Asp Ser Leu Tyr Ser Ala Ile Thr Met  
500 505 510

Ser Asp Phe Glu Lys Gln Leu Arg His Lys Lys His Phe His Tyr Ile  
515 520 525

Ser Thr His Asp Val Gly Tyr Trp Ala Arg Ser Phe Ser Gln Asp Leu  
530 535 540

Glu Arg Ala Ser Arg Asp His Tyr Ser Lys Arg Cys Trp Gly Val Gly  
545 550 555 560

Trp Gly Leu Gly Phe Arg Leu Val Ala Leu Ser Pro Asn Phe Arg Arg  
565 570 575

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

Ala Ile Phe Leu Asp Tyr Asp Gly Thr Leu Val Pro Glu Thr Ser Ile  
595 600 605

Val Lys Asp Pro Ser Ala Glu Val Ile Ser Ala Leu Lys Ala Leu Cys  
610 615 620

ES 2 376 003 T3

Ser Asp Pro Asn Asn Thr Ile Phe Ile Val Ser Gly Arg Gly Lys Val  
625 630 635 640

Ser Leu Ser Glu Trp Leu Ala Pro Cys Glu Asn Leu Gly Ile Ala Ala  
645 650 655

Glu His Gly Tyr Phe Thr Arg Trp Asn Lys Ser Ser Asp Trp Glu Thr  
660 665 670

Ser Gly Leu Ser Asp Asp Leu Glu Trp Lys Lys Val Val Glu Pro Ile  
675 680 685

Met Arg Leu Tyr Thr Glu Thr Thr Asp Gly Ser Asn Ile Glu Ala Lys  
690 695 700

Glu Ser Ala Leu Val Trp His His Gln Asp Ala Asp Pro Asp Phe Gly  
705 710 715 720

Ser Cys Gln Ala Lys Glu Leu Leu Asp His Leu Glu Thr Val Leu Val  
725 730 735

Asn Glu Pro Val Ile Val Asn Arg Gly His Gln Ile Val Glu Val Lys  
740 745 750

Pro Gln Gly Val Ser Lys Gly Leu Val Thr Gly Lys Ile Leu Ser Arg  
755 760 765

Met Leu Glu Asp Gly Ile Ala Pro Asp Phe Val Val Cys Ile Gly Asp  
770 775 780

Asp Arg Ser Asp Glu Glu Met Phe Glu Asn Ile Ser Thr Thr Leu Ser  
785 790 795 800

Ala Gln Ser Ser Ser Met Ser Thr Glu Ile Phe Ala Cys Thr Val Gly  
805 810 815

Arg Lys Pro Ser Lys Ala Lys Tyr Phe Leu Asp Glu Val Ser Asp Val  
820 825 830

Val Lys Leu Leu Gln Gly Leu Ala Asn Thr Ser Ser Pro Lys Pro Arg  
835 840 845

Tyr Pro Ser His Leu Arg Val Ser Phe Glu Ser Val Val  
850 855 860

<210> 7

<211> 862

<212> PRT

5 <213> *Arabidopsis thaliana*

<400> 7

ES 2 376 003 T3

Met Ser Pro Glu Ser Trp Lys Asp Gln Leu Ser Leu Val Ser Ala Asp  
1 5 10 15

Asp Tyr Arg Ile Met Gly Arg Asn Arg Ile Pro Asn Ala Val Thr Lys  
20 25 30

Leu Ser Gly Leu Glu Thr Asp Asp Pro Asn Gly Gly Ala Trp Val Thr  
35 40 45

Lys Pro Lys Arg Ile Val Val Ser Asn Gln Leu Pro Leu Arg Ala His  
50 55 60

Arg Asp Ile Ser Ser Asn Lys Trp Cys Phe Glu Phe Asp Asn Asp Ser  
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Leu Lys Asp Gly Phe Pro Pro Glu Thr Glu Val Val  
85 90 95

Tyr Val Gly Ser Leu Asn Ala Asp Val Leu Pro Ser Glu Gln Glu Asp  
100 105 110

Val Ser Gln Phe Leu Leu Glu Lys Phe Gln Cys Val Pro Thr Phe Leu  
115 120 125

Pro Ser Asp Leu Leu Asn Lys Tyr Tyr His Gly Phe Cys Lys His Tyr  
130 135 140

Leu Trp Pro Ile Phe His Tyr Leu Leu Pro Met Thr Gln Ala Gln Gly  
145 150 155 160

Ser Leu Phe Asp Arg Ser Asn Trp Arg Ala Tyr Thr Thr Val Asn Lys  
165 170 175

Ile Phe Ala Asp Lys Ile Phe Glu Val Leu Asn Pro Asp Asp Asp Tyr  
180 185 190

Val Trp Ile His Asp Tyr His Leu Met Ile Leu Pro Thr Phe Leu Arg  
195 200 205

Asn Arg Phe His Arg Ile Lys Leu Gly Ile Phe Leu His Ser Pro Phe  
210 215 220

Pro Ser Ser Glu Ile Tyr Arg Thr Leu Pro Val Arg Asp Glu Ile Leu  
225 230 235 240

Lys Gly Phe Leu Asn Cys Asp Leu Val Gly Phe His Thr Phe Asp Tyr  
245 250 255

Ala Arg His Phe Leu Ser Cys Cys Ser Arg Met Leu Gly Leu Asp Tyr  
260 265 270

ES 2 376 003 T3

Glu Ser Lys Arg Gly Tyr Ile Gly Leu Glu Tyr Phe Gly Arg Thr Val  
 275 280 285  
 Ser Ile Lys Ile Leu Pro Val Gly Ile His Met Gly Gln Ile Glu Ser  
 290 295 300  
 Ile Lys Ala Ser Glu Lys Thr Ala Glu Lys Val Lys Arg Leu Arg Glu  
 305 310 315 320  
 Arg Phe Lys Gly Asn Ile Val Met Leu Gly Val Asp Asp Leu Asp Met  
 325 330 335  
 Phe Lys Gly Ile Ser Leu Lys Phe Trp Ala Met Gly Gln Leu Leu Glu  
 340 345 350  
 Gln Asn Glu Glu Leu Arg Gly Lys Val Val Leu Val Gln Ile Thr Asn  
 355 360 365  
 Pro Ala Arg Ser Ser Gly Lys Asp Val Gln Asp Val Glu Lys Gln Ile  
 370 375 380  
 Asn Leu Ile Ala Asp Glu Ile Asn Ser Lys Phe Gly Arg Pro Gly Gly  
 385 390 395 400  
 Tyr Lys Pro Ile Val Phe Ile Asn Gly Pro Val Ser Thr Leu Asp Lys  
 405 410 415  
 Val Ala Tyr Tyr Ala Ile Ser Glu Cys Val Val Val Asn Ala Val Arg  
 420 425 430  
 Asp Gly Met Asn Leu Val Pro Tyr Lys Tyr Thr Val Thr Arg Gln Gly  
 435 440 445  
 Ser Pro Ala Leu Asp Ala Ala Leu Gly Phe Gly Glu Asp Asp Val Arg  
 450 455 460  
 Lys Ser Val Ile Ile Val Ser Glu Phe Ile Gly Cys Ser Pro Ser Leu  
 465 470 475 480  
 Ser Gly Ala Ile Arg Val Asn Pro Trp Asn Ile Asp Ala Val Thr Asn  
 485 490 495  
 Ala Met Ser Ser Ala Met Thr Met Ser Asp Lys Glu Lys Asn Leu Arg  
 500 505 510  
 His Gln Lys His His Lys Tyr Ile Ser Ser His Asn Val Ala Tyr Trp  
 515 520 525  
 Ala Arg Ser Tyr Asp Gln Asp Leu Gln Arg Ala Cys Lys Asp His Tyr  
 530 535 540

ES 2 376 003 T3

Asn Lys Arg Phe Trp Gly Val Gly Phe Gly Leu Phe Phe Lys Val Val  
 545 550 555 560

Ala Leu Asp Pro Asn Phe Arg Arg Leu Cys Gly Glu Thr Ile Val Pro  
 565 570 575

Ala Tyr Arg Arg Ser Ser Ser Arg Leu Ile Leu Leu Asp Tyr Asp Gly  
 580 585 590

Thr Met Met Asp Gln Asp Thr Leu Asp Lys Arg Pro Ser Asp Asp Leu  
 595 600 605

Ile Ser Leu Leu Asn Arg Leu Cys Asp Asp Pro Ser Asn Leu Val Phe  
 610 615 620

Ile Val Ser Gly Arg Gly Lys Asp Pro Leu Ser Lys Trp Phe Asp Ser  
 625 630 635 640

Cys Pro Asn Leu Gly Ile Ser Ala Glu His Gly Tyr Phe Thr Arg Trp  
 645 650 655

Asn Ser Asn Ser Pro Trp Glu Thr Ser Glu Leu Pro Ala Asp Leu Ser  
 660 665 670

Trp Lys Lys Ile Ala Lys Pro Val Met Asn His Tyr Met Glu Ala Thr  
 675 680 685

Asp Gly Ser Phe Ile Glu Glu Lys Glu Ser Ala Met Val Trp His His  
 690 695 700

Gln Glu Ala Asp His Ser Phe Gly Ser Trp Gln Ala Lys Glu Leu Leu  
 705 710 715 720

Asp His Leu Glu Ser Val Leu Thr Asn Glu Pro Val Val Val Lys Arg  
 725 730 735

Gly Gln His Ile Val Glu Val Lys Pro Gln Gly Val Ser Lys Gly Lys  
 740 745 750

Val Val Glu His Leu Ile Ala Thr Met Arg Asn Thr Lys Gly Lys Arg  
 755 760 765

Pro Asp Phe Leu Leu Cys Ile Gly Asp Asp Arg Ser Asp Glu Asp Met  
 770 775 780

Phe Asp Ser Ile Val Lys His Gln Asp Val Ser Ser Ile Gly Leu Glu  
 785 790 795 800

Glu Val Phe Ala Cys Thr Val Gly Gln Lys Pro Ser Lys Ala Lys Tyr  
 805 810 815



ES 2 376 003 T3

Tyr Leu Asp Asp Thr Pro Ser Val Ile Lys Met Leu Glu Trp Leu Ala  
820 825 830

Ser Ala Ser Asp Gly Ser Lys His Glu Gln Gln Lys Lys Gln Ser Lys  
835 840 845

Phe Thr Phe Gln Gln Pro Met Gly Gln Cys Arg Lys Lys Ala  
850 855 860

<210> 8

<211> 862

<212> PRT

5 <213> *Oryza sativa*

<400> 8

Met Val Ser Lys Ser Tyr Ser Asn Leu Leu Glu Met Ser Cys Gly Asp  
1 5 10 15

Gly Val Asp Phe Arg Gln Pro Phe Lys Ser Leu Pro Arg Val Val Thr  
20 25 30

Ser Pro Gly Ile Ile Ser Asp Pro Asp Trp Asp Thr Arg Ser Asp Gly  
35 40 45

Asp Ser Val Gly Ser Ala Ser Ser Val Glu Arg Lys Ile Ile Val Ala  
50 55 60

Asn Phe Leu Pro Leu Asn Cys Thr Lys Asp Glu Ala Gly Gln Trp Ser  
65 70 75 80

Phe Ser Arg Asp Asp Asp Ala Leu Leu Met Gln Leu Lys Asp Gly Phe  
85 90 95

Ser Asn Glu Thr Asp Val Ile Tyr Val Gly Ser Leu Lys Val Gln Val  
100 105 110

Asp Pro Ser Glu Gln Asp Gln Val Ala Gln Lys Leu Leu Arg Asp Tyr  
115 120 125

Arg Cys Ile Pro Thr Phe Leu Pro Pro Asp Leu Gln Gln Gln Phe Tyr  
130 135 140

His Gly Phe Cys Lys Gln Gln Leu Trp Pro Leu Phe His Tyr Met Leu  
145 150 155 160

Pro Ile Cys Leu Asp Lys Gly Glu Leu Phe Asp Arg Ser Leu Phe Gln  
165 170 175

Ala Tyr Val Arg Ala Asn Lys Leu Phe Ala Asp Lys Val Met Glu Ala  
180 185 190

Ile Asn Thr Asp Asp Asp His Val Trp Val His Asp Tyr His Leu Met

ES 2 376 003 T3

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



ES 2 376 003 T3

			740					745						750			
Gly	Val	Ser	Lys	Gly	Leu	Val	Val	Asp	Lys	Val	Ile	His	Arg	Leu	Met		
		755					760					765					
Asn	Asn	Gly	Lys	Thr	Pro	Asp	Phe	Val	Val	Cys	Ile	Gly	Asn	Asp	Arg		
	770					775					780						
Ser	Asp	Glu	Asp	Met	Phe	Lys	Ser	Ile	Asp	Ser	Met	Thr	Ser	Ser	Ser		
785					790					795					800		
Ala	Phe	Pro	Ala	Val	Pro	Glu	Val	Phe	Ala	Cys	Ser	Val	Gly	Gln	Lys		
				805					810					815			
Pro	Ser	Lys	Ala	Lys	Tyr	Tyr	Val	Asp	Asp	Ala	Gly	Glu	Val	Val	Arg		
			820					825					830				
Leu	Leu	Lys	Asn	Val	Ala	Gly	Ile	Ser	Ser	His	Arg	Glu	Ala	Val	Ser		
		835					840					845					
His	Gly	Arg	Val	Thr	Phe	Arg	Asp	Val	Met	Asp	Tyr	Val	Glu				
	850					855					860						

<210> 9

<211> 862

<212> PRT

5 <213> *Populus balsamifera subsp. trichocarpa*

<400> 9

ES 2 376 003 T3

Met Val Ser Arg Ser Tyr Ser Asn Leu Leu Asp Leu Ala Ser Gly Asp  
1 5 10 15

Ala Pro Ile Pro Ser Phe Gly Arg Glu Arg Lys Arg Phe Pro Arg Val  
20 25 30

Ala Thr Val Ala Gly Ile Leu Thr Asp Leu Asp Asp Glu Asn Asn Val  
35 40 45

Gly Ser Asp Ser Pro Ser Ser Val Ser Leu Gly Arg Met Ile Ile Val  
50 55 60

Gly Asn Gln Leu Pro Leu Arg Ala His Arg Ser Pro Asp Ser Ser Gly  
65 70 75 80

Gly Trp Cys Phe Ser Trp Asp Glu Asp Ser Leu Leu Leu Gln Leu Lys  
85 90 95

Asp Gly Leu Gly Glu Gly Val Glu Val Ile Tyr Val Gly Ser Leu Lys  
100 105 110

Glu Glu Ile Glu Pro Ser Glu Gln Asp Asp Val Ala Gln Thr Leu Leu  
115 120 125

ES 2 376 003 T3

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

ES 2 376 003 T3

Ile Asn Glu Ala Phe Gly Ser Pro Gly Tyr Thr Pro Val Val Leu Ile  
 405 410 415

Asp Arg Pro Leu Gln Phe Tyr Glu Arg Ile Ala Tyr Tyr Ala Ile Ala  
 420 425 430

Glu Cys Cys Leu Val Thr Ala Val Arg Asp Gly Met Asn Leu Ile Pro  
 435 440 445

Tyr Glu Tyr Ile Ile Cys Arg Gln Gly Asn Glu Lys Leu Asp Glu Thr  
 450 455 460

Leu Gly Arg Asp Pro Ser Ala Pro Arg Lys Ser Met Leu Val Leu Ser  
 465 470 475 480

Glu Phe Ile Gly Cys Ser Pro Ser Leu Ser Gly Ala Ile Arg Val Asn  
 485 490 495

Pro Trp Asn Ile Asp Ala Val Ala Glu Ala Met Asn Ser Ala Leu Val  
 500 505 510

Val Pro Glu Pro Glu Lys Gln Met Arg His Glu Lys His His Arg Tyr  
 515 520 525

Val Ser Thr His Asp Val Ala Tyr Trp Ala Arg Ser Phe Leu Gln Asp  
 530 535 540

Leu Glu Arg Ala Cys Arg Asp His Val Lys Arg Arg Cys Trp Gly Phe  
 545 550 555 560

Gly Phe Gly Leu Gly Phe Arg Val Ile Ala Leu Asp Pro Asn Phe Arg  
 565 570 575

Lys Ile Ser Val Glu His Ile Val Ser Ala Tyr Lys Arg Thr Lys Asn  
 580 585 590

Arg Val Ile Leu Leu Asp Tyr Asp Gly Thr Met Thr Leu Pro Ser Ser  
 595 600 605

Thr Arg Thr Pro Asn Met Glu Thr Val Gly Val Leu Asn Ser Leu Cys  
 610 615 620

Thr Asp Pro Lys Asn Val Val Phe Leu Val Ser Gly Arg Asp Arg Glu  
 625 630 635 640

Thr Leu Thr Glu Trp Phe Ser Ser Cys Glu Lys Leu Gly Ile Ala Ala  
 645 650 655

Glu His Gly Tyr Phe Val Arg Thr Asn His Asp Ala Glu Trp Glu Thr  
 660 665 670

ES 2 376 003 T3

Cys Val Ser Val Pro Asp Phe Asp Trp Lys Arg Ile Ala Glu Pro Val  
675 680 685

Met Lys Leu Tyr Thr Glu Thr Thr Asp Gly Ser Ala Ile Glu Thr Lys  
690 695 700

Glu Ser Ser Leu Ala Trp Asn Tyr Gln Tyr Ala Asp Pro Asp Phe Gly  
705 710 715 720

Ser Cys Gln Ala Lys Glu Leu Leu Asp His Leu Glu Ser Val Leu Val  
725 730 735

Asn Glu Pro Val Thr Val Lys Ser Gly Gln His Thr Val Glu Val Lys  
740 745 750

Pro Gln Gly Val Arg Lys Gly Leu Val Ala Glu Arg Leu Leu Asp Thr  
755 760 765

Met Lys Leu Lys Gly Lys Leu Pro Asp Phe Val Leu Cys Val Gly Asp  
770 775 780

Asp Gln Ser Asp Glu Asp Met Phe Glu Val Ile Leu Ser Ala Arg Ser  
785 790 795 800

Gly Pro Ser Leu Ser Pro Val Ala Glu Val Phe Ala Cys Thr Val Gly  
805 810 815

Arg Lys Pro Ser Lys Ala Lys Tyr Tyr Leu Glu Asp Thr Ser Glu Ile  
820 825 830

Leu Arg Met Leu Gln Gly Leu Ala Ser Ala Leu Glu Gln Asp Ala Arg  
835 840 845

Ser Ala Pro Gln Ser Ser Gln Gln Val Ile Ile Asp Arg Glu  
850 855 860

<210> 10

<211> 854

<212> PRT

5 <213> *Populus balsamifera subsp. trichocarpa*

<400> 10

Met Val Ser Arg Ser Tyr Ser Asn Leu Leu Glu Leu Ala Ser Gly Glu  
1 5 10 15

Ser Pro Ser Phe Gly Arg Met Ser Arg Arg Ile Pro Arg Ile Met Thr  
20 25 30

Val Ala Gly Ile Met Ser Asp Ile Asp Asp Asp Pro Ser Glu Ser Val  
35 40 45



ES 2 376 003 T3

Cys Ser Asp Pro Ser Ser Ser Ser Thr Pro Lys Asp Arg Ile Ile Ile  
 50 55 60

Val Ala Asn Gln Leu Pro Ile Arg Ala Gln Arg Lys Ser Asp Gly Ser  
 65 70 75 80

Lys Ser Trp Ile Phe Ser Trp Asp Glu Asn Ser Leu Leu Leu Gln Leu  
 85 90 95

Lys Asp Gly Leu Gly Asp Asp Glu Ile Glu Val Ile Tyr Val Gly Cys  
 100 105 110

Leu Lys Glu Glu Val His Pro Asn Glu Gln Asp Glu Val Ser Gln Ile  
 115 120 125

Leu Leu Glu Thr Phe Lys Cys Val Pro Thr Phe Leu Pro Pro Asp Leu  
 130 135 140

Phe Ser Arg Tyr Tyr His Gly Phe Cys Lys Gln Gln Leu Trp Pro Leu  
 145 150 155 160

Phe His Tyr Met Leu Pro Leu Ser Pro Asp Leu Gly Gly Arg Phe Asn  
 165 170 175

Arg Ser Leu Trp Gln Ala Tyr Val Ser Val Asn Lys Ile Phe Ala Asp  
 180 185 190

Arg Ile Met Glu Val Ile Asn Pro Glu Asp Asp Phe Val Trp Val His  
 195 200 205

Asp Tyr His Leu Met Ala Leu Pro Thr Phe Leu Arg Lys Arg Phe Asn  
 210 215 220

Lys Val Lys Leu Gly Phe Phe Leu His Ser Pro Phe Pro Ser Ser Glu  
 225 230 235 240

Ile Tyr Lys Thr Leu Pro Ile Arg Glu Glu Leu Leu Arg Ala Leu Leu  
 245 250 255

Asn Ser Asp Leu Ile Gly Phe His Thr Phe Asp Tyr Ala Arg His Phe  
 260 265 270

Leu Ser Cys Cys Ser Arg Met Leu Gly Leu Ser Tyr Glu Ser Lys Arg  
 275 280 285

Gly Tyr Ile Gly Ile Glu Tyr Cys Gly Arg Thr Val Ser Ile Lys Ile  
 290 295 300

Leu Pro Val Gly Ile His Met Gly Gln Leu Gln Ser Val Leu Ser Leu  
 305 310 315 320

ES 2 376 003 T3

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

Gln Asp Arg Ile Met Leu Leu Gly Val Asp Asp Met Asp Ile Phe Lys  
 340 345 350

Gly Ile Ser Leu Lys Leu Leu Ala Met Glu Gln Leu Leu Met Gln His  
 355 360 365

Pro Glu Trp Gln Gly Lys Ile Val Leu Val Gln Ile Ala Asn Pro Ala  
 370 375 380

Arg Gly Lys Gly Lys Asp Val Lys Glu Val Gln Ala Glu Thr His Ala  
 385 390 400

Ala Val Lys Arg Ile Asn Glu Thr Phe Gly Lys Pro Gly Tyr Asp Pro  
 405 410 415

Ile Val Leu Ile Asp Ala Pro Leu Lys Phe Tyr Glu Lys Val Ala Tyr  
 420 425 430

Tyr Val Val Ala Glu Cys Cys Leu Val Thr Ala Val Arg Asp Gly Met  
 435 440 445

Asn Leu Ile Pro Tyr Glu Tyr Ile Ile Ser Arg Gln Gly Asn Asp Arg  
 450 455 460

Leu Asn Lys Leu Leu Gly Gln Glu Pro Ser Thr Pro Lys Lys Ser Met  
 465 470 475 480

Leu Val Ile Ser Glu Phe Ile Gly Cys Ser Pro Ser Leu Ser Gly Ala  
 485 490 495

Ile Arg Val Asn Pro Trp Asn Ile Asp Ala Val Ala Asp Ala Met Asp  
 500 505 510

Phe Ala Leu Glu Met Ala Glu Pro Glu Lys Gln Leu Arg His Glu Lys  
 515 520 525

His Tyr Arg Tyr Val Ser Thr His Asp Val Gly Tyr Trp Ala Arg Ser  
 530 535 540

Phe Leu Gln Asp Leu Glu Arg Thr Cys Arg Asp His Ser Arg Arg Arg  
 545 550 555 560

Cys Trp Gly Ile Gly Phe Gly Leu Ser Phe Arg Val Val Ala Leu Asp  
 565 570 575

Pro Asn Phe Lys Lys Leu Ser Met Glu Arg Ile Val Ser Ala Tyr Lys  
 580 585 590

ES 2 376 003 T3

Arg Thr Thr Thr Arg Ala Ile Leu Leu Asp Tyr Asp Gly Thr Leu Met  
595 600 605

Pro Gln Ala Ser Ile Asp Lys Ser Pro Ser Ser Lys Ser Ile Asp Ile  
610 615 620

Ile Asn Asn Leu Cys Arg Asp Lys Asn Asn Met Val Phe Leu Val Ser  
625 630 635 640

Ala Arg Ser Arg Asn Thr Val Ala Glu Trp Phe Ser Glu Cys Glu Lys  
645 650 655

Leu Gly Leu Ala Ala Glu His Gly Tyr Phe Leu Arg Leu Lys Arg Asp  
660 665 670

Ala Glu Trp Glu Thr Arg Val Pro Val Ala Asp Thr Thr Trp Lys Gln  
675 680 685

Ile Ala Glu Pro Val Met Gln Leu Tyr Thr Glu Thr Thr Asp Gly Ser  
690 695 700

Thr Ile Glu Asp Lys Glu Thr Ser Leu Val Trp Cys Tyr Glu Asp Ala  
705 710 715 720

Asp Pro Asp Phe Gly Ser Cys Gln Ala Lys Glu Leu Leu Asp His Leu  
725 730 735

Glu Ser Val Leu Ala Asn Glu Pro Val Thr Val Lys Ser Gly Gln Asn  
740 745 750

Ile Val Glu Val Lys Pro Gln Gly Val Ser Lys Gly Leu Val Ala Lys  
755 760 765

Arg Leu Leu Ser Ile Met Gln Glu Asn Glu Met Ser Pro Asp Phe Val  
770 775 780

Leu Cys Ile Gly Asp Asp Arg Ser Asp Glu Asp Met Phe Glu Val Ile  
785 790 795 800

Thr Thr Ser Met Ala Gly Pro Ser Ile Ala Glu Asn Ala Glu Val Phe  
805 810 815

Ala Cys Thr Val Gly Arg Lys Pro Ser Lys Ala Lys Tyr Tyr Leu Asp  
820 825 830

Asp Thr Ala Glu Ile Val Arg Leu Met Gln Gly Leu Ala Ser Val Ser  
835 840 845

Glu Gln Thr Val Thr Val  
850

<210> 11

<211> 853

ES 2 376 003 T3

<212> PRT

<213> *Populus balsamifera subsp. trichocarpa*

<400> 11

```

Met Met Ser Arg Ser Tyr Thr Asn Leu Leu Asp Leu Ala Ser Gly Asn
 1          5          10          15

Phe Pro Ala Met Gly Gln Pro Arg Glu Arg Lys Arg Leu Pro Arg Val
          20          25          30

Met Thr Val Pro Gly Val Ile Ser Glu Leu Asp Asp Asp Val Ala Asn
          35          40          45

Ser Val Thr Ser Asp Val Pro Ser Ser Val Val Gln Asp Arg Ile Ile
          50          55          60

Ile Val Gly Asn Gln Leu Pro Val Lys Ala Lys Arg Arg Pro Asp Asn
65          70          75          80

Lys Gly Trp Ser Phe Ser Trp Asp Glu Asp Ser Leu Leu Leu Gln Leu
          85          90          95

Lys Asp Gly Leu Pro Glu Glu Met Glu Val Leu Tyr Val Gly Ser Leu
          100          105          110

Arg Ala Asp Ile Asp Leu Ser Glu Gln Glu Asp Val Ser Gln Ile Leu
          115          120          125

Leu Asp Arg Phe Lys Cys Val Pro Ala Phe Leu Pro Pro Asp Ile Leu
          130          135          140

Ser Lys Phe Tyr His Gly Phe Cys Lys Gln Tyr Leu Trp Pro Leu Phe
          145          150          155          160

His Tyr Met Leu Pro Ile Ser Gly Asn His Gly Gly Arg Phe Asp Arg
          165          170          175

Ser Leu Trp Glu Ala Tyr Val Ala Ala Asn Lys Ile Phe Ser Gln Arg
          180          185          190

Val Ile Glu Val Ile Asn Pro Glu Asp Asp Tyr Val Trp Ile His Asp
          195          200          205

Tyr His Leu Met Val Leu Pro Thr Phe Leu Arg Arg Arg Phe Asn Arg
          210          215          220

Leu Arg Met Gly Phe Phe Leu His Ser Pro Phe Pro Ser Ser Glu Ile
          225          230          235          240

```

ES 2 376 003 T3

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

ES 2 376 003 T3

Ala Asp Ser Glu Lys Gln Leu Arg His Glu Lys His Tyr Arg Tyr Val  
515 520 525

Ser Thr His Asp Val Ala Tyr Trp Ser Arg Ser Phe Tyr Gln Asp Met  
530 535 540

Glu Arg Thr Cys Lys Asp His Phe Arg Arg Arg Cys Trp Gly Ile Gly  
545 550 555 560

Leu Ser Phe Gly Phe Arg Val Val Ala Leu Asp Pro Asn Phe Lys Lys  
565 570 575

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

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

Asn Lys Thr Pro Asn Gln Glu Val Ile Ser Ile Ile Asn Thr Leu Cys  
610 615 620

Ser Asp Val Lys Asn Thr Val Phe Val Val Ser Gly Arg Gly Arg Asp  
625 630 635 640

Ser Leu Gly Lys Trp Phe Ala His Cys Lys Lys Leu Gly Ile Ala Ala  
645 650 655

Glu His Gly Tyr Phe Met Arg Trp Ser Val Asp Glu Asp Trp Glu Asn  
660 665 670

Cys Gly Gln Ser Ser Asp Phe Gly Trp Thr Gln Ile Ala Glu Pro Val  
675 680 685

Met Asn Leu Tyr Thr Glu Ala Thr Asp Gly Ser Ser Ile Glu Thr Lys  
690 695 700

Glu Ser Ala Leu Val Trp His His Arg Asp Ala Asp Pro Gly Phe Gly  
705 710 715 720

Ala Ala Gln Ala Lys Glu Leu Leu Asp His Leu Glu Ser Val Leu Ala  
725 730 735

Asn Glu Pro Val Ala Val Lys Ser Gly Gln Cys Ile Val Glu Val Lys  
740 745 750

Pro Gln Gly Ile Ser Lys Gly Ser Val Ala Glu Lys Ile Phe Thr Ser  
755 760 765

Met Ala Glu Ser Gly Arg Gln Ala Asp Phe Val Leu Cys Ile Gly Asp  
770 775 780

ES 2 376 003 T3

Asp Arg Ser Asp Glu Asp Met Phe Glu Ser Ile Asp Asn Ala Ile Ala  
 785 790 795 800  
 Asn Gly Ile Leu Thr Ser Ser Lys Ser Val Phe Ala Cys Thr Val Gly  
 805 810 815  
 Gln Lys Pro Ser Lys Ala Lys Tyr Tyr Leu Asp Asp Thr Thr Asp Val  
 820 825 830  
 Ile Asn Met Leu Glu Ala Leu Ala Glu Ala Ser Asp Pro Ser Pro Ser  
 835 840 845  
 Ala Gly Ser Ser Pro  
 850

<210> 12

<211> 857

<212> PRT

5 <213> *Populus balsamifera subsp. trichocarpa*

<400> 12

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









ES 2 376 003 T3

Met Val Ser Arg Ser Cys Ile Ser Leu Leu Asp Phe Ala Ser Gly Asn  
1 5 10 15

Met Met Asn Phe Ser Gln Ser Pro Arg Ser Leu Pro Arg Ile Met Thr  
20 25 30

Val Pro Gly Ile Ile Ser Asp Val Asp Val Asp Gly Ile Asn Asp Gly  
35 40 45

Ile Ser Asp Ala Pro Ser Thr Gly Ser Gly Ala Lys Met Ile Ile Val  
50 55 60

Ser Asn Phe Leu Pro Leu Asn Ala Gln Lys Asp Leu Asn Ser Gly Lys  
65 70 75 80

Trp Ser Phe Ser Phe Asp Glu Asp Ser Leu Leu Leu Gln Met Lys Asp  
85 90 95

ES 2 376 003 T3

Gly Phe Ser Ala Ile Pro Glu Val Val Tyr Val Gly Ser Leu Arg Val  
100 105 110

Asp Val Asp Ser Ser Glu Gln Glu Glu Val Ser Gln Lys Leu Leu Glu  
115 120 125

Glu Phe Asn Cys Val Pro Thr Phe Ile Pro Pro Asp Ile Tyr Lys Asn  
130 135 140

Phe Tyr His Gly Phe Cys Lys His His Leu Trp Pro Leu Phe His Tyr  
145 150 155 160

Met Leu Pro Leu Cys Pro Asp His Gly Asn Arg Phe Asp Arg Leu Leu  
165 170 175

Trp Gln Ala Tyr Val Ser Ala Asn Lys Ile Phe Ala Asp Lys Val Thr  
180 185 190

Glu Val Ile Asn Asn Thr Glu Glu Asp Tyr Val Trp Val His Asp Tyr  
195 200 205

His Leu Met Val Leu Pro Thr Phe Leu Arg Lys Arg Phe Asn Arg Ile  
210 215 220

Lys Leu Gly Phe Phe Leu His Ser Pro Phe Pro Ser Ser Glu Ile Tyr  
225 230 235 240

Arg Thr Leu Leu Val Arg Asp Glu Ile Leu Lys Ala Leu Leu Asn Ala  
245 250 255

Asp Leu Ile Gly Phe His Thr Phe Asp Tyr Ala Arg His Phe Leu Ser  
260 265 270

Cys Cys Ser Arg Met Leu Gly Leu Asp Tyr Glu Ser Lys Arg Gly His  
275 280 285

Ile Gly Leu Glu Tyr Phe Gly Arg Thr Val Tyr Ile Lys Ile Leu Pro  
290 295 300

Val Gly Ile His Met Gly Arg Val Glu Ser Ala Leu Asn His Pro Ser  
305 310 315 320

Ser Ser Ile Lys Val Lys Glu Ile Gln Glu Gln Phe Lys Gly Lys Arg  
325 330 335

Leu Val Ile Gly Val Asp Asp Met Asp Ile Phe Lys Gly Ile Ser Leu  
340 345 350

Lys Leu Leu Ala Val Glu His Leu Leu Leu Gln Asn Ser Glu Leu Arg  
355 360 365

ES 2 376 003 T3

Gly Lys Leu Val Leu Val Gln Ile Val Asn Pro Ala Arg Ser Ser Gly  
 370 375 380

Lys Asp Val Gln Glu Ala Lys Met Glu Ile Tyr Ser Ile Thr Lys Arg  
 385 390 395 400

Ile Asn Asn Thr Phe Gly Phe Pro Gly Tyr Glu Pro Val Val Leu Ile  
 405 410 415

Asp Arg His Val Pro Phe Cys Glu Lys Thr Ala Tyr Tyr Ala Leu Ala  
 420 425 430

Glu Cys Cys Ile Val Asn Ala Val Arg Asp Gly Met Asn Leu Ile Pro  
 435 440 445

Tyr Lys Tyr Ile Val Cys Arg Gln Gly Thr Pro Lys Met Asp Glu Ala  
 450 455 460

Leu Gly Val Ala Ser Gly Ser Arg His Thr Ser Ser Leu Val Val Ser  
 465 470 475 480

Glu Phe Thr Gly Cys Ser Pro Ser Leu Ser Gly Ala Ile Arg Val Asn  
 485 490 495

Pro Trp Asp Ile Glu Ala Val Ala Asn Ala Val Asn Thr Ala Ile Asn  
 500 505 510

Met Pro Asp Leu Glu Lys Gln Leu Arg His Gly Lys His Tyr Cys Tyr  
 515 520 525

Val Ser Ser His Asp Val Ala Tyr Trp Ala Arg Ser Phe Met Gln Asp  
 530 535 540

Leu Lys Arg Ala Cys Lys Asp His Tyr Ser Lys Arg Cys Trp Gly Ile  
 545 550 555 560

Gly Phe Gly Leu Asn Phe Arg Ile Leu Ala Leu Ser Pro Ser Phe Arg  
 565 570 575

Lys Leu Ser Asn Asp Tyr Ile Ile Ser Ala Tyr Lys Arg Thr Ser Lys  
 580 585 590

Arg Ala Ile Phe Leu Asp Tyr Asp Gly Thr Met Val Pro His Thr Ser  
 595 600 605

Leu Ala Lys Thr Pro Thr Pro Glu Val Ile Ser Val Leu Asn Asn Leu  
 610 615 620

Cys Ala Asp Pro Met Asn Ser Val Phe Ile Val Ser Gly Arg Gly Lys  
 625 630 635 640

ES 2 376 003 T3

Lys Ser Leu Ser Asp Trp Phe Val Gln Cys Glu Asn Leu Gly Ile Ala  
645 650 655

Ala Glu His Gly Tyr Phe Phe Arg Trp Ser Gly Met Ser Asp Trp Glu  
660 665 670

Thr Ser Ser Leu Ala Val Asp Phe Asp Trp Lys Asn Ile Ala Glu Pro  
675 680 685

Val Met Lys Leu Tyr Thr Glu Ala Thr Asp Gly Ser Tyr Ile Glu Val  
690 695 700

Lys Glu Ser Ala Leu Val Trp His His Gln Asp Ala Asp Pro Asp Phe  
705 710 715 720

Gly Ser Cys Gln Ala Lys Glu Leu Leu Asp His Leu Glu Asn Val Leu  
725 730 735

Ala Asn Asp Pro Val Ala Val Lys Arg Gly Gln Asn Ile Val Glu Val  
740 745 750

Lys Pro Gln Gly Val Thr Lys Gly Phe Val Ala Glu Lys Val Leu Ser  
755 760 765

Lys Met Ile Ala Ser Gly Lys Pro Pro Gly Phe Val Leu Cys Ile Gly  
770 775 780

Asp Asp Arg Ser Asp Glu Asp Met Phe Glu Ser Ile Ser Lys Thr Pro  
785 790 795 800

Tyr Ser Ser Ser Leu Pro Ser Ala Pro Ala Ile Phe Ala Cys Thr Val  
805 810 815

Gly Gln Lys Pro Ser Lys Ala Arg Tyr Tyr Leu Asp Asp Thr Val Asp  
820 825 830

Val Leu Ala Leu Leu Gln Cys Leu Ala Asp Ala Ser Ser Ser Asn Leu  
835 840 845

Ser Ser Thr Glu Thr Gln Val Ser Phe Asp Asn Val Val Arg Lys Glu  
850 855 860

Leu  
865

<210> 14

<211> 854

<212> PRT

5 <213> *Populus balsamifera subsp. trichocarpa*

<400> 14

ES 2 376 003 T3

Met Ile Thr Gln Ser Cys Lys Asp Asn Leu Asp Met Ile Ser Val Asn  
1 5 10 15

Asp Phe Arg Val Val Asp Arg Ile Pro Arg Ile Met Asn Val Leu Gly  
20 25 30

Ala Leu Ser Glu Ile Glu Val Gly Glu His Asp Asp Glu Gly Val Thr  
35 40 45

Ser Pro Val Val Ser Lys Pro Arg Arg Ile Met Val Ala Asn Gln Leu  
50 55 60

Pro Ile Arg Gly His Arg Asn Glu Glu Thr Lys Gly Trp Ser Phe Glu  
65 70 75 80

Leu Asp Lys Glu Ser Leu Val Leu Gln Phe Lys Asp Gly Phe Pro Ala  
85 90 95

Asn Ser Glu Val Trp Tyr Val Gly Leu Leu Lys Val Asp Val Glu Thr  
100 105 110

Lys Asp Gln Asp Glu Val Ala Arg Leu Leu Phe Ser Met Phe Arg Cys  
115 120 125

Val Pro Val Phe Leu Thr Asp Asp Gln Lys Asn Lys Tyr Tyr His Gly  
130 135 140

Phe Cys Lys His Tyr Leu Trp Pro Leu Phe His Tyr Met Leu Pro Leu  
145 150 155 160

Ser Pro Ser Arg Gly Gly Val Arg Phe Asp Arg Ser Leu Trp Glu Gly  
165 170 175

Tyr Ile Val Ala Asn Arg Leu Phe Ala Asn Lys Val Thr Glu Ile Leu  
180 185 190

Arg His His Glu Asp Ser Val Trp Val His Asp Tyr His Leu Met Val  
195 200 205

Leu Pro Ala Phe Leu Arg Lys Arg Phe Asn Arg Val Lys Leu Gly Phe  
210 215 220

Phe Leu His Ser Pro Phe Pro Ser Ser Glu Ile Tyr Thr Thr Ile Pro  
225 230 235 240

Val Arg Glu Glu Ile Leu Arg Ser Leu Leu Asn Cys Asp Leu Ile Gly  
245 250 255

Phe His Thr Phe Asp Tyr Ala Arg His Phe Leu Ser Cys Cys Ser Lys  
260 265 270

ES 2 376 003 T3

Met Leu Gly Ile Asp Tyr Gln Cys Lys Arg Gly Tyr Ile Gly Leu Asp  
 275 280 285

Tyr Cys Gly Lys Thr Ile Ser Ile Lys Ile Leu His Met Gly Ile His  
 290 295 300

Met Gly Gln Leu Glu Ser Val Leu Asn Met Glu Gln Thr Ala Thr Leu  
 305 310 315 320

Ala Lys Gln Leu Lys Glu Lys Phe Glu Gly Lys Ile Val Met Val Gly  
 325 330 335

Val Asp Asp Leu Asp Leu Leu Lys Gly Ile Ser Ser Lys Phe Ser Ala  
 340 345 350

Met Gly Arg Leu Leu Glu Met Arg Pro Glu Leu Ile Gly Lys Val Val  
 355 360 365

Leu Val Gln Ile Ala Asn Pro Ala Arg Ser Gln Gly Lys Asp Val Gln  
 370 375 380

Glu Val Gln Lys Glu Thr Thr Leu Ile Ala Gln Gln Ile Asn Gln Lys  
 385 390 395 400

Tyr Gly Tyr Glu Gly Tyr Gln Pro Ile Val Phe Ile Asn Gly Pro Val  
 405 410 415

Ser Thr Leu Glu Lys Ala Ala Tyr Tyr Ala Ile Ser Glu Cys Cys Val  
 420 425 430

Val Asn Ala Leu Arg Asp Gly Met Asn Leu Val Ser Tyr Lys Tyr Thr  
 435 440 445

Val Cys Arg Gln Gly Ser Pro Val Leu Asp Lys Ala Leu Gly Ile Asp  
 450 455 460

Glu Ser Tyr Pro Arg Lys Ser Phe Leu Ile Val Ser Glu Phe Ile Gly  
 465 470 475 480

Cys Ser Pro Ser Leu Ser Gly Ala Arg Arg Val Asn Pro Trp Asp Val  
 485 490 495

Gly Ala Val Ala Asp Ala Met Tyr Ala Gly Ile His Met Lys Asp Glu  
 500 505 510

Glu Lys His Leu Arg His Glu Lys His Tyr Lys Tyr Ile Ser Ser His  
 515 520 525

Asp Val Ala Phe Trp Ala Arg Ser Phe Asp Leu Asp Leu Glu Arg Ala  
 530 535 540



ES 2 376 003 T3

Cys Lys Asp His Tyr Leu Lys Arg Tyr Tyr Asn Val Gly Phe Gly Leu  
 545 550 555 560  
 Asn Phe Arg Val Ala Ala Val Gly Thr Asn Phe Arg Met Leu Thr Thr  
 565 570 575  
 Glu Arg Val Val Ala Ala Tyr Asn Asn Thr Asn Ser Arg Leu Ile Leu  
 580 585 590  
 Leu Asp Tyr Asp Gly Thr Met Met Pro Gln Cys Ala Val Asp Lys Thr  
 595 600 605  
 Pro Arg Ser Glu Val Ile Ser Ile Leu Asn Cys Leu Cys Ser Asp Pro  
 610 615 620  
 Lys Asn Val Val Phe Ile Val Ser Gly Arg Gly Arg Asp Pro Leu Ser  
 625 630 635 640  
 Lys Trp Phe Ser Pro Cys Glu Thr Leu Gly Ile Ser Ala Glu His Gly  
 645 650 655  
 Tyr Phe Thr Arg Trp Thr Lys Asn Ser Pro Trp Glu Thr Cys Ser Val  
 660 665 670  
 Ala Met Asp Cys Asp Trp Lys Lys Ile Val Gln Pro Val Met Glu Arg  
 675 680 685  
 Tyr Thr Glu Thr Thr Asp Gly Ser Phe Ile Glu Pro Lys Glu Ser Ala  
 690 695 700  
 Leu Val Trp His His Gln Asp Ala Asp Pro Asp Phe Gly Ser Cys Gln  
 705 710 715 720  
 Ala Lys Glu Leu Leu Asp His Leu Glu Ser Val Leu Ala Asn Glu Pro  
 725 730 735  
 Val Val Val Arg Arg Gly Gln Gln Ile Val Glu Val Lys Pro Gln Gly  
 740 745 750  
 Val Ser Lys Gly Ile Val Val Glu Asn Leu Ile Ser Thr Met Arg Ser  
 755 760 765  
 Gln Gly Lys Ser Pro Asp Phe Leu Phe Cys Ile Gly Asp Asp Arg Ser  
 770 775 780  
 Asp Glu Asp Met Phe Glu Ser Ile Ala Arg Leu Val Asp Asn Pro Ser  
 785 790 795 800  
 Ile Pro Pro Ile Ala Glu Val Phe Ala Cys Thr Val Gly Leu Lys Pro  
 805 810 815

ES 2 376 003 T3

Ser Lys Ala Lys Tyr Tyr Leu Asp Asp Thr Pro Glu Val Ile Lys Leu  
 820 825 830

Leu Gln Gly Leu Ala Thr Ala Ser Val Gly Ser Lys Tyr Ala His Thr  
 835 840 845

Leu Glu Asp Glu Asp Val  
 850

<210> 15

<211> 846

<212> PRT

5 <213> *Populus balsamifera subsp. trichocarpa*

<400> 15

Met Ile Thr Gln Ser Cys Lys Asp Ser Leu Asp Met Ile Ser Val Asn  
 1 5 10 15

Asp Phe Arg Gly Leu Glu Arg Ile Pro Ala Val Met Asn Glu Leu Gly  
 20 25 30

Tyr Glu Val Gly Asp Glu His Gly Gln Gly Pro Val Val Ser Lys Gln  
 35 40 45

Arg Arg Ile Ile Val Ala Asn Gln Leu Pro Ile Arg Gly Tyr Arg Asn  
 50 55 60

Glu Gly Thr Lys Gly Trp Phe Phe Glu Phe Asp Lys Asp Ser Leu Val  
 65 70 75 80

Leu Gln Leu Lys Asp Gly Phe Pro Ala Asn Thr Glu Val Trp Tyr Val  
 85 90 95

Gly Met Leu Lys Val Asp Val Glu Lys Glu Asp Gln Glu Glu Val Ala  
 100 105 110

Gln Leu Met Phe His Lys Phe Arg Cys Val Pro Val Phe Leu Thr Val  
 115 120 125

Asp Gln Lys Asn Lys Phe Tyr His Gly Phe Cys Lys His Tyr Leu Trp  
 130 135 140

Pro Leu Phe His Tyr Met Leu Pro Leu Ser Pro Ser His Gly Gly Val  
 145 150 155 160

Arg Phe Asp Lys Ser Leu Trp Glu Gly Tyr Ile Val Ala Asn Gln Leu  
 165 170 175

Phe Ala Asn Lys Val Ala Glu Ile Leu Trp Pro Asp Lys Asp Ser Val  
 180 185 190

ES 2 376 003 T3

Trp Val His Asp Tyr His Leu Met Val Leu Pro Ser Ile Leu Arg Asn  
195 200 205

Arg Tyr Thr Arg Val Lys Leu Gly Phe Phe Leu His Ser Pro Phe Pro  
210 215 220

Ser Ser Glu Ile Tyr Arg Thr Ile Pro Val Arg Glu Gln Ile Leu Arg  
225 230 235 240

Ser Leu Leu Asn Cys Asp Leu Ile Gly Phe His Thr Phe Asp Tyr Ala  
245 250 255

Arg His Phe Leu Ser Cys Cys Ser Arg Leu Leu Gly Ile Asp Tyr Gln  
260 265 270

Cys Lys Arg Gly Tyr Ile Gly Leu Asp Tyr Cys Gly Lys Thr Ile Asn  
275 280 285

Ile Lys Ile Leu Pro Val Gly Ile His Met Gly Gln Leu Glu Ser Asp  
290 295 300

Leu Asn Met Glu Gln Thr Ala Thr Leu Ala Lys Gln Leu Lys Glu Lys  
305 310 315 320

Phe Glu Gly Lys Val Val Met Val Gly Val Asp Asp Leu Asp Met Phe  
325 330 335

Lys Gly Ile Ser Leu Lys Phe Ser Ala Met Gly Arg Leu Leu Glu Met  
340 345 350

His Pro Glu Leu Ile Gly Ser Val Val Leu Val Gln Ile Ala Asn Pro  
355 360 365

Ala Arg Ser Arg Gly Lys Asp Val Gln Glu Val Arg Leu Glu Thr Ser  
370 375 380

Val Ile Ala Gln Gln Ile Asn Asn Lys Tyr Gly Lys Glu Gly Tyr Glu  
385 390 395 400

Pro Ile Val Phe Ile Asn Asp Pro Leu Ser Ala Leu Glu Lys Ala Ala  
405 410 415

Tyr Tyr Ala Ile Ser Glu Cys Cys Val Val Asn Ala Val Arg Asp Gly  
420 425 430

Met Asn Leu Val Ser Tyr Lys Tyr Thr Val Cys Arg Gln Gly Ser Pro  
435 440 445

Val Leu Asp Lys Ala Leu Gly Ile Asn Glu Ser Asp Gln Arg Lys Ser  
450 455 460

ES 2 376 003 T3

Phe Leu Ile Val Ser Glu Phe Ile Gly Cys Ser Pro Ser Leu Ser Gly  
 465 470 475 480  
 Ala Tyr Arg Val Asn Pro Trp Asp Val Asn Ala Val Ala Asp Ala Met  
 485 490 495  
 Tyr Val Gly Ile His Met Lys Asp Glu Glu Lys His Leu Arg His Glu  
 500 505 510  
 Lys His Tyr Asn Tyr Ile Ser Ser His Asp Val Ala Phe Trp Ala Arg  
 515 520 525  
 Ser Phe Asp Gln Asp Leu Asp Arg Ala Cys Lys Glu His His Leu Lys  
 530 535 540  
 Arg Tyr Tyr Asn Val Gly Phe Gly Leu Asn Phe Arg Ala Ala Ala Val  
 545 550 555 560  
 Gly Lys Asn Phe Arg Met Leu Thr Val Glu Thr Val Val Ala Ala Tyr  
 565 570 575  
 Asn Asn Thr Asn Ser Arg Leu Ile Leu Leu Asp Tyr Asp Gly Thr Met  
 580 585 590  
 Lys Pro Lys Ser Ala Val Asp Lys Thr Pro Arg Asn Glu Val Ile Ser  
 595 600 605  
 Ile Leu Asn Cys Leu Cys Ser Asp Pro Lys Asn Ile Val Phe Ile Val  
 610 615 620  
 Ser Gly Arg Gly Arg Asp Pro Leu Ser Lys Trp Phe Ser Pro Cys Glu  
 625 630 635 640  
 Lys Leu Gly Ile Ser Ala Glu His Gly Tyr Phe Thr Arg Trp Thr Arg  
 645 650 655  
 Asp Ser Gln Trp Glu Thr Cys Ser Val Ala Met Asp Cys Asp Trp Lys  
 660 665 670  
 Lys Thr Val Glu Pro Val Met Glu Val Tyr Thr Ala Thr Thr Asp Gly  
 675 680 685  
 Ser Phe Ile Glu His Lys Glu Ser Ala Leu Val Trp His Tyr Gln Asp  
 690 695 700  
 Ala Asp Pro Asp Phe Gly Gly Cys Gln Ala Lys Glu Leu Leu Asp His  
 705 710 715 720  
 Leu Glu Ser Val Leu Ala Asn Glu Pro Val Val Val Lys Arg Gly Arg  
 725 730 735

ES 2 376 003 T3

Gln Ile Val Glu Val Lys Pro Gln Gly Val Ser Lys Gly Val Val Val  
 740 745 750

Glu Asp Leu Ile Ser Ser Met Arg Ser Lys Gly Lys Ser Pro Asp Phe  
 755 760 765

Leu Phe Cys Ile Gly Asp Asp Arg Ser Asp Glu Asp Met Phe Glu Ser  
 770 775 780

Ile Ala Arg Leu Phe Asp Asn Pro Ser Leu Pro Pro Ile Ala Glu Val  
 785 790 800

Phe Ala Cys Thr Val Gly His Lys Pro Ser Lys Ala Lys Tyr Tyr Leu  
 805 810 815

Asp Asp Thr Pro Asp Val Ile Glu Leu Leu Gln Gly Leu Ala Thr Ala  
 820 825 830

Ser Val Gly Pro Lys Val Thr His Thr Leu Glu Glu Asp Ile  
 835 840 845

<210> 16

<211> 6

<212> PRT

5 <213> Artificial

<220>

<223> Secuencia de consenso

<220>

<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA

10 <222> (5) .. (5)

<223> Xaa puede ser G o D

<400> 16

Leu Asp Tyr Asp Xaa Thr  
 1 5

<210> 17

15 <211> 6

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia de consenso

20 <220>

<221> CARACTERÍSTICA DIVERSA

ES 2 376 003 T3

<222> (4) .. (4)

<223> Xaa puede ser R o Q

<400> 17

Gly Asp Asp Xaa Ser Asp  
1 5

5 <210> 18

<211> 49

<212> ADN

<213> Artificial

<220>

10 <223> Cebador directo

<400> 18

ggggacaagt ttgtacaaaa aagcaggctc cgaagtaact tctacctcc 49

<210> 19

<211> 50

15 <212> ADN

<213> Artificial

<220>

<223> Cebador inverso

<400> 19

20 ggggaccact ttgtacaaga aagctgggctc ccatctctaa gttgtaactg 50

<210> 20

<211> 31

<212> ADN

<213> Artificial

25 <220>

<223> Cebador directo

<400> 20

cgggatccat ggtgtcaaga tctgtgcta a 31

<210> 21

30 <211> 30

<212> ADN

<213> Artificial

<220>

<223> Cebador inverso

<400> 21  
aaggcctaac gatgcttca aatgcaactt 30  
<210> 22  
<211> 23  
5 <212> ADN  
<213> Artificial  
<220>  
<223> Cebador directo AtTPS5  
<400> 22  
10 tcctgcttat atcccacctg agc 23  
<210> 23  
<211> 21  
<212> ADN  
<213> Artificial  
15 <220>  
<223> Cebador inverso AtTPS5  
<400> 23  
gcgccgctta aagaaggaga a 21  
<210> 24  
20 <211> 22  
<212> ADN  
<213> Artificial  
<220>  
<223> Cebador de T-DNA del borde izquierdo  
25 <400> 24  
tgggtcacgt agtgggcat cg 22  
<210> 25  
<211> 20  
<212> ADN  
30 <213> Artificial  
<220>  
<223> Cebador directo Genetrap  
<400> 25  
ttggcgcggt agctttatac 20  
35 <210> 26  
<211> 24

<212> ADN

<213> Artificial

<220>

<223> Cebador inverso Genetrap

5 <400> 26

caagaagata tgaaaacagc ctca 24

<210> 27

<211> 20

<212> ADN

10 <213> Artificial

<220>

<223> Cebador DS5

<400> 27

tacgataacg gtcggtacgg 20

15 <210> 28

<211> 20

<212> ADN

<213> Artificial

<220>

20 <223> Cebador directo línea 6

<400> 28

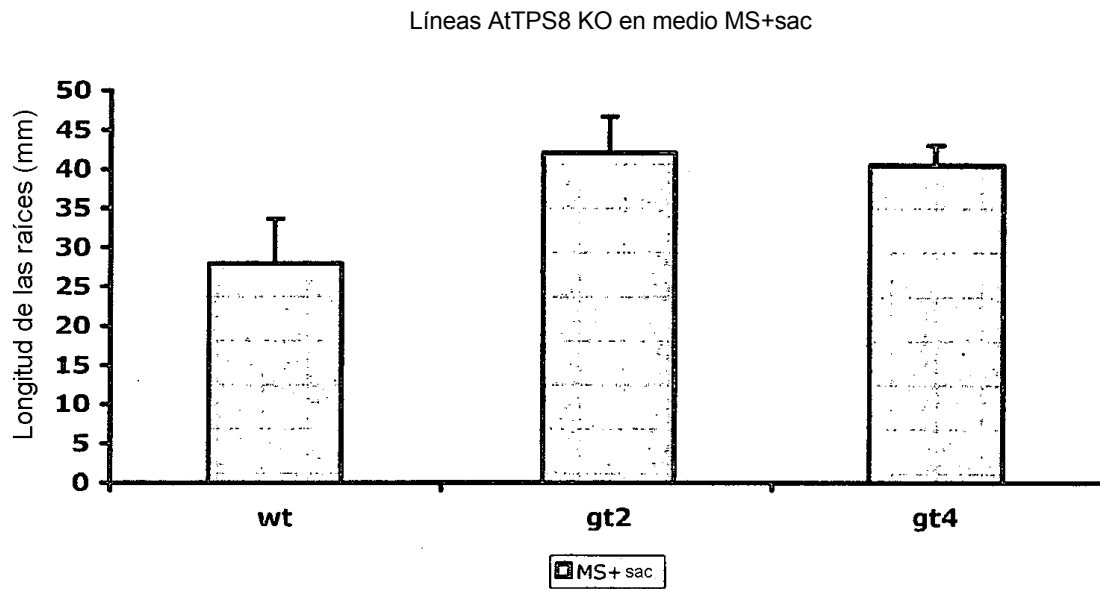
ttggcgcggt agctttatac 20



**REIVINDICACIONES**

1. El uso de la inactivación de una trehalosa-6-fosfato sintasa de clase II vegetal para promover el crecimiento vegetal.
- 5 2. El uso según la reivindicación 1, por lo cual dicha promoción del crecimiento vegetal es aumento del crecimiento de las raíces, aumento del grosor del tallo, aumento del número de hojas y/o aumento del tamaño de las semillas.
3. El uso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, por lo cual dicha promoción del crecimiento vegetal se obtiene en ausencia de luz.
4. El uso de la inactivación de una trehalosa-6-fosfato sintasa vegetal de clase II para incrementar la síntesis del almidón.
- 10 5. El uso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, por lo cual dicha trehalosa-6-fosfato sintasa se selecciona del grupo que consiste en SEC ID N° 1-15.
6. El uso según la reivindicación 5, por lo que dicha trehalosa-6-fosfato sintasa consiste en SEC ID N° 4.
7. El uso según la reivindicación 6, por lo que dicha trehalosa-6-fosfato sintasa consiste en SEC ID N° 1.

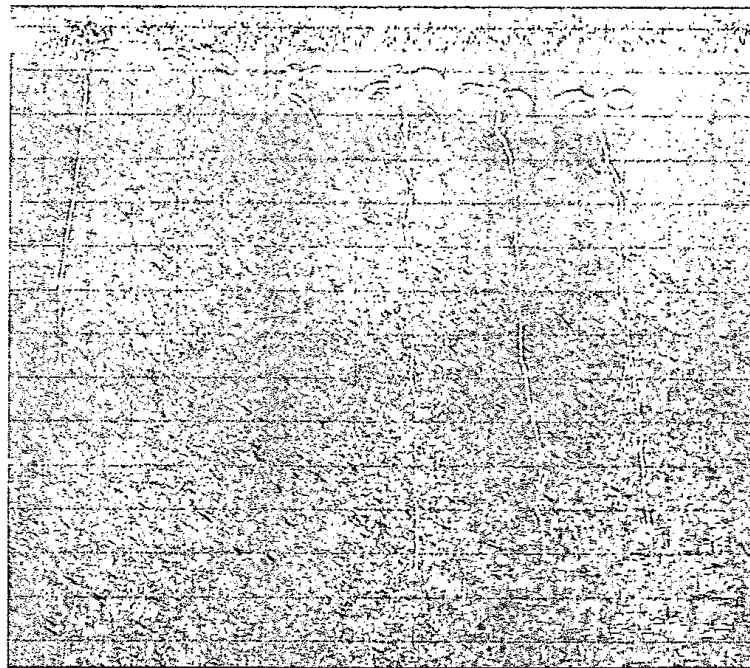
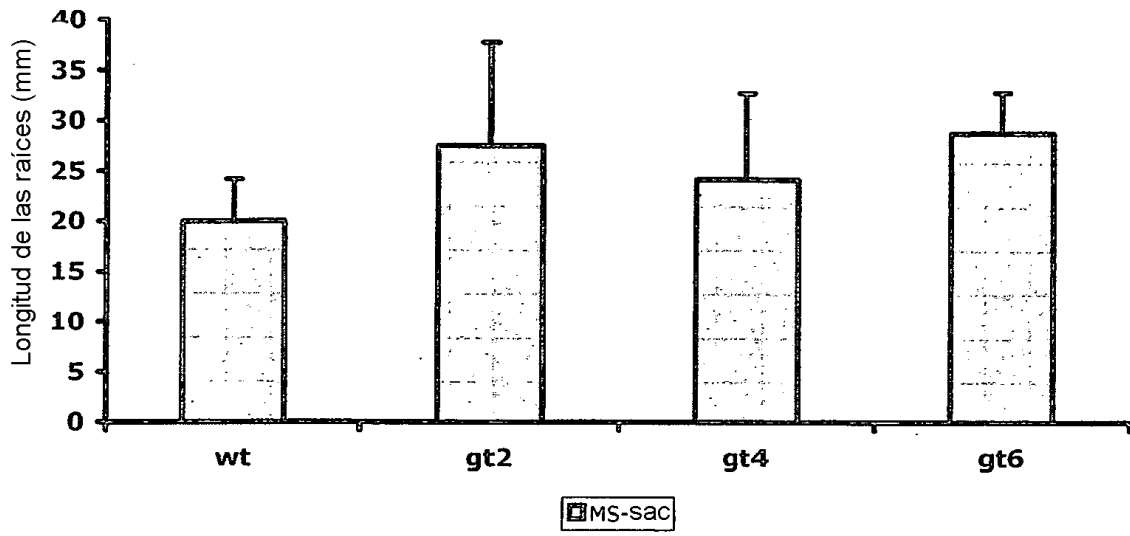
Figura 1: Longitud de las raíces de *AtTPS8* KO en diferentes condiciones. GT2, GT4 y GT6 son diferentes líneas KO de *AtTPS8*



WT

*AtTPS8* KO

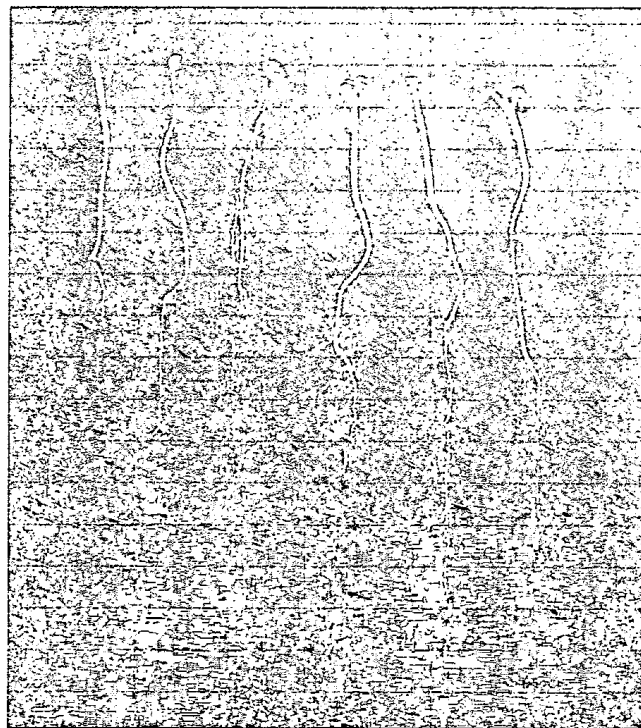
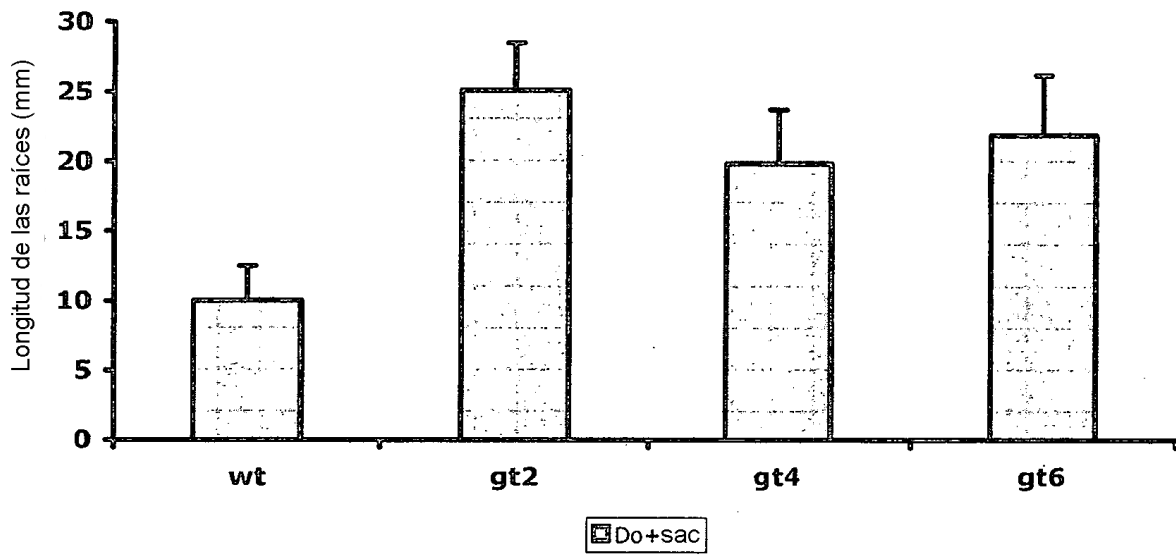
Líneas *AtPS8* KO en medio MS-sac



WT

*AtTPS8* KO

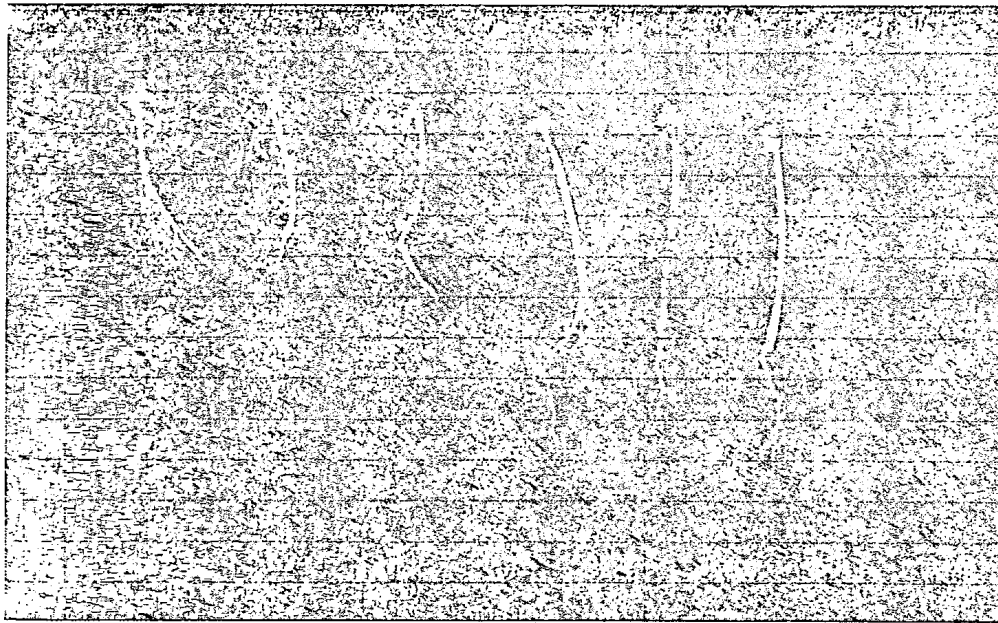
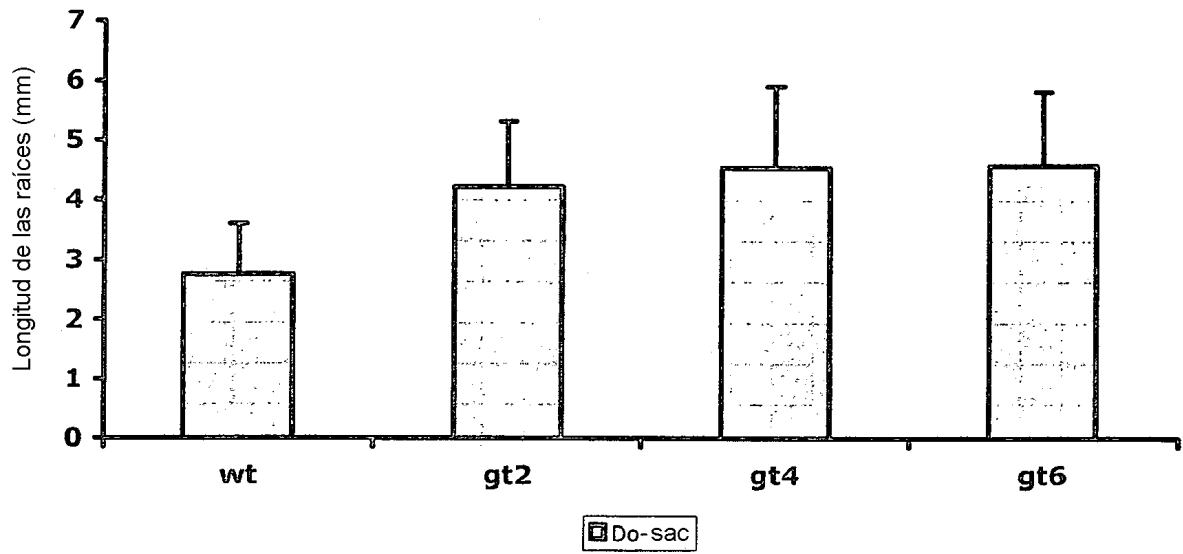
*AtTPS8* KO en medio + sac en la oscuridad



WT

*AtTPS8* KO

Líneas *AtTPS8* KO en medio -sac en la oscuridad

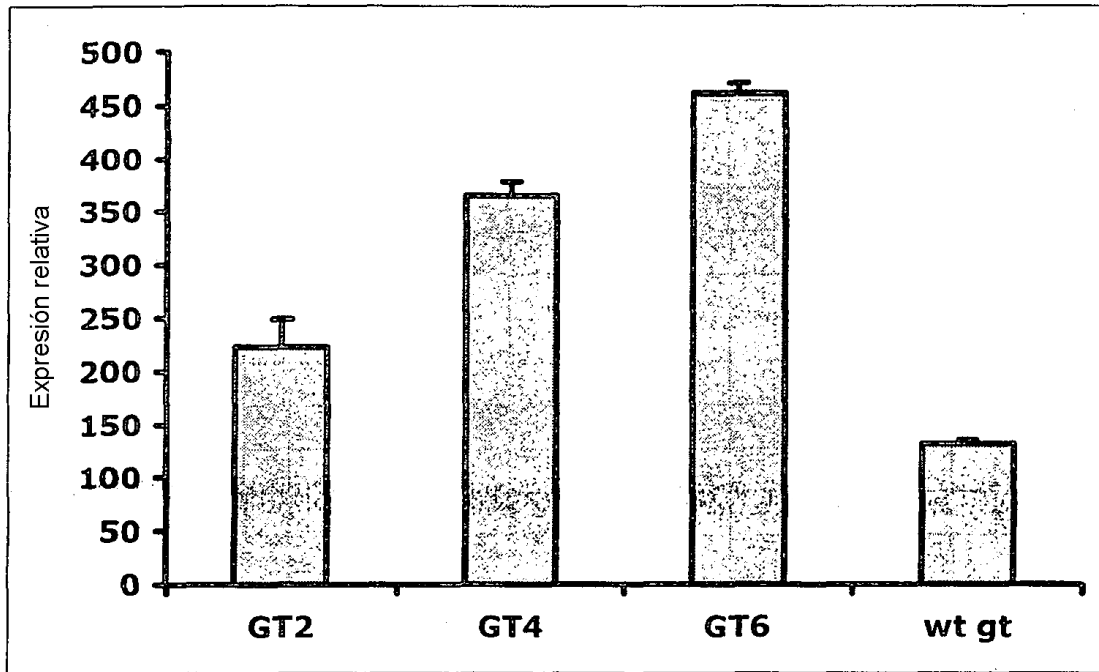


WT

*AtTPS8* KO

Figura 2: Niveles de expresión de *AtCYD3* y *ApL3* en el contexto de *AtTPS8* KO

Expresión de *ApL3*



Expresión de *AtCYCD3*

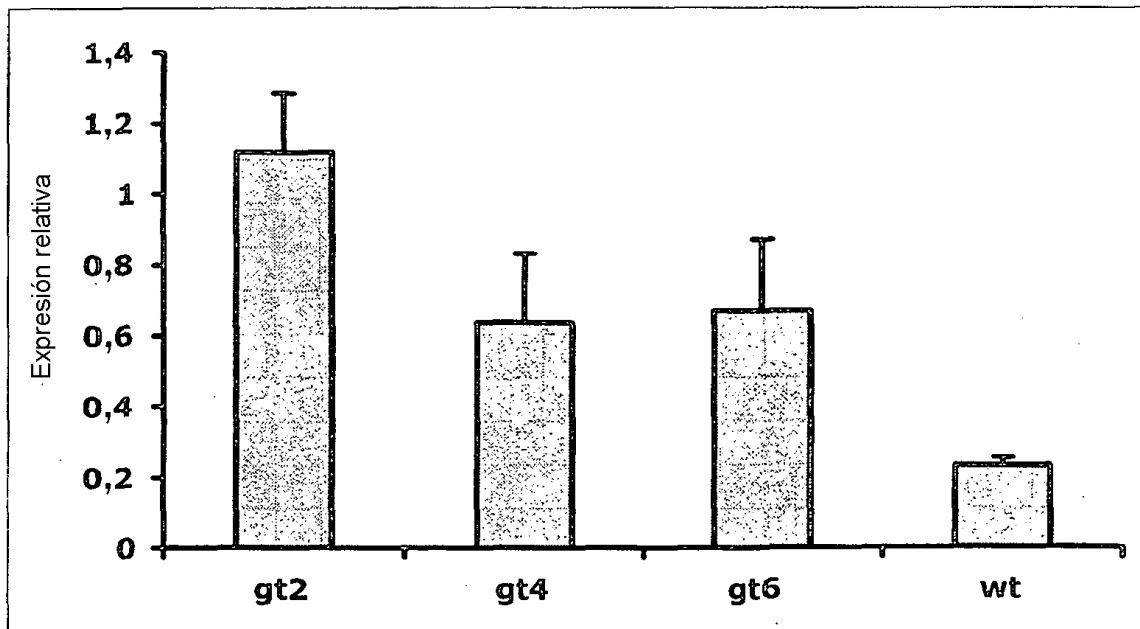
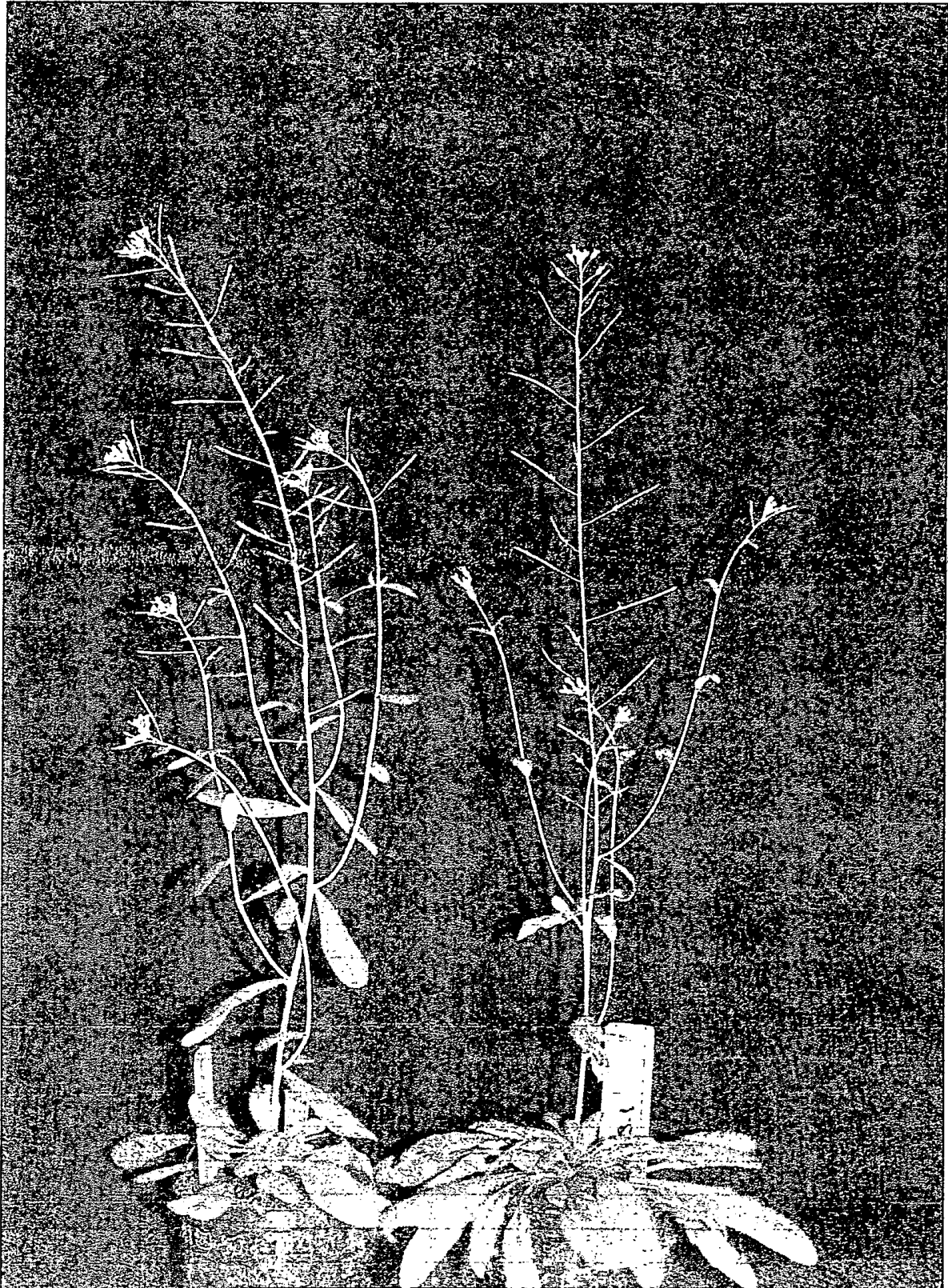
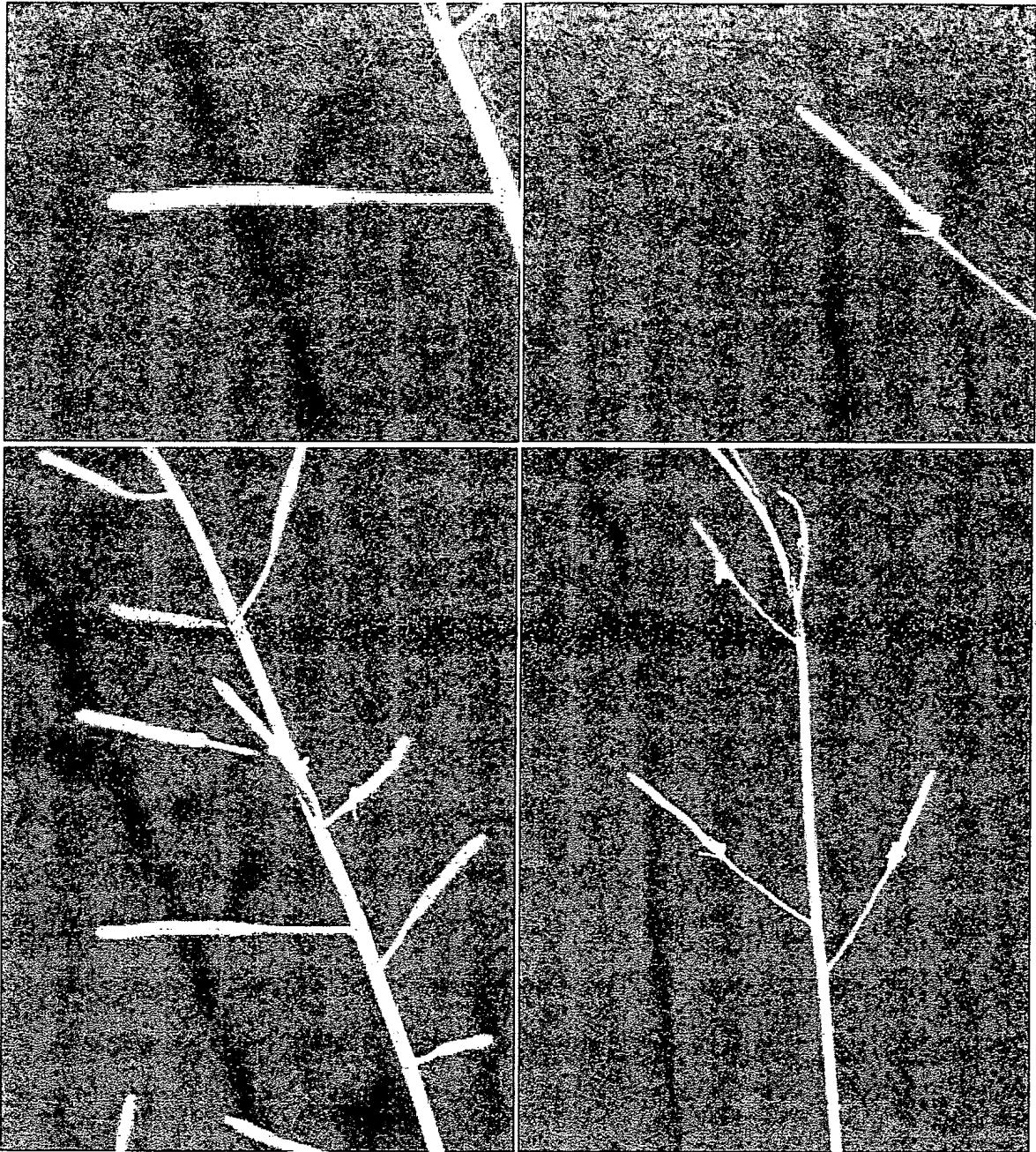
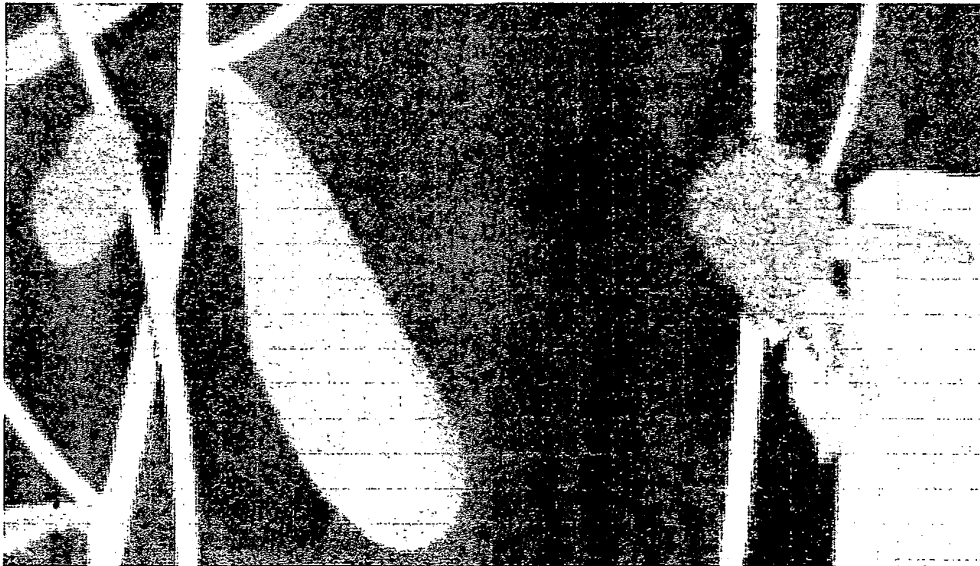
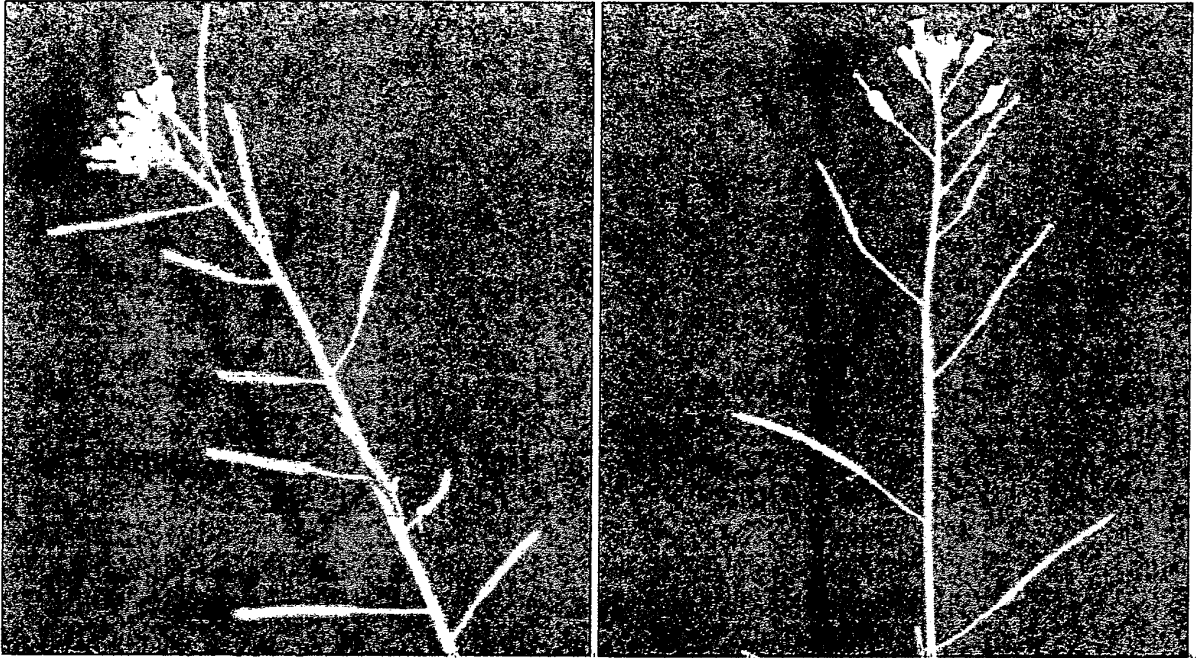


Figura 3: Caracterización fenotípica de las plantas adultas con *AtTPS8* KO en comparación con plantas WT









*AtTPS8* KO

WT

Hoja caulinares

Figura 4

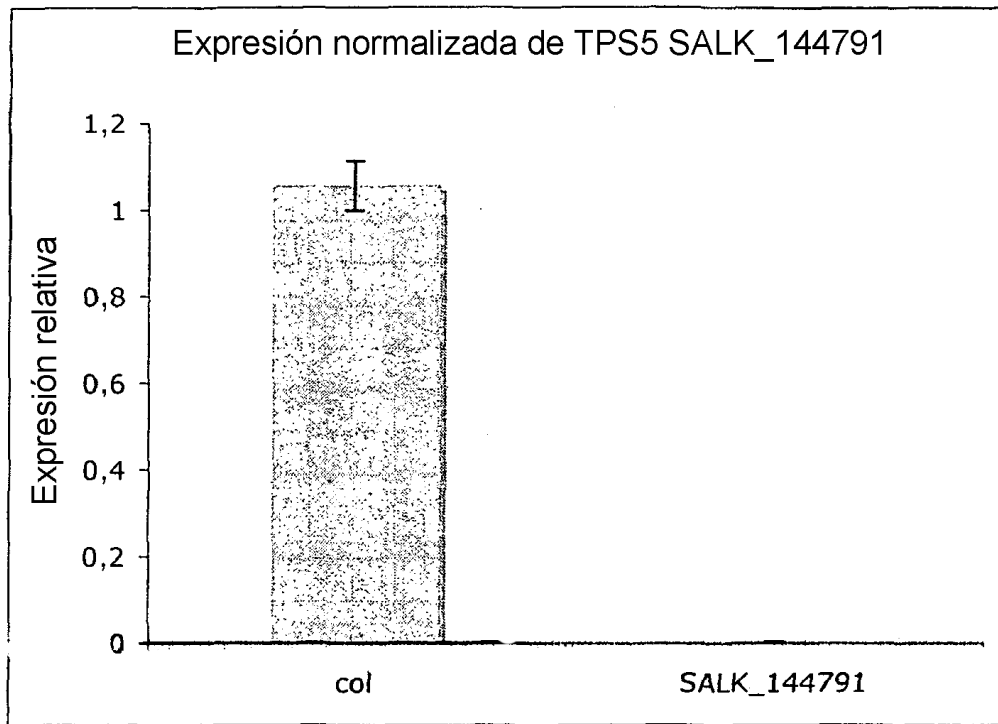


Figura 5

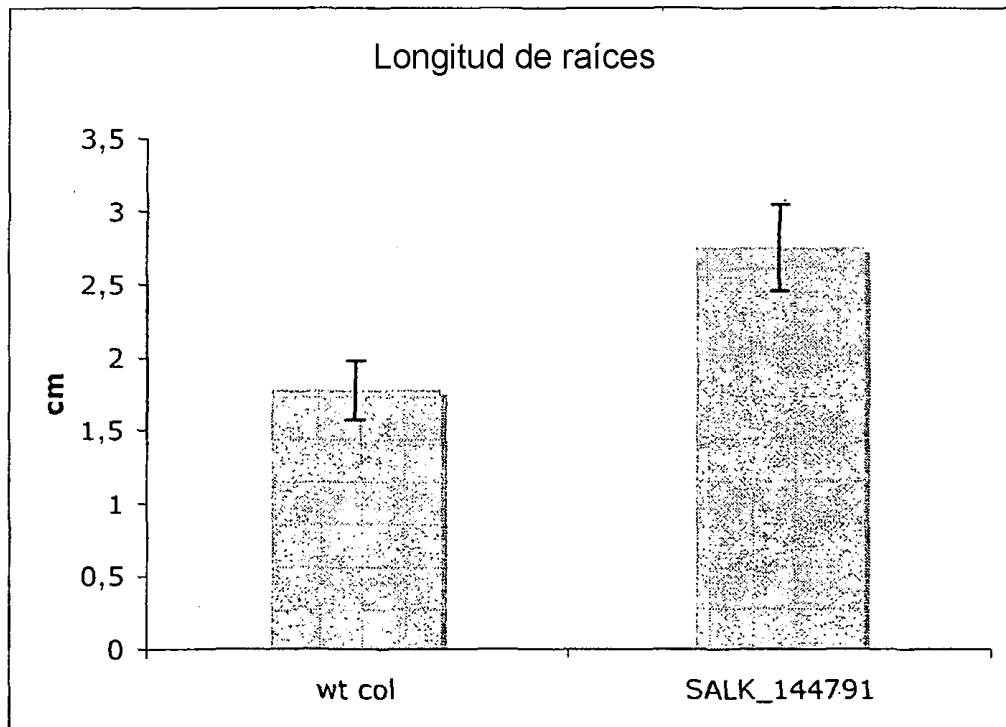
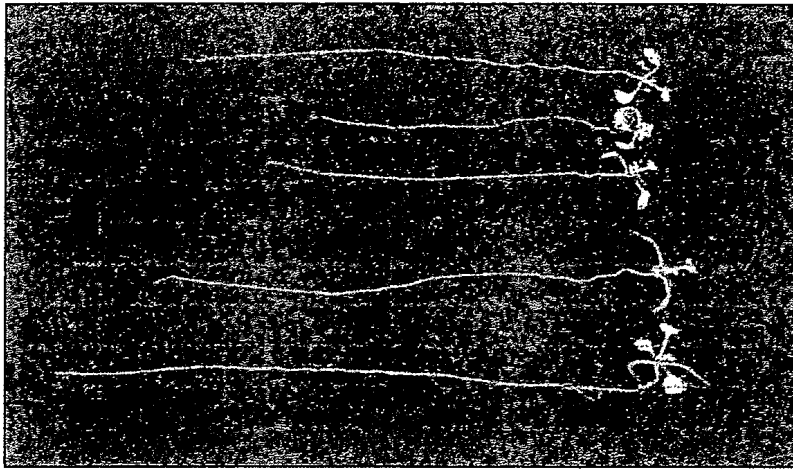


Figura 6

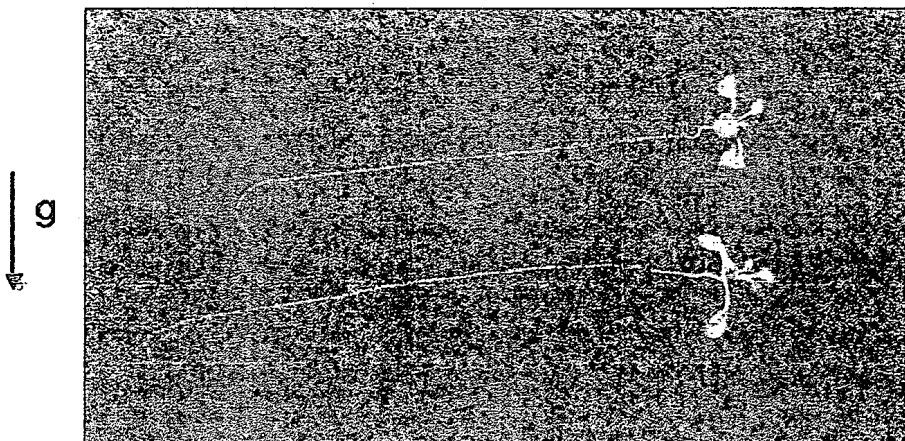


Wt col

Salk\_144791

1 X MS, 1% sacarosa

Figura 7



Wt col

SALK\_144791

1 X MS, 1% sacarosa

Figura 8: Expresión de *TPS5* en la línea GT12622 con relación a la expresión de (Landsberg erecta) de WT

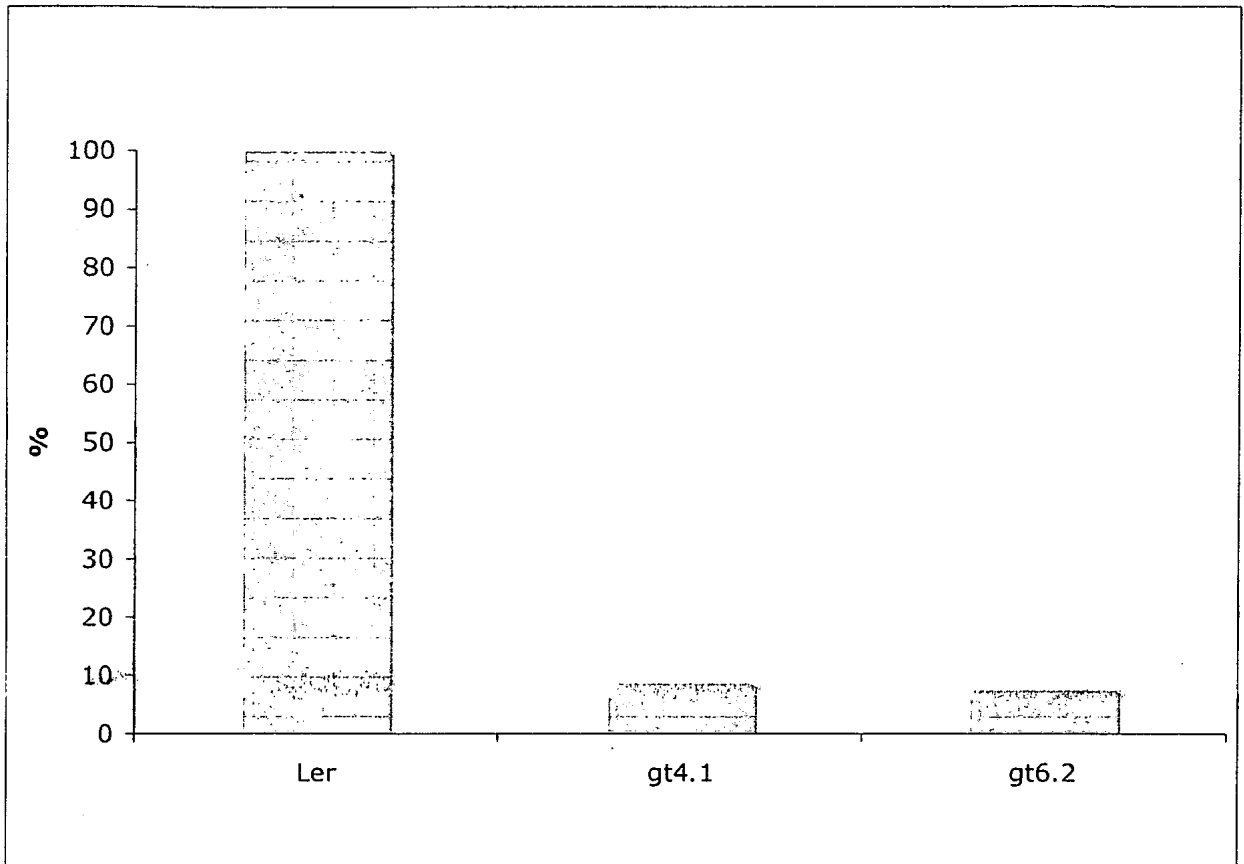
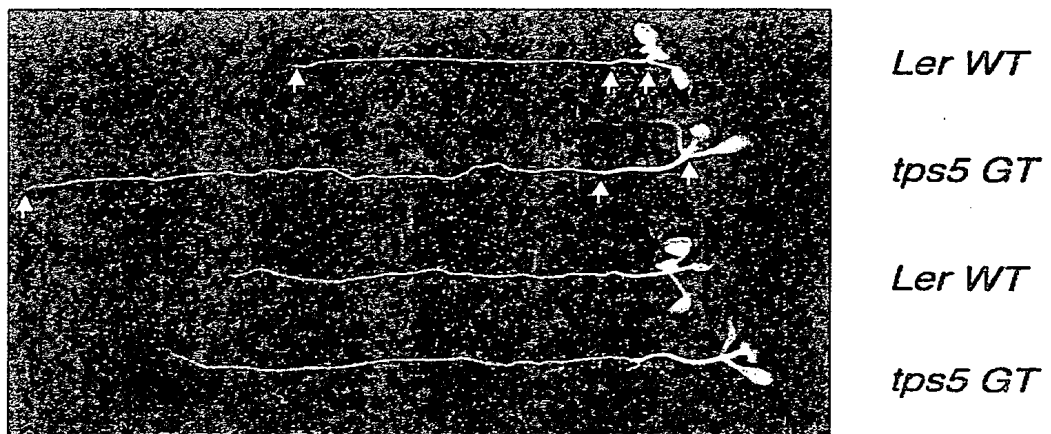


Figura 9



1 X MS, 1% sacarosa

Figura 10

