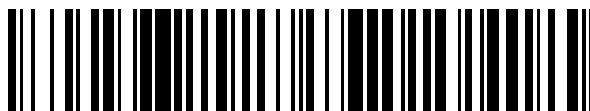


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 441 369**

51 Int. Cl.:

C12N 15/82

(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.07.2009** **E 09794064 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.09.2013** **EP 2313509**

54 Título: **Plantas que producen polen 2n**

30 Prioridad:

08.07.2008 EP 08290672

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

04.02.2014

73 Titular/es:

**INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE
AGRONOMIQUE (100.0%)
Etablissement Public à Caractère Scientifique
147, rue de l'Université
75007 Paris, FR**

72 Inventor/es:

**MERCIER, RAPHAEL;
D'ERFURTH, ISABELLE y
CROMER, LAURENCE**

74 Agente/Representante:

PONS ARIÑO, Ángel

ES 2 441 369 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

Plantas que producen polen 2n

La invención hace referencia a plantas que producen polen 2n, y a su uso en la mejora vegetal.

5 La poliploidia es la condición de los organismos que tienen más de dos conjuntos de cromosomas. Ha jugado un papel dominante en la evolución, adaptación y especiación de diversos eucariotas, incluyendo hongos, insectos, anfibios, reptiles, peces y vertebrados (OTTO, Cell 131, 452-62, 2007).

10 La poliploidia es particularmente prominente en plantas; se calcula que un 95% de helechos son poliploides y que casi todos los angiospermas han experimentado al menos una serie de duplicación genética completa durante el transcurso de su evolución (CUI, et al. Genome Res 16, 738-49, 2006). Además, muchas plantas de cultivo importantes, tales como la patata, algodón, colza, alfalfa y trigo son actuales poliploides, mientras que otras, tales como el maíz, las habas de soja, y la col, mantienen los vestigios de eventos poliploides antiguos (GAUT & DOEBLEY, Proc Natl Acad Sci USA, 94, 6809-14, 1997; LYSACK et al., Genome Res 15, 516-25, 2005; SCHLUETER, et al. BMC Genomics, 8, 330, 2007). Incluso las plantas con genomas pequeños, tales como la *Arabidopsis thaliana*, han tenido el impacto de la poliploidia (BLANC et al., Plant Cell 12, 1093-101, 2000).

15 Los mecanismos responsables para la formación de poliploides en plantas todavía no se entienden muy bien. Sin embargo, hoy en día se cree que los gametos 2n son la vía más importante para la formación de poliploidia y que hacen que el flujo de genes ocurra desde los progenitores diploides hasta las nuevas especies poliploides. (BRETAGNOLLE & THOMPSON, New Phytologist 129, 1-22, 1995; RAMSEY & SCHEMSKE, Annual Reviews of Ecology and Systematics 29, 467-501, 1998).

20 Los gametos 2n (también conocidos como gametos no reducidos o diplogametos) son gametos que tienen el número cromosómico somático en lugar del número cromosómico gametofítico. Se ha mostrado que son útiles para la mejora genética de varios cultivos (para su revisión, cfr. por ejemplo RAMANNA & JACOBSEN, Euphytica 133, 3-18, 2003).

25 Dada su tremenda importancia en la evolución y agronomía, los gametos 2n han focalizado una atención considerable. (VEILLEUX, Plant Breeding Reviews 3, 252-288, 1985) y BRETAGNOLLE & THOMPSON (1995, citados anteriormente) han proporcionado un informe exhaustivo de las aberraciones meióticas que pueden generar diplogametos. Las anomalías citológicas mejor documentadas y descritas que conducen a la formación de gametos 2n, incluyen la citocinesis anómala, el salto de la primera o segunda división meiótica, o una geometría anómala del huso. La co-orientación de los husos de la segunda división (husos paralelos o husos fusionados) es quizás el más común de los mecanismos responsable de la formación de las esporas 2n, y es el mecanismo principal de la formación del polen 2n, y es el principal mecanismo de la formación del polen 2n en la patata (CARPUTO et al. Genetics 163, 287-94, 2003). Además el modo de formación de gametos 2n tiene un impacto directo en su composición genética. Por ejemplo, los husos paralelos o fusionados conducen a gametos que son completamente heterocigotos hasta el primer entrecruzamiento en cada pareja de homólogos y que son por lo tanto genéticamente equivalentes a aquellos que se obtienen como resultado de la ausencia de la primera división (aparte de la segregación de cromátidas recombinantes más allá del primer entrecruzamiento). Estos gametos son diferentes de aquellos que son el resultado de la citocinesis prematura o anómala que habitualmente contienen dos cromátidas hermanas de cada cromosoma, y que son por lo tanto genéticamente equivalentes a los gametos que se obtienen como resultado de la ausencia de la segunda división meiótica.

40 Aunque los factores medioambientales pueden afectar a la frecuencia de los gametos 2n, la capacidad para producir gametos 2n es hereditaria y tiene por lo tanto una fuerte base genética (RAMSEY & SCHEMSKE, 1998, citado anteriormente). La determinación genética de la producción de polen 2n ha sido estudiada en detalle en diversas especies y habitualmente se ajustan a la segregación de un locus mayor en un fondo de variación poligénica. En la mayoría de los casos, se observó que la capacidad para formar gametos 2n estaba controlada por un alelo recesivo monogénico, mientras que la expresión de este fenotipo fue modulada por diversos locus diferentes (revisado en BRETAGNOLLE & THOMPSON, 1995 citado anteriormente), y el entorno externo.

Hasta ahora, ninguno de los genes que contribuyen a la producción de gametos 2n ha sido identificado y caracterizado a nivel molecular, y esta carencia de información ha dificultado un uso más amplio de estos gametos en programas de mejora vegetal asistida por el hombre.

50 Los inventores han caracterizado hoy en día en el modelo vegetal *Arabidopsis thaliana*, un gen implicado en la formación de gametos 2n en plantas. Este gen será denominado de aquí en adelante *AtPS1* (para los husos paralelos de *Arabidopsis thaliana*). Los inventores han observado que la inactivación de *AtPS1* genera esporas masculinas diploides, dando lugar a granos de polen diploides y a plantas triploides espontáneas en la progenie. La secuencia del gen *AtPS1* de *Arabidopsis thaliana*, está disponible en la base de datos TAIR bajo el número de

accesión AT1g34355. Este gen codifica una proteína de 1477 aa, cuya secuencia está representada en el listado de secuencias adjunto como SEQ ID NO: 1. El gen *AtPS1* se conserva en plantas de mayor altura. Una búsqueda en la base de datos de secuencias permitió identificar ortólogos del *AtPS1*, por ejemplo en *Populus trichocarpa* (SEQ ID NO:2), *Oryza sativa* (SEQ ID NO:3), *Vitis vinifera* (SEQ ID NO:4), *Glycine max*, (SEQ ID NO:5 y 6) *Sorghum bicolor* (SEQ ID NO:7), *Zea mays* (SEQ ID NO:8), (*Solanum lycopersicum* (SEQ ID NO:9), *Medicago truncatula* (SEQ ID NO:10), *Solanum tuberosum* (secuencia parcial representada como SEQ ID NO:11), *Helianthus argophyllus* (secuencia parcial representada como SEQ ID NO:12), *Malus x domestica* (secuencia parcial representada como SEQ ID NO:13), y *Triticum aestivum* (secuencia parcial representada como SEQ ID NO:14). Estas proteínas portan dos dominios, un dominio PINc (InterPro: IPR006596) el cual se predice que juega un papel en la unión a nucleótido, que se encuentra potencialmente en las RNasas, y un dominio FHA (asociado a Forkhead) (InterPro:IPR000253), un dominio de reconocimiento fosfopéptido presente en muchas proteínas reguladoras.

La invención por tanto proporciona un método para la obtención de una planta que produce polen 2n, en donde dicho método comprende la inhibición en dicha planta de una proteína denominada de aquí en adelante como proteína PS1, en donde dicha proteína:

- comprende dentro de su región N-terminal (preferiblemente dentro de sus 300 aminoácidos N-terminales, más preferiblemente dentro de sus 250 aminoácidos N-terminales, y aún más preferiblemente dentro de sus 200 aminoácidos N-terminales), un dominio que tiene al menos un 40%, y en orden creciente de preferencia, al menos 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 o 98% de identidad de secuencia, o al menos 60%, y por orden creciente de preferencia, al menos, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 o 98% de similitud de secuencia con el dominio FHA de la proteína *AtPS1* (aminoácidos 64-132 de SEQ ID NO: 1);

- comprende dentro de su región C-terminal (preferiblemente dentro de sus 350 aminoácidos C-terminales, más preferiblemente dentro de sus 300 aminoácidos C-terminales, y todavía más preferiblemente dentro de sus 250 aminoácidos C-terminales), un dominio que tiene al menos un 40%, y por orden creciente de preferencia, al menos 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 o 98% de identidad de secuencia, o al menos 60%, y por orden creciente de preferencia, al menos, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 o 98% de similitud de secuencia con el dominio PINc de la proteína *AtPS1* (aminoácidos 1237-1389 de SEQ ID NO: 1).

A menos que se especifique de otro modo, los valores de similitud e identidad de la secuencia de proteínas proporcionada en la presente patente, se calculan utilizando el programa BLASTP aplicando parámetros por defecto. Los cálculos de similitud se llevan a cabo utilizando la matriz de puntuación BLOSUM62.

A modo de ejemplos no limitativos de proteínas PS1 representativas de varias familias de plantas, se puede citar, además del *AtPS1* de SEQ ID NO: 1, la proteína PS1 de *Populus trichocarpa* de SEQ ID NO: 2, la proteína PS1 de *Oryza sativa* de SEQ ID NO: 3, la proteína PS1 de *Vitis vinifera* PS1 de SEQ ID NO:4, las proteínas PS1 de *Glycine max* de SEQ ID NO:5 y 6, la proteína PS1 de *Sorghum bicolor* de SEQ ID NO:7, la proteína PS1 de *Zea mays* de SEQ ID NO:8, la proteína PS1 de *Solanum lycopersicum* de SEQ ID NO:9, la proteína PS1 de *Medicago truncatula* de SEQ ID NO:10, la proteína PS1 de *Solanum tuberosum* (secuencia parcial SEQ ID NO:11), la proteína PS1 de *Helianthus argophyllus* (secuencia parcial SEQ ID NO:12), la proteína PS1 de *Malus x domestica* (secuencia parcial SEQ ID NO:13), y la proteína PS1 de *Triticum aestivum* (secuencia parcial como SEQ ID NO:14).

La inhibición de una proteína PS1 puede ser obtenida bien suprimiendo, bloqueando, o disminuyendo su función, o de manera ventajosa, previniendo o reduciendo de forma regulada la expresión de su gen.

A modo de ejemplo, la inhibición de dicha proteína PS1 puede obtenerse mediante mutagénesis del gen correspondiente o de su promotor, y la selección de mutantes que han perdido parcial o totalmente la actividad de la proteína PS1. Por ejemplo, una mutación dentro de la secuencia de codificación puede inducir, dependiendo de la naturaleza de la mutación, la expresión de una proteína inactiva, o de una proteína con actividad impedida; de la misma manera, una mutación dentro de la secuencia promotora puede inducir una carencia de expresión de dicha proteína PS1, o disminuir la misma.

La mutagénesis puede ser realizada por ejemplo mediante la delección dirigida del promotor o la secuencia de codificación de PS1, o de una parte del mismo, o mediante la inserción dirigida de una secuencia exógena dentro de dicha secuencia de codificación o dicho promotor. Puede ser también realizada incluyendo mutaciones aleatorias, por ejemplo a través de mutagénesis por EMS o mutagénesis de inserción aleatoria, seguida por el cribado de los mutantes dentro del gen de *PS1*. Los métodos para la mutagénesis y el cribado de alto rendimiento están disponibles en el arte. A modo de ejemplo, se puede mencionar TILLING (del inglés Targeting Induced Local Lesions IN Genomes, descrito by McCallum et al., 2000). Entre la progenie de mutantes que tienen una mutación dentro del gen de *PS1*, las plantas que son homocigotas para la mutación, tienen la capacidad de producir polen 2n; estas plantas pueden ser identificadas de entre la misma en base a sus características fenotípicas, por ejemplo la formación de al menos 5%, preferiblemente al menos 10%, y más preferiblemente al menos 20% de diadas como un producto de la meiosis masculina.

De manera ventajosa, la inhibición de dicha proteína PS1 se obtiene silenciando el correspondiente gen de PS1. Por ejemplo, puede mencionarse mediante inhibición antisentido o co-supresión, tal como se describe a modo de ejemplo en las patentes estadounidenses 5.190.065 y 5.283.323. También es posible utilizar ribozimas dirigidas al ARNm de dicha proteína PS1.

5 Métodos preferentes son aquellos en donde el silenciamiento génico es inducido mediante la interferencia por ARN (ARNi), utilizando un ARN de silenciamiento que selecciona como diana el gen de PS1 para ser silenciado. Diversos métodos y constructos de ADN para la administración de los ARN de silenciamiento se encuentran disponibles en el arte.

10 Un "ARN de silenciamiento" se define en el presente documento como un ARN pequeño que puede silenciar un gen diana de manera específica a la secuencia mediante el apareamiento de bases con moléculas de ARNm complementario. Los ARN de silenciamiento incluyen en particular ARN pequeños de interferencia (ARNip) y micro ARN (miARN).

15 Inicialmente, los ADN constructos para la administración de un ARN de silenciamiento en una planta incluían un fragmento de 300 pb o más (generalmente 300-800 bp), aunque secuencias más cortas pueden en ocasiones inducir un silenciamiento eficaz) del ADNc del gen diana, bajo el control transcripcional de un promotor activo en dicha planta. Actualmente, los constructos de ARN de silenciamiento más ampliamente utilizados son aquellos que pueden producir transcripciones del ARN en forma de horquilla (del inglés hairpin) (ARNhp). En estos constructos, el fragmento del gen diana se repite de manera inversa, generalmente con una región espaciadora entre las repeticiones (para su revisión, cf. WATSON et al., 2005). Se pueden utilizar además micro ARN artificiales (amiARN) dirigidos contra el gen de PS1 a ser silenciado (para revisión sobre el diseño y aplicaciones de los ARN de silenciamiento, que incluyen en particular amiARN, en plantas cfr. por ejemplo OSSOWSKI et al., (Plant J., 53, 674-90, 2008).

La presente invención proporciona constructos de ADN quimérico para el silenciamiento del gen de PS1, que incluyen en particular casetes de expresión para ARNhp, o amiARN que seleccionan como diana el gen de PS1.

25 Un casete de expresión de la invención comprende por ejemplo:

- un promotor funcional en una célula vegetal;

30 - un constructo de ADN de 200 a 1000 pb, preferiblemente de 300 a 900 pb, que comprenden un fragmento de ADNc que codifica una proteína PS1, o de su complementario, o que tiene al menos un 95% de identidad, y por orden creciente de preferencia, al menos 96%, 97%, 98%, o 99 % de identidad con dicho fragmento, donde dicha secuencia de ADN se sitúa bajo el control transcripcional de dicho promotor.

De acuerdo a un modo de realización preferente de la presente invención, un casete de expresión para un ARNhp comprende

- un promotor funcional en una célula vegetal,

35 - un constructo de ADN que es capaz, cuando se transcribe, de formar un ARN hairpin (horquilla) que selecciona como diana el gen de PS1;

donde dicho constructo de ADN está situado bajo el control transcripcional de dicho promotor.

40 En general, dicho constructo de ARN hairpin comprende: i) una primera secuencia de ADN de 200 a 1000 pb, preferiblemente de 300 a 900 pb, que consiste en un fragmento de un ADNc que codifica una proteína PS1, o que tiene al menos un 95% de identidad con dicho fragmento; ii) una segunda secuencia de ADN que complementario a dicho primer ADN, donde dicha primera y segunda secuencia se encuentran en orientaciones opuestas y ii) una secuencia espaciadora que separa dicha primera y segunda secuencia, de tal manera que la primera y segunda secuencia de ADN sean capaces, cuando se transcriben, de formar una única molécula de ARN de doble cadena. El espaciador puede ser un fragmento de aleatorio de ADN. Sin embargo, de manera preferente, se podrá utilizar un intrón que se pueda cortar por la célula vegetal diana. Su tamaño es generalmente de 400 a 2000 nucleótidos de largo.

De acuerdo con otro modo de realización preferente de la invención, un casete de expresión para un amiARN que fija como diana el gen de PS1 comprende:

- un promotor funcional en una célula vegetal,

- un constructo de ADN que es capaz, cuando se transcribe, de formar un amiARN que fija como diana el gen de PS1;

donde dicho constructo se sitúa bajo el control transcripcional de dicho promotor.

5 Se encuentra disponible en el arte una gran selección de promotores adecuados para la expresión de genes heterólogos en plantas.

10 Pueden obtenerse por ejemplo a partir de plantas, virus vegetales, o bacterias tales como la *Agrobacterium*. Incluyen promotores constitutivos, es decir, promotores que son activos en la mayoría de los tejidos y células y bajo la mayoría de condiciones ambientales, además de promotores específicos de la célula o específicos del tejido que están activos o principalmente en ciertos tejidos o ciertos tipos de células, y promotores inducibles que se activan mediante estímulos físicos o químicos, tales como aquellos que son el resultado de infección por nematodos.

Ejemplos no limitativos de promotores constitutivos que se utilizan habitualmente en células vegetales son el promotor del virus del mosaico de la coliflor (CaMV) 35S, el promotor de la nopalina sintasa o promotor Nos, el promotor de la rubisco, el promotor del virus del mosaico de las nervaduras de la mandioca (CsVMV).

15 Los promotores específicos de tejidos u órganos que pueden ser utilizados en la presente invención incluyen en particular promotores capaces de conferir expresión asociada a meiosis, tal como el promotor *DMC1* (KLIMYUK & JONES, Plant J, 11, 1-14, 1997); también se puede utilizar el promotor endógeno de *PS1*.

Los constructos de ADN de la invención generalmente también incluyen un terminador transcripcional (por ejemplo el terminador transcripcional 35S, o el terminador transcripcional de la nopalina sintasa (Nos)).

20 La invención también incluye vectores recombinantes que contienen un constructo de ADN quimérico de la invención. Habitualmente, dichos vectores recombinantes además incluyen uno o más gen marcador, lo que permite la selección de huéspedes transformados.

25 La selección de vectores adecuados y de los métodos para la inserción de constructos de ADN en los mismos, son bien conocidos para personas expertas en el arte. La elección del vector depende del huésped deseado y del método deseado de transformación de dicho huésped. Se encuentran disponibles en el arte una variedad de métodos de transformación genética de células vegetales o plantas para diversas especies vegetales, dicotiledóneas o monocotiledóneas. A modo de ejemplos no limitativos, se puede mencionar la transformación mediada por virus, transformación mediante micro-inyección, por electroporación, transformación mediada por microproyectiles (biolística), transformación mediada por *Agrobacterium*, y similares.

30 La invención también proporciona una célula hospedadora que comprende un constructo de ADN recombinante de la invención. Dicha célula hospedadora puede ser una célula procariota, por ejemplo una célula de *Agrobacterium*, o una célula eucariota, por ejemplo una célula vegetal genéticamente transformada por un constructo de ADN de la invención. El constructo puede ser expresado de manera transitoria; puede además ser incorporado a un replicón extracromosómico, o integrado en el cromosoma.

35 La invención también proporciona un método para producir una planta transgénica capaz de producir polen 2n, donde dicho método comprende las etapas que consisten en:

- transformar al menos una célula vegetal con un vector que contiene un constructo de ADN de la invención;

- cultivar dicha célula vegetal transformada para regenerar una planta que tenga en su genoma un transgén que contenga dicho constructo de ADN.

40 La invención también proporciona plantas genéticamente transformadas por un constructo de ADN de la invención. De manera preferente, dichas plantas son plantas transgénicas, en donde dicho constructo está contenido en un transgén integrado en el genoma de la planta, de manera que se pasa a generaciones de plantas sucesivas. La expresión de dichos constructos de ADN quiméricos, que dan como resultado una reducción regulada de la proteína PS1, proporciona a dicha planta transgénica la capacidad para producir polen 2n.

45 La invención además abarca un método para producir polen 2n, en donde dicho método comprende la obtención de una planta que produce polen 2n mediante un método de la invención, cultivando dicha planta y recuperando el polen producido por dicha planta. Preferiblemente, dicho polen comprende al menos un 10%, más preferiblemente al menos un 20%, y por orden creciente de preferencia, al menos un 30%, 40%, 50%, o 60 % de granos de polen 2n viables.

El polen 2n producido por las plantas de la invención resulta útil en particular en la mejora vegetal, para la producción de plantas poliploides (por ejemplo, triploides estériles), o para permitir cruces entre plantas de diferente nivel de ploidía.

- 5 La presente invención se aplica a un amplio rango de plantas monocotiledóneas o dicotiledóneas de interés agronómico. A modo de ejemplos no limitativos, se puede mencionar la patata, el tomate, la alfalfa, azúcar de caña, boniato, mandioca, arándano, trébol, habas de soja, raigrás, plátano, melón, sandía o plantas ornamentales tales como rosas, lirios, tulipanes, narcisos.

- 10 Los anteriores y otros objetos y ventajas de la invención serán evidentes a partir de la siguiente descripción detallada y de los dibujos anexos. Debe entenderse, sin embargo, que esta descripción detallada anterior es sólo a modo de ejemplo y no es restrictiva de la invención.

Descripción de las figuras

Figura 1: estructura del gen *AtPS1*

Estructura intrón/exón del gen *AtPS1* y localización de las tres diferentes inserciones de ADN-T (triángulos). Los cebadores utilizados están indicados debajo del diagrama génico.

- 15 Figura 2: alineamiento de secuencias múltiples que representan segmentos de la mayor conservación de secuencias entre proteínas *AtPS1* vegetales.

- 20 Proteínas *AtPS1* de longitud completa de *Arabidopsis thaliana* (At: NP_564445) *Populus trichocarpa* (Pt: jgi_592219), *Oryza sativa* (Os:|NP_001065865), *Vitis vinifera* (Vv: CAN81434_mod), *Glycine max* (Gm: jgi_scaffold_143 y jgi_scaffold_131), *Sorghum bicolor* (Sb:jgi_5039668), y *Zea mays* (Zm :EST_10287.m000022), se alinearon y los segmentos de mayor conservación fueron identificados utilizando plotcon (paquete EMBOS).

- 25 Las secuencias mostradas en este alineamiento se derivan de aquellas representadas en el listado de secuencias adjunto bajo SEQ ID NO: 1 a 8 mediante eliminación de los segmentos de secuencia no conservados del alineamiento. La longitud de estas regiones eliminadas está indicada con recuadros en la correspondiente posición del alineamiento. Las coincidencias de dominios basadas en una comparación contra la base de datos de dominios Interpro (PMID: 18428686) están indicadas por recuadros en gris sobre el alineamiento, y los indicadores de coincidencia están ampliados para incluir segmentos adyacentes de la conservación de secuencias y estructuras. Además, un motivo corto identificado como un elemento C repetido en *Arabidopsis thaliana AtPS1*, está marcado utilizando los recuadros en blanco.

Figura 3: análisis de los productos meióticos de mutantes *Atps1* y de tipo silvestre.

- 30 A: fotos de productos meióticos de tipo silvestre y de mutantes *Atps1*. Escala gráfica=10 µm. B: cuantificación de productos meióticos en *Ws-4* (n=92), *Col-0* (n=212), *Atps1-3* (n=436), *Atps1-1* (n=1125), *Atps1-2* (n=554), el *Atps1-1/Atps1-3 F1* (n=283) y *Atps1-1/Atps1-2 F1* (n=252).

- 35 Figura 4: propagaciones cromosómicas meióticas de tipo silvestre. A: paquiteno. B: metafase I. C: anafase I. D: metafase II. E: Anafase II F: telofase II. G-O *Atps1-1* meiosis. G: paquiteno. H: metafase II: anafase I J-L: metafase II. MO: Anafase II. M: díada. N: tríada. O: tétrada. Escala gráfica=10µm.

Figura 5: inmunotinción de husos de meiosis II en mutante de tipo silvestre y *Atps1-1*.

A, B, C: los husos de tipo silvestre en metafase II, anafase II y telofase II, respectivamente. D a L: meiocito *Atps1-1* en metafase II / anafase II. Los cromosomas se colorearon mediante yoduro de propidio o DAPI y microtúbulos mediante inmunolocalización. Escala gráfica=5µm.

- 40 Figura 6: propagaciones cromosómicas meióticas de *Atspo11-1* y de *Atps1-1/Atspo11-1* doble mutante.

A a F: propagaciones cromosómicas meióticas de *Atspo11-1*. A: metafase I. B y C: anafase I. D: metafase II. E: tétrada no equilibrada. F: políada. G a R: meiosis de *Atps1-1/Atspo11-1*. G: metafase I. H y I: anafase I. J: metafase II. K: Anafase II. L y M: díada equilibrada II. N y O: Tríada. P y Q: tétrada no equilibrada. R: Políada. Escala gráfica=10µm.

- 45 Figura 7: Genotipo de la progenie de *Atps1* mutantes

La progenie diploide y triploide del cruce *Atps1-1(Col-0)* / *Atps1-3(Ws-4)* ♂ x *Ler* ♀ fue genotipado para diversos marcadores genéticos. Para cada marcador las plantas que portan el alelo *Col-0* están en un gris medio, las plantas que portan solamente el alelo *Ws-4* están en gris claro y las plantas que portan tanto el alelo *Col-0* como el *Ws-4* están en gris oscuro. Los alelos *Ler* están presentes en todas las plantas porque fue utilizado como el genitor femenino en el cruce. La posición de cada marcador y los centrómeros se indican a lo largo de los cromosomas.

Figura 8. Productos meióticos de tipo silvestre, *atps1-1* mutante y planta *RNAi35AtPS1#6*.

Figura 9. Expresión de *AtPS1* en tres plantas *RNAi35AtPS1*.

Ejemplos

Procedimientos experimentales

Material vegetal y condiciones de crecimiento.

Las referencias de material vegetal de tipo silvestre utilizado en este estudio fueron *A. thaliana* con accesión Columbia (*Col-0*) y Wassilewskija (*Ws-4*). Se utilizaron líneas mutantes de inserción del ADN-T N578818 (ALONSO et al., Science, 301, 653-7, 2003) (*Atps1-1*), N851945 (WOODY et al., J Plant Res 120, 157-65, 2007) (*Atps1-2*), N646172 (*Atspo11-1-3*: STACEY et al. Plant Journal 48, 206-216 2006), obtenidas del "European Arabidopsis stock center" (centro europeo de stock de Arabidopsis) (SCHOLL et al., Plant Physiol. 124, 1477-80, 2000) y EQM96 (*Atps1-3*) de la colección de Versailles de ADN-T (SAMSON et al., Nucleic Acids Res 30, 94-7, 2002).

Las plantas de *Arabidopsis* se cultivaron en un invernadero o cámara de crecimiento bajo las siguientes condiciones: fotoperiodo 16 h de día/8 h de noche; temperatura 2 °C de día y de noche; humedad 70%. Para el ensayo de germinación y los experimentos de citometría, se cultivó *Arabidopsis in vitro* en un medio *Arabidopsis* (ESTELLE et al., Mol. Gen. Genet. 206, 200-206, 1987) a 21 °C con un fotoperiodo de 16h de día/8h de noche, y 70% de higrometría.

Análisis genético

El genotipado de los mutantes de inserción de ADN-T se realizó mediante PCR (30 ciclos de 30s a 94 °C, 30s a 56°C y un minuto a 72°C) utilizando dos parejas de cebadores. Para cada línea la primera pareja designada es específica del locus de tipo silvestre y la segunda pareja es específica de la inserción de ADN-T.

Atps1-3: EQM96L (5'ACATCTCCCTTGTCGTAAC3': SEQIDNO:15) y EQM96U (5'ATCTCTCAATCGTTCGTTCC3': SEQ ID NO:16); EQM96L y tag3 (5' CTGATACCAGACGTTGCCCGCATAA3': SEQ ID NO:17). *Atps1-1*: N578818U2 (5'TCGGAGTCACGAAGACTATG3': SEQ ID NO:18) y N578818L (5'CAGTCTCACTGATTATTCCTG 3': SEQ ID NO:19) ; N578818U2 y LbSalk2 (5' GCTTTCTTCCCTTCCTTCTC 3': SEQ ID NO:20). *Atps1-2*: N851945U (5'AAGGCTGATATTCTGATTCAT3': SEQ ID NO:21) y N851945L (5' CTCTTGTTGGTCCGTATCTTA3': SEQ ID NO:22) ; N851945U y P745 (5'AACGTCCGCAATGTGTTATTAAGTTGTC3': SEQ ID NO:23). *spo11-3*: N646172U (5' AATCGGTGAGTCAGGTTTCAG3': SEQ ID NO:24) y N646172L (5' CCATGGATGAAAGCGATTTAG3': SEQ ID NO:25) ; N646172L/ LbSalk2.

Se obtuvieron *spo11/Atps1* mutantes dobles, tal como se describe en VIGNARD et al. (PLoS Genet, 3, 1894-906,2007).

Marcadores genéticos utilizados para genotipar plantas de *Atps1-1/Atps1-3* x *Ler F1* triploides y diploides

El microsatélite msat1.29450 (situado en el cromosoma I en la posición 29450001) fue amplificado (Tm=57°C) utilizando los cebadores 5'TCCTTTTCATCTTAATATGC3' (SEQ ID NO:26) y 5'TCTGTCCACGAATTATTTA3' (SEQ ID NO:27). El microsatélite Msat4.35 (Tm=58°C) (localizado en el cromosoma 4 en la posición 7549125) fue amplificado utilizando los cebadores 5'CCCATGTCTCCGATGA3' (SEQ ID NO:28) y 5'GGCGTTTAATTTGCATTCT3' (SEQ ID NO:29). El microsatélite NGA151 (Tm=58°C) (localizado en el cromosoma 5 en la posición 4669932), fue amplificado utilizando los cebadores 5'GTTTTGGGAAGTTTGTCTGG3' (SEQ ID NO:30) y 5'CAGTCTAAAAGCGAGAGATGATG3' (SEQ ID NO:31). Las 2 parejas de cebadores para los límites del ADN-T de *Atps1-1* y *Atps1-3* se utilizaron como un marcador centromérico del cromosoma 1. Los marcadores CAPS Seqf16k23 (posición física: 14481813) y CAPSK4 51 (posición física: 5078201), se utilizaron como marcadores centroméricos para el cromosoma 1 y 4, respectivamente.

El CAPS Seqf16k23 es amplificado (Tm=60°C) utilizando cebadores 5'GAGGATACCTCTTGCTGATTC3' (SEQ ID NO:32) y 5'CCTGGCCTTAGGAACCTTACTC3' (SEQ ID NO:33) y se observa tras la digestión con TaqI.

El CAPS CAPSK4 51 se amplifica ($T_m=60^{\circ}\text{C}$) utilizando los cebadores 5'CAATTTGTTACCAGTTTTGCAG3' (SEQ ID NO:34) y 5'TGAGTTTGGTTTTTTGTTATTAGC3' (SEQ ID NO:35) y se observa tras la digestión con MnlI.

Condiciones de la PCR: 40 ciclos de 20s a 94°C , 20s a T_m y 30s a 72°C .

RT-PCR

- 5 Se extrajo ARN total de *Arabidopsis* utilizando un kit QIAGEN RNA.

Se realizó transcripción inversa en 5µg de ARN total utilizando un oligo(dt) (ALTSCHUL et al., Nucleic Acids Res 25, 3389-402, 1997) como cebador. La enzima Transcriptasa inversa M-MuLV de RevertAid™ (FERMENTAS) se utilizó según las instrucciones del fabricante. Se realizó la RT-PCR en 1µg de ADNc utilizando los cebadores pAtpsF 5'GCCTTTTCAACCTCTACTTG3' (SEQ ID NO:36) y pAtpsR 5'ATGGTGATAGATGATGATGATAC3' (SEQ ID NO: 37) bajo las siguientes condiciones: 30 ciclos de 30s a 94°C , 30s a 56°C y 1min a 72°C .

Citología y Citometría de flujo

Se observaron productos finales meióticos tal como se describe en AZUMI et al., (Embo J, 21, 3081-95., 2002) y se visualizaron con un microscopio óptico con un objetivo seco de 40X. Las propagaciones cromosómicas y las observaciones se llevaron a cabo utilizando la técnica descrita en MERCIER et al., (Biochimie, 83, 1023-28, 2001). La fluorescencia del ADN del núcleo espermático del polen fue cuantificada utilizando el software open LAB 4.0.4. Para cada núcleo se calculó el efecto fondo circundante y se sustrajo de la fluorescencia global del núcleo. Los husos meióticos se observaron de acuerdo al protocolo descrito en MERCIER et al., (Genes Dev, 15, 1859-71, 2001), excepto porque el ADN fue contra coloreado con DAPI. Se realizaron las observaciones utilizando un microscopio confocal leica SP2, Las imágenes se adquirieron con un objetivo húmedo de 63X en reconstrucciones xyz y se realizaron reconstrucciones en 3D utilizando un software de leica. Se muestran las proyecciones. Se representaron imágenes de las células en excitación a 488 nm y 405 nm con AlexaFluor488 y DAPI respectivamente. Se midieron los tamaños del genoma de *Arabidopsis* tal como se describió en MARIE & BROWN, (Biol Cell, 78, 41-51, 1993) utilizando tomate *Lycopersicon esculentum* variedad "Montfavet" como estándar. ($2C=1.99$ pg, %GC=40.0%).

- 25 Ejemplo 1: Identificación del gen *AtPS1* de *Arabidopsis* y mutaciones de *atps1*

Como parte de un cribado para mutantes meióticos, se seleccionó el gen At1g34355 como un gen meiótico potencial según su perfil de expresión. Utilizando la herramienta Expression Angler (TOUFIGHI et al. Plant J 43, 153-63, 2005) con un conjunto de tejidos de AtGenExpress (SCHMID et al., Nat Genet 37, 501-6, 2005) se observó que este gen estaba co-regulado con genes que se conoce están implicados en la meiosis (*AtMER3*, *AtDMC1*, *SDS*, *AtMND1*, *AtHOP2*), con el nivel de expresión más elevado en brote apical y en nuevos brotes de flores.

Se amplificó el ADNc de *AtPS1* (EU839993) mediante RT-PCR en el ADNc del brote y la secuenciación confirmó que es idéntico al que se predecía en las bases de datos (NM_103158). El gen *AtPS1* contiene 7 exones y 6 intrones (Figura 1), y codifica una proteína de 1477 aminoácidos. Los análisis BlastP y Psi-Blast (ALTSCHUL et al., Nucleic Acids Res, 25, 3389-402, 1997) mostraron que la proteína AtPS1 se conserva por todo el reino vegetal y contiene dos regiones muy conservadas (Figura 2).

Se predijo un dominio FHA (dominio asociado a forkhead) en el N terminal mediante buscadores de secuencias codificantes (CDs) (MARCHLERBAUER & BRYANT, Nucleic Acids Res, 32, W327-31, 2004), mientras que la región conservada C terminal muestra similitud con un dominio PIN. Estos dominios están separados por una secuencia sesgada en su composición de longitud variable.

Un dominio FHA es un motivo de reconocimiento de fosfopéptidos implicados en las interacciones proteína-proteína, y se observa en diverso rango de proteínas implicadas en numerosos procesos que incluyen la transducción de señales intracelulares, control del ciclo celular, transcripción, reparación del ADN y degradación proteica (DUROCHER & JACKSON, FEBS Lett, 513, 58-66, 2002). Se predijo que el dominio PIN presenta propiedades de unión al ARN a menudo asociadas con la actividad de la ARNasa (CLISSOLD & PONTING, Curr Biol, 10, R888-90, 2000), y esta ha sido confirmada en la actualidad experimentalmente (GLAVAN et al., Embo J, 25, 5117-25, 2006). Por consiguiente, diversas proteínas que contienen el dominio PIN están implicadas en el ARNi, la maduración del ARN, o degradación del ARN. No se pudieron identificar proteínas no vegetales con similitud significativa con AtPS1 (aparte de los dominios FHA y PIN) o que pudieran contener tanto un dominio FHA como un dominio PIN.

Aunque habitualmente se encuentra un único AtPS1 representativo por especies, han tenido lugar eventos de duplicación de genes en linajes individuales tales como en *Glycine max*.

Se investigó el papel del gen *AtPS1* aislando y caracterizando una serie de mutantes alélicos, identificados en varias colecciones de líneas de inserción de ADN-T públicas collections (ALONSO et al., Science, 301, 653-7, 2003; SAMSON et al., Nucleic Acids Res, 30, 94-7, 2002; WOODY et al., J Plant Res, 120, 157-65, 2007). Las líneas de *Atps1-1* (SALK_078818) y *Atps1-2* (WiscDsLox342F09) fueron obtenidas del "European Arabidopsis stock centre" (SCHOLL et al., Plant Physiol, 124, 1477-80, 2000) y se encuentran en un fondo Columbia (Col-0). Las inserciones se encuentran en el cuarto exón y el primer intrón, respectivamente (Figura 1). La inserción de *Atps1* (FLAG-456A09) es de la colección de ADN-T de Versailles collection (SAMSON et al., Nucleic Acids Res, 30, 94-7, 2002) y se encuentra en un fondo Wassilewskija (Ws-4), está localizada en el segundo exón (Figura 1). La RT-PCR se realizó utilizando los cebadores pAtpsF/pAtpsR (Figura 1) en el ARN de los *Atps1-3* y *Atps1-1* mutantes y no se amplificaron niveles detectables de la transcripción de *AtPS1*, lo que indica que estos dos alelos son nulos. Cuando los mismos cebadores se utilizaron en el ARN del *Atps1-2* mutante se observaron niveles normales de expresión de esta región de transcripción de *AtPS1* (datos no mostrados). Sin embargo, el análisis del fenotipo descrito a continuación sugiere rotundamente que este tercer alelo es también nulo.

Ejemplo 2: la meiosis en mutantes *Atps1* genera diadas con elevada frecuencia

En la *A. Thaliana*, el producto de la meiosis masculina es un grupo de cuatro esporas, organizadas en un tetraedro, llamado tétrada. La observación de los productos meióticos masculinos en el tipo silvestre reveló casi exclusivamente tétradas (Figura 3). En ocasiones excepcionales, (13/304) se observaron también grupos de tres esporas y fueron el resultado con toda certeza de la superposición ocasional de esporas. En contraste, la observación de los productos meióticos de los tres mutantes independientes *Atps1* revelaron la presencia de diadas con elevada frecuencia, tríadas y otros productos meióticos impares (Figura 3A y 3B). Los *Atps1* y *Atps1-2* mutantes produjeron una mayoría de diadas (~65%). El fenotipo mutante *Atps1-3* se presentó como más débil y únicamente un 8% de sus productos meióticos fueron diadas. Los test de complementación realizados entre *Atps1* y *Atps1-2* y entre *Atps1-3* y *Atps1-1* mostró que estas mutaciones son alélicas (Figura 3B), y por tanto demostraron que la alteración del gen *Atps1* es responsable de las diadas observadas en esta serie de mutantes.

El *Atps1-3* mutante mostró un fenotipo más débil que los otros dos alelos, mientras que el análisis de expresión sugirió que este alelo también es nulo. Como este alelo estaba en un fondo genético diferente (Ws-4) al de los otros dos (Col-0), se sometió a prueba si esta diferencia podría estar influenciando la fuerza del fenotipo introduciendo la mutación Col-0 en el fondo Ws-4 y *viceversa*. Como era de esperar por efecto del fondo, la frecuencia de diadas aumentó con retrocruzamientos sucesivos cuando se introdujo *Atps1-3* en Col-0 (del 8% al 58% después de cuatro retrocruzamientos) y disminuyó cuando se introdujo *Atps1-1* en el fondo Ws-4 (del 64% al 13% después de cuatro retrocruzamientos). Estos resultados indican claramente que la formación de gametos diploides está influenciada por múltiples genes, con el *Atps1* actuando como un gen fundamental.

Ejemplo 3: los *Atps1* mutantes producen granos de polen diploides viables

La viabilidad del grano de polen fue examinada por tinción de Alexander (ALEXANDER, Stain Technol, 44, 117-22, 1969) y mostró que en la mayoría de casos las diadas y tríadas producidas por los mutantes dan como resultado granos de polen viable (más del 95% en los diferentes *Atps1* mutantes: Col: 0 granos de polen sin actividad de 181; *Atps1-1*: 44 granos de polen sin actividad de 948; *Atps1-2*: 3 granos de polen sin actividad de 363). Observamos sin embargo que los granos de polen en las plantas mutantes variaban en tamaño (datos no mostrados). Entonces se valoró el nivel de ploidía de granos de polen de *Atps1-1* y *Atps1-2* cuantificando el ADN del núcleo espermático. Ambos mutantes mostraron dos diferentes poblaciones de granos de polen, una correspondiente a granos de polen haploides viables (~40% se calculó por máxima similitud) y otro a granos de polen diploides viables (~60% calculado) (datos no mostrados). Estas proporciones son compatibles con la proporción de diadas, tríadas y tétradas observada en los mutantes. En resumen, los *Atps1-1* y *Atps1-2* mutantes producen una elevada frecuencia de granos de polen diploides viables.

Ejemplo 4: aparición de triploides espontáneos entre la progenie de *atps1* mutantes diploides

Debido a que los *Atps1* mutantes producen granos de polen viables, se buscó en la progenie de los mutantes homocigotos diploides la presencia de plantas poliploides mediante citometría de flujo. Se observaron plantas diploides y triploides (30%), pero no plantas tetraploides, entre las progenies de los *Atps1-1* y *Atps1-2* mutantes (*Atps1-1*: 38 diploides de 130 plantas; *Atps1-2*: 30 triploides de 103 plantas). Se confirmaron los resultados de la citometría de flujo realizando el cariotipo de un subconjunto de 29 plantas, en las cuales se confirmó que eran todas triploides. Esto demostró que los gametos diploides producidos en los *Atps1* mutantes están implicados en la fertilización y producen plantas triploides viables. La aparición de triploides, pero no de tetraploides, sugiere que las mutaciones de *Atps1* únicamente afectan a la meiosis masculina.

Para confirmar que los gametos diploides se producen únicamente en la parte masculina en los *Atps1* mutantes, se realizaron cruces recíprocos entre *Atps2* mutantes y plantas de tipo silvestre. Tal como se esperaba por la ausencia de defecto meiótico femenino, nunca se aislaron las plantas triploides cuando los óvulos mutantes se fertilizaron con

granos de polen de tipo silvestre (0 triploides de 182 plantas). Cuando el polen mutante se utilizó para el cruce, se observó nuevamente que el 30% de la progenie fueron triploides (20 triploides de 56 plantas).

La frecuencia observada de las plantas triploide (30%) entre la progenie de *Atps1-1* y *Atps1-2* mutante es inferior a lo esperado de la frecuencia de granos de polen diploide producidos por estos mutantes (~60%). En paralelo, más del 50% de estas semillas obtenidas por autofecundación de los *Atps1-1* y *Atps1-2* mutantes, o retrocruzamiento de los mismos como masculinos, se encontraban coloreados de manera anómala y se formaron y germinaron a una tasa de ~55%. Por tanto una explicación potencial para la discrepancia entre la frecuencia de granos de polen diploides y la frecuencia de triploides en la progenie, es un desarrollo anómalo de las semillas, que se observa habitualmente durante los cruces entre especies de plantas con diferentes niveles de ploidía. Estos problemas están relacionados con el ratio paternal: maternal, lo que es muy importante para el desarrollo habitual de la albúmina (SCOTT et al., Development, 125, 3329-41, 1998). El ratio habitual maternal: paternal de la albúmina es 2:1, pero en nuestro caso cuando un núcleo de esperma diploide fertilizó los dos núcleos polares se obtuvo un ratio aberrante de 2:2. Sin embargo, parece que aproximadamente el 25% de los embriones triploides fueron capaces de superar esta limitación.

Ejemplo 5: los *Atps1* mutantes se ven afectados en la orientación de los husos en la meiosis II

Para desentrañar los mecanismos responsables de la producción de díadas en *Atps1-1*, se investigó el comportamiento de los cromosomas en el *Atps1-1* mutante y en el tipo silvestre (Figura 4). Las propagaciones cromosómicas mostraron que la meiosis en el *Atps1-1* mutante progresa de manera habitual y no es distinguible del tipo silvestre hasta el final de la telofase I. La sinapsis se completó, el quiasma se formó (la manifestación citológica de los cruzamientos) y se observaron bivalentes (comparar la Figura 4G-I con la Figura 4 A-C, por ejemplo). En la metafase II, sin embargo, se observaron diferencias en comparación al tipo silvestre con los 10 cromosomas alineados en un mismo plano, generando figuras de aspecto anómalo, en lugar de dos placas de metafase II bien separadas que contengan cinco cromosomas cada una (comparar la Figura 4J-K con la Figura 4D). En casos excepcionales, la metafase II en *Atps1* resultó normal, sin embargo (Figura 4L). En la telofase II, se observaron díadas (dos grupos de 10 cromosomas, Figura 4M), tríadas (2 grupos de cinco cromosomas y un grupo de 10, Figura 4N) y tétradas normales (4 grupos de 5 cromosomas, Figura 4O). Estas observaciones son consistentes con las observaciones previas de que los productos meióticos de *Atps1* son una mezcla de díadas, tríadas y tétradas.

Estos resultados y de manera específica el alineamiento de 10 cromosomas en metafase II sugirieron que los husos meióticos en los *Atps1* mutantes son defectuosos en esta etapa. Por tanto se examinó la organización de husos mediante inmunolocalización con un anticuerpo alfa-tubulina (Figura 5). En plantas de tipo silvestre la mayoría de los husos en la metafase II fueron aproximadamente perpendiculares entre sí (Figura 5A), conduciendo a cuatro polos bien separados en la anafase II (Figura 5B) y a la formación de tétradas (Figura 5C). En el *Atps1* mutante, mientras los husos de la metafase II individual / anafase II se presentaron habituales en la mayoría de los casos, su orientación respectiva fue aberrante. La mayoría de las células presentaron husos paralelos (Figura 5D a 5G), husos fusionados (Figura 5H y 5I) o husos tripolares (Figura 5J y 5K). Este defecto en la orientación del huso explica la aparición de tríadas y díadas. Estas conformaciones causan cromátidas, que habían sido separadas en la meiosis I, para unirse en la anafase II. De manera ocasional, tres o cuatro conjuntos de cromosomas abarcados por un huso, se dispersaron en la célula en la metafase II (Figura 5L). Este tipo de defecto es probablemente la causa de productos meióticos observados en los *Atps1* mutantes.

El nombre *Atps1* para los husos paralelos de *Arabidopsis thaliana* 1 fue elegido debido al alto porcentaje de husos paralelos producidos por los mutantes correspondientes.

Ejemplo 6: la producción de díadas en *Atps1* mutante es el resultado de la formación de husos paralelos en la metafase II.

La aparición de husos paralelos en la metafase II en los *Atps1* mutantes parece conducir a la formación de díadas. Este mecanismo propuesto implica que la segregación de cromosomas no equilibrada en la meiosis I, no tendría impacto alguno en la distribución final de cromosomas en la díada resultante. Para probar esta hipótesis, se construyó un doble mutante *Atspo11-1/Atps1*.

El *Atspo11-1* mutante (N646172 (*Atspo11-1-3* : STACEY et al., Plant Journal, 48, 206-16, 2006) obtenido del "European Arabidopsis stock centre" (SCHOLL et al., Plant Physiol, 124, 1477-80, 2000), muestra una ausencia de bivalentes en la meiosis (MERCIER et al., Biochimie, 83, 1023-28, 2001) (Figura 6A), lo que conduce a frecuentes primeras divisiones no equilibradas (Figura 6B) que pueden estar asociadas a cromosomas retrasados (Figura 6C). En la metafase II, se observan placas no equilibradas (Figura 6D), lo que conduce a tétradas (Figura 6E). Los cromosomas retrasados en la anafase II, conducen a múltiples placas de metafase II y entonces a políadas con más de cuatro núcleos (Figura 6F).

En el fondo *Atspo11-1/Atps1* la primera división fue idéntica al fenotipo único *Atspo11-1*. Se observaron 10 univalentes en la metafase I (Figura 6G), lo que conduce a la segregación anómala en anafase I, con dos conjuntos de cromosomas no equilibrados (Figura 6H) o tres conjuntos debido a los cromosomas retrasados (Figura 6I). En la metafase II, observamos habitualmente dos placas de metafase no equilibradas, que presentaban la tendencia a estar paralelas en lugar de perpendiculares (Figura 6J). Este hecho condujo a la formación de díadas que siempre estaban equilibradas (Figura 6K a 6L, n=44). También se observó tríadas con un conjunto de 10 cromosomas causados por una primera división no equilibrada seguida por la fusión de dos de los cuatro productos de la segunda división (Figura 6N), lo cual es altamente consistente con el mecanismo propuesto. También se observaron tétradas no equilibradas (Figura 6P), esperadas ya que la mutación de *Atps1* no es completamente penetrante, y políadas debido a los cromosomas retrasados en la primera división (Figura 6R).

Otra predicción del mecanismo propuesto es que la distribución del centrómero debería parecerse a la observada durante la mitosis, por ejemplo cualquier heterocigosidad en los centrómeros debería mantenerse en los gametos diploides. De hecho, en el *Atps1*, la primera división es idéntica al tipo silvestre, con la co-segregación de cromátidas hermanas y la separación de cromátidas homólogas. Por tanto, en el caso de que el genotipo heterocigoto, A/a, en el centrómero, a continuación de la primera división de los dos alelos A terminará en un polo, y los dos alelos a en el polo opuesto. En el tipo silvestre, la segunda división separa las dos hermanas conduciendo a cuatro esporas con una cromátida. En el *Atps1*, la segunda división reagruparía los productos de la primera división, agrupando de ese modo el alelo a y el A en cada célula, lo que conduce a la heterocigosis sistemática en el centrómero. Debido a la recombinación, los locus no similares a los centrómeros deberían segregarse aleatoriamente. Se sometió a prueba esta predicción tomando ventaja de los dos fondos genéticos de los *Atps1-1* (Col-0) y *Atps1-3* mutantes (Ws-4). Las plantas F1 que portan las dos mutaciones- por tanto el mutante para *AtPS1* y el heterocigoto para cualquier polimorfismo Col-0/Ws-4 – fueron cruzadas como masculinas a un tercer fondo genético *landsberg erecta* (Ler). El cariotipado y genotipado de las plantas obtenidas para los marcadores moleculares trimórficos (ver métodos adicionales), proporcionó información directa en referencia a la constitución genética del grano de polen producido por el mutante (Figura 7). Todos los granos de polen diploides probados presentaron las características genéticas que se preveían. Fueron sistemáticamente heterocigotas en centrómeros y de segregación – debido a la recombinación – en otros locus. Estos resultados confirman que el defecto del “huso paralelo” es efectivamente la causa de al menos la gran mayoría de polen 2n en *Atps1*.

Conclusión:

Los resultados anteriores muestran que los mutantes en el gen *Atps1* producen granos de polen que son diploides hasta un 65% y dan lugar a numerosas plantas triploides en la siguiente generación. También se muestra que las mutaciones de *Atps1* solamente afectan a la meiosis masculina en la orientación anómala de husos en la meiosis II. Debido a que los efectos en los husos de la meiosis II son la principal fuente del polen 2n, el cual es ampliamente utilizado en muchos programas de mejora vegetal (por ejemplo en la patata, cfr. CARPUTO et al., Genetics, 163, 287-94, 2003), la identificación de un gen implicado en estos defectos tiene importantes aplicaciones en la mejora vegetal.

Ejemplo 7: extinción de *ATPS1* mediante fenocopias de ARNi de los *Atps1* mutantes.

Se realizó un constructo de ARN de interferencia (ARNi) tipo hairpin (horquilla) en base al fragmento 361-bp ADNc del gen *AtPS1*, representado como SEQ ID NO: 38.

El vector binario Prfb 18 se deriva del vector binario pfgc5941 (GenBank: AY310901.1) mediante adición de sitios de clonación GATEWAY® a ambos lados del intrón de chalcona sintasa bajo control del cebador 35S. El fragmento de ADNc SEQ ID NO: 38 y su complemento inverso se situaron en los sitios de clonación GATEWAY® del vector binario Prfb 18. El vector resultante comprende, aguas abajo del cebador 35S, el complemento inverso de SEQ ID NO: 38, seguido del intrón de chalcona sintasa, seguido del fragmento de ADNc SEQ ID NO: 38, y por la señal poli-A de la octopina sintasa. Este vector se utilizó para transformar las plantas de *Arabidopsis* Col-0 de tipo silvestre. Se observaron productos meióticos de 14 transformantes primarios. Los resultados se resumen en la tabla I a continuación.

Tabla I

Genotipo	% de díadas	% de tríadas	% de tétradas
Col-0	0	0	100
<i>atps1-1</i>	64	24	11
<i>atps1-2</i>	65	20	13
ARNi 35S <i>AtP51</i> #1	17	32	49

(continuación)

Genotipo	% de díadas	% de tríadas	% de tétradas
<i>ARNi 35S AtP51 #2</i>	4	8	84
<i>ARNi 35S AtP51 #3</i>	17	27	52
<i>ARNi 35S AtP51 #4</i>	20	16	60
<i>ARNi 35S AtP51 #5</i>	15	21	60
<i>ARNi 35S AtP51 #6</i>	62	16	20
<i>ARNi 35S AtP51 #7</i>	0	0	100
<i>ARNi 35S AtP51 #8</i>	0	0	100
<i>ARNi 35S AtP51 #9</i>	0	0	100
<i>ARNi 35S AtP51 #10</i>	0	0	100
<i>ARNi 35S AtP51 #11</i>	0	0	100
<i>ARNi 35S AtP51 #12</i>	0	0	100
<i>ARNi 35S AtP51 #13</i>	0	0	100
<i>ARNi 35S AtP51 #14</i>	0	0	100

5 Estos resultados muestran que mientras el tipo silvestre produce únicamente tétradas de esporas, las líneas *Atps1* mutante y *ARNi 35SAtps1* producen una elevada proporción de díadas.

Entre las líneas *ARNi 35SAtps1*, seis produjeron díadas y tríadas con una frecuencia elevada en lugar de tétradas, un fenotipo idéntico al *Atps1* mutante. La Figura 8 muestra ejemplos de productos meióticos de una planta de tipo silvestre, un *atps1-1* mutante y una planta de la línea *ARNi 35S AtP51 #6*.

10 El nivel de expresión de *Atps1* en las plantas Col-0 de tipo silvestre se comparó con el nivel de expresión en tres líneas de *ARNi 35SAtps1* (*ARNi 35SAtps1 #1*, *ARNi 35SAtps1 #2*, y *ARNi 35SAtps1 #6*), produciendo diferentes proporciones de díadas. Se llevó a cabo RT-PCR en brotes de flores con cebadores específicos de *ATPS1*:

5' CCATAGTGAGAGTTATGGAGC 3' (SEQ ID NO: 39), y

5' GGCGCCTTTTCAACCTCTACTTG 3' (SEQ ID NO: 40)

o como control, con cebadores específicos del gen ubicuo *APT*.

15 Los resultados se muestran en la Figura 9. Estos resultados muestran que la expresión de *AtPS1* se reduce en las tres líneas *ARNi 35SAtps1* en comparación con el tipo silvestre (col).

Además, existe una correlación entre la eficacia de la reducción de la expresión de *AtPS1*, y la proporción de las díadas (cfr. Tabla I) producida por las líneas *ARNi 35SAtps1*.

20 A continuación, se midió el nivel de ploidía de la progenie de las dos líneas *ARNi 35S AtPS1* mediante citometría de flujo (resultados no mostrados). Se observaron triploides entre la progenie de *ARNi 35S AtPS1 #1* y *ARNi 35S AtPS1 #6*. Esto demostró que, al igual que los *Atps1* mutantes, las líneas *ARNi 35S AtPS1* pueden producir gametos diploides masculinos funcionales.

Listado de secuencias

<110> INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE MERCIER, Raphael D'ERFURTH, Isabelle

<120> Plantas que producen polen 2n

<130> MJPhzF539/139-WO

5 <160> 40

<170> PatentIn version 3.3

<210> 1

<211> 1477

<212> PRT

10 <213> Arabidopsis thaliana

<400> 1

ES 2 441 369 T3

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

ES 2 441 369 T3

Gly Ser Phe Val Arg Ser Thr Gln Gln Ser Gly Gly Asp Val Glu Gly
 275 280 285
 Leu Gly Cys Ser Glu Leu Phe Asp Ala Ala Glu Ala Asp Glu Cys Asp
 290 295 300
 Val Arg Gly Asp Gly Gly Leu His Leu Asn Val Ile Ser Glu Lys Met
 305 310 315 320
 Glu Ser Ser Val Pro Asn Met Ile Glu Ala Glu Asn Leu Glu Val Ala
 325 330 335
 Gln His Gln Ser Leu Ala Asn Thr Ala Leu Gly Asp Asp Glu Asp Leu
 340 345 350
 His Leu Asp Val Thr Ser Glu Gly Thr Gly Ser Ser Val Pro Ser Glu
 355 360 365
 Asp Glu Asp Thr Tyr Ile Thr Thr Met Glu Ile Ser Val Pro Leu Ala
 370 375 380
 Ser Pro Asn Val Leu Thr Leu Ala Arg Asp Ser Ile Lys Thr Gln Lys
 385 390 395 400
 Leu Gln Ser Thr Gln Asp Phe Gln Thr Pro Thr Met Trp Asp Leu Asp
 405 410 415
 Val Val Glu Ala Ala Ala Glu Lys Pro Ser Ser Ser Cys Val Leu Gly
 420 425 430
 Lys Lys Leu Ser Gly Gly Tyr Val Glu Glu Leu Gly Cys Phe Glu Leu
 435 440 445
 Phe Val Ala Ala Glu Ala Asp Lys Cys Asp Val Arg Gly Asp Gly Ser
 450 455 460
 Leu His Leu Asn Glu Ile Ser Glu Arg Met Glu Ser Ser Met Ser Asn
 465 470 475 480
 Lys Glu Asp Asp Pro Phe Leu Ala Ala Lys Glu Thr Ser Ser Leu Pro
 485 490 495
 Leu Ser Thr Asp Phe Ile Asn Pro Glu Thr Leu Trp Leu Val Glu Asp
 500 505 510
 Val Gln Ala Ser Pro Glu Phe Cys Thr Ser Ser Val Lys Ala Asn Ala
 515 520 525
 Glu Asn Pro Ser Ser Gly Cys Ser Pro Ser Thr Glu Gln Ile Asp Gly
 530 535 540
 Cys Phe Glu Thr Ser Gly Cys Ser Ala Phe Asp Leu Ala Ala Glu Val
 545 550 555 560
 Glu Ser Leu Ser Leu His Gln Glu Val Ser Glu Glu Thr Glu Phe Val
 565 570 575
 Thr Lys Glu Val Met Gly Val Ser Ser Glu Pro Leu Gly Lys Ala Asp
 580 585 590
 Ile Arg Ser His Glu Glu Asn Gly Glu Ser Glu Asp Ser Arg Gln Val
 595 600 605

ES 2 441 369 T3

Ile Glu Val Ser Ala Glu Pro Val Ala Lys Ala Asp Ile Gln Ser His
 610 615 620
 Glu Glu Asn Gly Glu Thr Glu Gly Ser Arg Gln Val Ile Glu Val Ser
 625 630 635 640
 Pro Lys Ser Phe Ser Glu Ala Glu Pro Thr Ile Glu Ile Leu Thr Gly
 645 650 655
 Glu Ala Gln Gly Ile Ile Gly Ser Glu Phe Pro Ser Glu Leu Ala Val
 660 665 670
 Glu Thr Glu Ser Glu Asn Leu Leu His Gln Lys Ser Ile Gly Glu Thr
 675 680 685
 Lys Asn Glu Ile Arg Ser His Glu Asp Tyr Gly Glu Thr Glu Asp Tyr
 690 695 700
 Gly Glu Thr Glu Cys Ser Trp Pro Asp Ile Ala Val Ser Pro Ser Ser
 705 710 715 720
 Val Ser Pro Pro Glu Pro Thr Leu Glu Ile Leu Thr Asp Glu Ala Arg
 725 730 735
 Gly Leu Leu Gly Ser Glu Phe Leu Ser Glu Val Thr Val Glu Thr Glu
 740 745 750
 Ile Glu Asn Leu Leu His Gln Lys Ser Asn Val Glu Thr Lys Ala Asp
 755 760 765
 Ile Leu Ile His Glu Asp Tyr Gly Glu Thr Glu Val Ser Arg Gln Ile
 770 775 780
 Ile Thr Val Ser Pro Asn Ser Phe Ser Lys Ala Glu Pro Thr Leu Glu
 785 790 795 800
 Thr Glu Asp Ser Arg Gln Gln Ala Arg Gly Leu Val Gly Ser Asp Ser
 805 810 815
 Glu Phe Gln Ser Glu Val Ala Met Lys Thr Glu Cys Glu Asn Leu Leu
 820 825 830
 Asn Gln Lys Arg Asn Gly Glu Thr Lys Val Ser Ser Arg Gln Ala Ser
 835 840 845
 Pro Val Ser Asp Cys Leu Ser Thr Pro Lys Asp Arg Leu Ser Ser Ile
 850 855 860
 Asn Thr Asp Asp Ile Gln Ser Leu Cys Ser Ser Ser Gln Pro Pro Ser
 865 870 875 880
 Glu Ser Glu Val Asn Pro Ala Thr Asp Gln Asp Gln Glu Ser Gly Ile
 885 890 895
 Ile Ser Glu Thr Glu Lys Pro Lys Thr Glu Leu Leu Ile Gly Ser Gly
 900 905 910
 Arg Ser Glu Lys Tyr Tyr Ser Leu Ser Glu Ile Glu Gly Glu Glu Asn
 915 920 925
 Thr Asp Ile Gly Arg Leu Ser Arg Cys Pro Ile Pro Ser Ala Leu Ala
 930 935 940
 Ala Lys Thr Ser Glu Asp Thr Lys Leu Ile Glu Glu Leu Ser Ser Ser

ES 2 441 369 T3

945		950		955		960
Asp Ser Gly Ser Gln Glu Asn Gln Thr Pro Glu Thr His Ala Val Arg						
		965		970		975
Asp Asp Val Leu Cys Asp Met Asp Ser Ser Ser Thr Cys Asn Ile Trp						
		980		985		990
Ser Arg Arg Gly Lys Ala Ala Ser Val Leu Lys Ile Arg Thr Asn Lys						
		995		1000		1005
Ser Gln Gly Lys Gln Lys Gln Thr Gly Arg Gln Pro Lys Asp Lys						
1010				1015		1020
Leu His Arg Lys Gln Ala Leu Ser Asp Lys Ser Ile Ser Leu Thr						
1025				1030		1035
Ile His His Gly Ala Glu Ile Leu Glu Pro Glu Ile Phe Thr Pro						
1040				1045		1050
Asp Lys Glu Asn Leu Thr Pro Ser Ser His Met Leu Lys Arg Leu						
1055				1060		1065
Gln Asp Ile Gly Asp Val Lys Asp Ser Lys Ser Ser Leu Lys Leu						
1070				1075		1080
Ser Gly Lys Ser Cys Ser Ser Leu Val His Ser Ser Ile Ala Val						
1085				1090		1095
Leu Ala Ser Glu Ala Phe Thr Glu Pro Glu Ile Phe Thr Pro Asp						
1100				1105		1110
Lys Glu Asn Leu Thr Pro Ser Ser His Met Leu Lys Arg Leu Arg						
1115				1120		1125
Glu Phe Gly Asp Ile Lys Asp Thr Lys Gly Ser Ser Ser Lys Ala						
1130				1135		1140
Thr Arg Lys Pro Phe Phe Asp Ile Arg Met Glu Glu Asn Val Met						
1145				1150		1155
Val Glu Gln Glu Pro Glu Asp Leu His Ser Leu Gly Ser Lys Ser						
1160				1165		1170
Lys Leu Lys His Glu Pro Leu Ala Pro Lys Lys Lys Ala Glu Arg						
1175				1180		1185
Ala Pro Phe Gln Pro Leu Leu Glu Lys Ser Ser Phe Gln Ser Gln						
1190				1195		1200
Ser Tyr Thr Glu Ala Ser Ser Thr Ala Ser Ala Arg Asn Asn Ile						
1205				1210		1215
Ser Arg Gly Ile Arg Ser Ser Ser Asn Leu Ser Asp Ala Lys Ser						
1220				1225		1230
Lys Met Lys Trp Thr Ile Val Leu Asp Thr Ser Ser Leu Leu Asp						
1235				1240		1245
Lys Glu Ser Arg Lys Pro Leu Gln Leu Leu Gln Gly Leu Lys Gly						
1250				1255		1260
Thr His Leu Val Val Pro Arg Thr Val Leu Arg Glu Leu Asn Glu						
1265				1270		1275

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

<210> 2

<211> 1079

<212> PRT

5 <213> Populus trichocarpa

<400> 2

ES 2 441 369 T3

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

ES 2 441 369 T3

85										90										95																																			
Gln	Lys	Leu	Phe	Val	Thr	Asp	Leu	Ser	Ser	Val	His	Gly	Thr	Trp	Val																																								
			100					105					110																																										
Ser	Gly	Lys	Lys	Ile	Glu	Pro	Gly	Phe	Arg	Val	Glu	Leu	Asn	Glu	Gly																																								
		115					120					125																																											
Asp	Thr	Ile	Arg	Val	Gly	Gly	Ser	Thr	Arg	Tyr	Tyr	Arg	Leu	His	Trp																																								
		130				135					140																																												
Val	Pro	Leu	Ser	Arg	Ala	Tyr	Asp	Met	Glu	Thr	Pro	Phe	Ile	Ser	Pro																																								
		145			150				155						160																																								
Leu	Asp	Met	Ala	Met	Ile	Glu	Glu	Lys	Arg	Glu	Glu	Asn	Pro	Val	Leu																																								
			165				170							175																																									
Glu	Glu	Glu	Asn	Glu	Ala	Lys	Met	Ser	Gln	Asp	Glu	Asn	Leu	Val	Ala																																								
		180					185						190																																										
Thr	Glu	Arg	Glu	Ser	Val	Glu	Glu	Lys	Gly	Ser	Leu	Glu	Val	Ala	Gly																																								
		195				200						205																																											
Lys	Asp	Asp	Glu	Arg	Tyr	Gln	Ala	Met	Asp	Ser	Thr	Ser	Val	Glu	Asn																																								
		210				215					220																																												
Arg	Glu	Thr	Lys	Ser	Leu	Asp	Leu	Ile	Leu	Gln	Asp	Val	Gly	Ser	Leu																																								
		225			230				235					240																																									
Tyr	Cys	Glu	Glu	Ile	Cys	Glu	Ser	Ile	Ala	Lys	Lys	Glu	Ile	Leu	Ser																																								
			245				250						255																																										
Ala	Ala	Leu	Val	Pro	Asp	Glu	Ser	Met	Asp	Ser	Leu	Phe	Tyr	Asp	Ala																																								
		260				265						270																																											
Asn	Glu	Asp	Ile	Glu	Ile	Ser	Phe	Arg	Asn	Asp	His	Asn	Val	Lys	Asp																																								
		275				280					285																																												
Ile	Leu	Ser	Pro	Thr	Thr	Val	Gln	Gly	Val	Ile	Ser	Glu	Thr	Lys	Cys																																								
		290				295					300																																												
Arg	Gln	Tyr	Asp	Gly	His	Asn	Gln	Ser	Pro	Glu	Tyr	Phe	Ser	Val	Arg																																								
		305			310				315					320																																									
Gln	Glu	Leu	Pro	Glu	Thr	Glu	Thr	Lys	Gly	Ser	Ser	Met	Ile	Arg	Glu																																								
		325				330						335																																											
Ser	Asn	Ala	Val	Phe	Ser	Ser	Leu	Ser	Thr	Ala	Glu	Val	Glu	Ser	Gln																																								
		340				345						350																																											
Ser	Ala	Ser	Glu	Met	Leu	Gly	Ala	Thr	Glu	Asn	Gly	Ser	Leu	Leu	Arg																																								
		355				360					365																																												
Lys	Gly	His	Glu	Pro	Ile	Asn	Ile	Phe	Ser	His	Gly	Ile	Glu	Met	Val																																								
		370				375					380																																												
Asn	Leu	Ser	Leu	Pro	Val	Lys	Asp	Leu	Ser	Glu	Asn	Asp	Ser	Lys	Lys																																								
		385			390				395					400																																									
Val	Arg	Lys	Glu	Asn	Gln	Thr	Leu	Glu	His	Leu	Val	Ala	Leu	Glu	Pro																																								
			405			410						415																																											
Thr	Tyr	Lys	Glu	Gly	Asn	Gln	Gly	Asn	Phe	Thr	Ala	Asn	Leu	Leu	Val																																								
		420				425						430																																											

ES 2 441 369 T3

Asn	Leu	Asn	Ser	Ala	Cys	Ser	Asp	Asp	Gln	Ala	Val	Ser	Leu	Lys	Ser	435	440	445
Thr	Tyr	Glu	Glu	Gly	Asn	Gln	Glu	Lys	Phe	Thr	Ala	Asn	Leu	Leu	Glu	450	455	460
Asn	Leu	Asn	Ser	Ala	Cys	Ser	Gly	Asp	His	Ala	Val	Ala	Leu	Asp	Pro	465	470	475
Thr	Tyr	Glu	Glu	Gly	Thr	Arg	Glu	His	Phe	Thr	Ala	Asn	Leu	Leu	Glu	485	490	495
Asn	Leu	Asn	Thr	Ser	Ser	Cys	Ser	Asp	Asp	His	Ala	Val	Ala	Leu	Asp	500	505	510
Pro	Thr	Tyr	Glu	Glu	Gly	Thr	Gln	Glu	Asn	Phe	Thr	Thr	Asn	Leu	Leu	515	520	525
Glu	Asn	Leu	Asn	Ser	Ser	Cys	Ser	Asp	Asp	His	Ala	Ala	Asp	Asp	Met	530	535	540
Leu	Glu	Val	Glu	Asn	Gln	Asn	Leu	Ser	Arg	Asp	Asp	His	Gly	Gln	Ser	545	550	555
Val	Tyr	Thr	Ser	Ile	Cys	Ser	Ala	Leu	Leu	Ala	Ala	Glu	Ser	Val	Ser	565	570	575
Ser	Ser	Phe	Pro	Val	Gly	Leu	Leu	Ser	Glu	Ile	Ile	Asp	Ser	Lys	Lys	580	585	590
Cys	Gln	Thr	Pro	Glu	Ser	Val	Leu	Ala	Ser	Ile	Glu	Asn	Gln	Glu	Asn	595	600	605
Leu	Gln	Ser	Ser	His	Val	Arg	Ser	Glu	Lys	Lys	Gln	Ser	Ser	Arg	Asn	610	615	620
Ile	Trp	Ser	Arg	Arg	Gly	Lys	Pro	Lys	Ala	Val	Leu	Gln	Leu	Gln	Thr	625	630	635
Ser	Arg	Ser	Arg	Glu	Lys	Asn	Arg	Gly	Asp	Asp	Val	Glu	Trp	Glu	Asn	645	650	655
Gln	Glu	Asn	Ile	Glu	Asn	Arg	Ser	Ile	Ser	Lys	Thr	Ile	Phe	Pro	Gly	660	665	670
Ser	Glu	Ala	Ala	Glu	Glu	Val	Leu	Thr	Pro	Gly	Lys	Glu	Asn	Tyr	Ser	675	680	685
Pro	Asn	Thr	Leu	Leu	Leu	Lys	Ser	Leu	Lys	Lys	Lys	Gly	Lys	Arg	Glu	690	695	700
Glu	Thr	Gln	Leu	Ser	Asn	Ser	Arg	Arg	Ser	Thr	Ser	Ser	Lys	Ile	Ala	705	710	715
Phe	Ser	Pro	Tyr	Lys	Gln	Pro	Glu	Glu	Glu	Met	Ile	Ala	Ser	Pro	Asp	725	730	735
Lys	Glu	Asn	Gln	Thr	Pro	Lys	Val	Leu	Gln	Gln	Thr	Lys	Leu	Ala	Ile	740	745	750
Pro	Ala	Ser	Arg	Asn	Gln	Val	Lys	Phe	Lys	Gln	Glu	Met	Val	Leu	Glu	755	760	765

ES 2 441 369 T3

Glu Cys Lys Ala Glu Arg Val Pro Leu Gln Ser Leu Leu Val Asn Phe
 770 775 780
 Ser Gly Asn Ser Asn Ser Glu Ala Ser Val Pro Asn Asp Ala Thr Arg
 785 790 795 800
 Ser Ser Ile Ser Val Asn Cys Ser Gln Ile Met Arg Lys Ser Asn Phe
 805 810 815
 Thr Gly Asp Gly Lys Arg Arg Trp Thr Met Val Ala Asp Thr Ala Ser
 820 825 830
 Leu Val Asp Lys Glu Ser Arg Lys Ser Leu Gln Leu Leu Gln Gly Leu
 835 840 845
 Lys Gly Thr His Leu Val Ile Pro Lys Met Val Ile Arg Glu Leu Asp
 850 855 860
 Cys Leu Lys Arg Arg Ser Ser Leu Phe Arg Lys Lys Thr Glu Ala Ser
 865 870 875 880
 Leu Val Leu Glu Trp Ile Glu Glu Cys Met Val Arg Thr Pro Trp Trp
 885 890 895
 Ile His Val Gln Ser Ser Met Glu Glu Gly Arg His Ile Ala Pro Thr
 900 905 910
 Pro Pro Ala Ser Pro Gln Ser Arg Phe Ser Gln Gly Ser Glu Gly Phe
 915 920 925
 Pro Cys Gly Thr Gly Ser Ser Val Pro Phe Pro Ala His Gly Ser Phe
 930 935 940
 Leu Glu Ile Val Ser Pro Thr Ala Glu Asp His Ile Leu Glu Tyr Ala
 945 950 955 960
 Leu Ser Tyr Arg Lys Met Asn Arg Asp Gly Gln Leu Ile Leu Leu Thr
 965 970 975
 Asn Asp Val Thr Leu Lys Ile Lys Ala Met Ser Glu Gly Leu Ile Cys
 980 985 990
 Glu Thr Ala Lys Glu Cys Arg Asp Ser Leu Val Asn Pro Phe Ser Glu
 995 1000 1005
 Arg Phe Leu Trp Ala Asp Ser Ser Pro Arg Gly Gln Thr Trp Ser
 1010 1015 1020
 Val Ser Asp Asp Leu Val Leu Lys Glu Arg Tyr Tyr Gln Ser Pro
 1025 1030 1035
 Ser Lys Lys Ser Ser Lys Gly Glu Gly Ala Lys Gly Leu Lys Leu
 1040 1045 1050
 Ile Leu Leu His Asn Ser Gln Tyr Gly Gln Ile Ser Arg Ser Glu
 1055 1060 1065
 Gln Cys Ser Leu Phe Arg Asn Arg Tyr Leu Phe
 1070 1075

ES 2 441 369 T3

<210> 3

<211> 1112

<212> PRT

<213> Oryza sativa

5 <400> 3

ES 2 441 369 T3

Met	Ala	Ser	Ala	Ala	Ala	Glu	Gly	Glu	Glu	Ala	Pro	Ile	Ala	Ala	Phe	1	5	10	15
Ala	Val	Ser	Lys	Gly	Gly	Val	Val	Leu	Lys	Asn	Ile	Phe	Leu	Asn	Ala	20	25	30	
Pro	Pro	Ser	Pro	Leu	Pro	Val	Glu	Glu	Ala	Ala	Arg	Gly	Arg	Gly	Gly	35	40	45	
Glu	Glu	Glu	Asp	Pro	Pro	Val	Met	Phe	Gly	Arg	His	Pro	Glu	Cys	His	50	55	60	
Val	Leu	Val	Asp	His	Pro	Ser	Val	Ser	Arg	Phe	His	Leu	Glu	Val	Arg	65	70	75	80
Ser	Arg	Arg	Arg	Gln	Arg	Arg	Ile	Thr	Val	Thr	Asp	Leu	Ser	Ser	Val	85	90	95	
His	Gly	Thr	Trp	Ile	Ser	Gly	Arg	Arg	Ile	Pro	Pro	Asn	Thr	Pro	Val	100	105	110	
Glu	Leu	Thr	Ala	Gly	Asp	Val	Leu	Arg	Leu	Gly	Ser	Ser	Arg	Arg	Glu	115	120	125	
Tyr	Arg	Leu	His	Trp	Leu	Ser	Leu	Pro	Glu	Ala	Phe	Asp	Met	Glu	Asp	130	135	140	
Leu	Leu	Pro	Pro	Leu	Leu	Glu	Glu	Asp	Lys	Glu	Glu	Leu	Ser	Thr	Cys	145	150	155	160
Gln	Glu	Ala	Ser	Lys	Gln	Leu	Glu	Pro	Asp	Gln	Lys	Glu	Ser	Ala	Asp	165	170	175	
Thr	Glu	Thr	His	Gln	Glu	Thr	Ser	Gln	Gln	Val	Val	Ser	Glu	Gln	Ile	180	185	190	
Asp	Phe	His	Ala	Asn	Val	Ile	Pro	Ser	Ala	Pro	Pro	Ile	Pro	Glu	Phe	195	200	205	
Ala	Asp	Leu	Phe	Ala	Leu	Glu	Glu	Ser	Ser	Val	Pro	Glu	Phe	Asp	Asp	210	215	220	
Ser	Arg	Glu	Gly	Arg	Ile	Glu	Gly	Asn	Leu	Ile	Glu	Glu	Asn	His	Val	225	230	235	240
Ile	Tyr	Ser	Val	Glu	Ser	Ser	Ile	Thr	Gln	Pro	Met	Leu	Ala	Thr	Val	245	250	255	
Glu	Asp	Ala	Gly	Arg	Ser	Val	Lys	Ser	Gly	Glu	Lys	Asp	Thr	Ser	Asn	260	265	270	
Ala	Arg	Arg	Ser	Lys	Leu	Lys	Ser	Val	Lys	Thr	Leu	Arg	Ile	Glu	Thr	275	280	285	
Gly	Arg	Ser	Lys	Glu	Arg	Ile	Thr	Pro	Leu	Ser	Tyr	Ser	Tyr	Gln	Lys	290	295	300	
Glu	Glu	Asn	Gln	Asn	Glu	Asn	Pro	Ile	Cys	Ser	Gln	Asn	Cys	Gly	Ile	305	310	315	320
Glu	Cys	Glu	Ala	Cys	Met	Val	Leu	Phe	Asn	Asn	Ser	Tyr	Val	Gly	Glu	325	330	335	

ES 2 441 369 T3

Ala Glu Glu Lys Glu Lys Met Asn Ile Leu Asp Arg Ile Met Met Glu
 340 345 350
 Glu Asn Gln Glu Gln Thr Asn His Leu Gln Ser Lys Glu Phe Val His
 355 360 365
 Tyr Val Ala Pro Leu Asn Leu Asp Tyr Glu Thr Phe Ser Asp Asn Glu
 370 375 380
 Asn Cys Val Leu Ser Val Ala Lys Glu Thr Glu His Asn Asp Phe Asn
 385 390 395 400
 Ser Val Asn Cys Ile Ser Gln Asp Ser Val Cys Glu Asn Pro Gln Lys
 405 410 415
 Ile Ser Glu Leu Leu His Phe Val Ser Pro Leu Val Phe Lys Gly Asp
 420 425 430
 Asp Phe Thr Asp Ser Lys Ile Leu Gln Leu Cys Ala Ser Val His Lys
 435 440 445
 Glu Leu Ser Gly Pro Ile Leu Glu Asn Pro Phe Met Gln Asp Ile Ser
 450 455 460
 Asp Glu Asn Thr Asn Ser Asn Lys Asp Thr Gly His Glu Gly Leu Thr
 465 470 475 480
 Leu Leu Asn Leu Asp Ala Thr Leu Thr Ser Asn Glu Asn Phe Ala Gln
 485 490 495
 Ser Lys Ile Phe Val Ala Pro Glu Asp Ser Glu Ser Glu Gly Thr Ile
 500 505 510
 Ser Glu Asn Leu Phe Glu Ile Ser Asn Met Lys Gly Asn Glu Glu Asn
 515 520 525
 Glu Glu Asn Ser Pro Trp Asp Lys Glu Asn Ile Thr Pro Phe Val Ser
 530 535 540
 Gly Asp Ile Ile Val Glu Arg Ser Gln Leu Arg Leu Lys Pro Thr Thr
 545 550 555 560
 Ile Ser Gln Glu Leu Met Asp Ser Ile Ser Pro Leu Asn Leu Glu His
 565 570 575
 Asn Asp Phe Ser Asp Asp Glu Ser Ser Ile Leu Ser Ile Gly Glu Gln
 580 585 590
 Met Asn Ser Asn Glu Leu Ile Ala Lys Asn Leu Ile Pro Leu Thr Ser
 595 600 605
 Val Asp Ala Asn Met Gln Lys Ser His Ala Gly Phe Met Thr Ile Ala
 610 615 620
 His Leu Asp Phe Lys Asp Ser Ile Leu Thr Asp Glu Glu Thr Ser Val
 625 630 635 640
 Leu Ser Pro Glu Lys Tyr Asp Thr Ile Ser Pro Val Arg Gln Gly Asn
 645 650 655
 Leu Phe Pro Asp Lys Glu Asn Val Thr Pro Ala Ser Arg Asp Leu Lys
 660 665 670
 Pro Ile Ile Gly Arg Lys Val Leu Gly Pro Arg Val Asp Asn Ser Leu

ES 2 441 369 T3

675	680	685
Ser Val Glu Cys Thr Ser Lys Arg Arg Ile His Arg Gln Glu Pro Asn 690 695 700		
Glu Leu Ser Ala Lys Ser Lys Val Cys His Ala Val Asp Asp Asp Val 705 710 715 720		
Phe Tyr Ser Asp Lys Glu Asn Leu Thr Pro Ile Ser Ser Gly Gly Ile 725 730 735		
Lys Ala Arg Arg Cys Leu Pro Lys Ser Leu Thr Val Asp Ala Asp Gln 740 745 750		
Asp Gln Glu Ala Phe Tyr Ser Asp Lys Glu Asn Leu Thr Pro Val Ser 755 760 765		
Ser Ala Ser Arg Lys Thr Lys Asp Leu Ser Glu Asn Arg Ala Arg Met 770 775 780		
Glu Ser Thr Ile Thr Lys Lys Arg Val Val Asp Arg Leu Pro Phe Gln 785 790 795 800		
Thr Leu Leu Ser Asn Ser Pro Leu Arg His Thr Ser Ser Leu Asp Ser 805 810 815		
Thr Gln Val Asn Pro Arg Ala Val Asp Val Ala Met Lys Leu Glu Gly 820 825 830		
Glu Leu Asn Asn Val Pro His Lys Gly Gln Glu Ser Glu Lys Thr Lys 835 840 845		
Glu Gly Met Lys Val Trp Thr Met Val Thr Asp Met Glu Cys Leu Leu 850 855 860		
Asp Asp Glu Ser Arg Lys Ser Ile Met Leu Leu Arg Gly Leu Lys Gly 865 870 875 880		
Thr Gln Leu Val Ile Pro Met Ile Val Ile Arg Glu Leu Glu Cys Leu 885 890 895		
Lys Lys Arg Glu Arg Leu Phe Arg Met Leu Ser Lys Ala Thr Ser Met 900 905 910		
Leu Gln Trp Ile Asn Glu Cys Met Glu Lys Glu Ser Trp Trp Ile His 915 920 925		
Val Gln Ser Ser Thr Glu Met Leu Pro Val Ala Pro Thr Pro Pro Ala 930 935 940		
Thr Pro Thr Ala Leu Cys Asn Asn Gly Glu Arg Glu Ile Ser Ala Gly 945 950 955 960		
Thr Phe Asn Pro Ile Ala Leu Phe Ser Pro Arg Ser Phe Ser Asp Ile 965 970 975		
Val Ser Pro Lys Thr Glu Asp Arg Val Leu Asp Cys Ala Leu Leu Phe 980 985 990		
Asn Lys Leu Lys Gly Asn Gln Asn Ile Val Ile Leu Ser Asn Ser Val 995 1000 1005		
Thr Leu Lys Ile Lys Ala Met Ala Glu Gly Phe Pro Cys Glu Gly 1010 1015 1020		

ES 2 441 369 T3

Ala	Lys	Glu	Phe	Arg	Glu	Thr	Leu	Val	Asn	Pro	Cys	Ser	Ser	Arg
1025						1030					1035			
Phe	Met	Trp	Ala	Ala	Ser	Ala	Pro	Arg	Gly	Ser	Ala	Trp	Ser	Cys
1040						1045					1050			
Leu	Asp	Glu	Thr	Thr	Leu	Glu	Glu	Asn	Tyr	Tyr	Asn	Ser	His	His
1055						1060					1065			
Gly	Ala	Arg	Arg	Arg	Ile	Pro	Arg	Pro	Met	Glu	Pro	Ala	Lys	Gly
1070						1075					1080			
Leu	Lys	Leu	Ile	Leu	Leu	His	Asn	Ser	His	Tyr	Gly	Gln	Ala	Thr
1085						1090					1095			
Asn	Phe	Val	Glu	Asn	Arg	Pro	Leu	Ala	Pro	Met	Ala	Ser	Trp	
1100						1105					1110			

<210> 4

<211> 869

5 <212> PRT

<213> Vitis vinifera

<400> 4

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

ES 2 441 369 T3

210	215	220
Glu Ala Phe Glu Glu Ile	Glu Asn Gln Ser Pro	Ser Arg Arg Asp Tyr
225	230	235 240
Glu Gln Thr Glu Ile Leu	Gly Ala Val Asn Leu	Leu Pro Ser Ala Glu
	245	250 255
Val Leu Leu Glu Thr Arg	Asn Glu Gln Leu Asp	Glu Glu Ile Lys Ser
	260	265 270
Pro Gln Pro Leu Phe Val	Ser Glu Val Phe Ser	Gln Gly Glu Thr Pro
	275	280 285
Val Gly Leu Pro Thr Lys	Ser Trp Gln Lys Ser	Lys Leu Leu Gly Ser
	290	295 300
Leu Asp Ser Tyr Val Ala	Asp Asp Lys Ile Glu	Ile Pro Leu Val Ala
305	310	315 320
Glu Val Leu Glu Glu Val	Glu Asn Gln Ser Pro	Pro Arg Lys Gly Tyr
	325	330 335
Glu Gln Arg Glu Ala Ser	Gly Leu His Ser Gly	Ala Ile Thr Thr Glu
	340	345 350
Ser Val Asn Ser Ser Val	Pro Asp Arg Asn Ile	Leu Ser Asp Ile Gly
	355	360 365
Asn Gln Gln Phe Ser Asn	Glu Asn Gln Pro Pro	Lys Pro Leu Pro Val
	370	375 380
Thr Leu Gly Leu Ser Asp	Asp Glu Asn Pro Glu	Ser Pro Pro Val Arg
385	390	395 400
Leu Glu Gln Lys Ser Ser	Leu Pro Asn Ile Trp	Ser Arg Arg Gly Lys
	405	410 415
Pro Ala Ser Val Leu Gln	Ile Gln Thr Gly Arg	Ser Thr Arg Lys Cys
	420	425 430
Ile Gly Asp Gly Asn Gly	Ala Lys Ile Arg Lys	Pro Lys Gln Glu Asp
	435	440 445
Leu Glu Asn Lys Pro Ile	Ser Arg Ala Leu Phe	Pro Met Leu Asp Gly
	450	455 460
Glu Glu Thr Glu Ile Phe	Thr Pro Asn Lys Glu	Asn Phe Ser Pro Asn
465	470	475 480
Thr Leu Leu Leu Lys Ser	Val Asn Lys Lys Lys	Gly Ile Leu Glu Glu
	485	490 495
Thr Lys Gln Ser Thr Leu	Cys Arg Ser Ser Ser	Lys Phe Ser Thr
	500	505 510
Gly Pro Asn Lys Cys Ser	Glu Glu Asp Thr Ser	Thr Phe Ser Asp Lys
	515	520 525
Glu Asn Gln Thr Pro Gln	Val Leu Gln Thr Arg	Lys Ser Val Arg Pro
	530	535 540
Ser Pro Glu Asn Ser Ser	Arg Asn Arg Gly Lys	Leu Glu Lys Glu Ile
545	550	555 560

ES 2 441 369 T3

Met Val Met Lys Arg Gly Ala Glu Arg Val Pro Phe His Ser Leu Leu
 565 570 575
 Glu Asn Ala Ala Cys Lys Ser Lys Ser Glu Val Ser Ile Leu Gly Ala
 580 585 590
 Lys Thr Arg Ser Ser Asn Ser Val Asn Cys Thr Gly Thr Thr Gly Asn
 595 600 605
 Ala Thr Asn Ser Ser Phe Asn Asn Ser Ala Gly Glu Gly Lys Arg Arg
 610 615 620
 Trp Asn Met Val Val Asp Ala Thr Cys Leu Leu Asn Lys Glu Ser Arg
 625 630 635 640
 Lys Ser Leu Gln Leu Leu Gln Gly Leu Lys Gly Thr Gln Leu Ile Ile
 645 650 655
 Pro Arg Met Val Ile Arg Glu Leu Asp Cys Leu Lys Arg Arg Gly Ser
 660 665 670
 Leu Phe Arg Arg Ile Ser Glu Val Ser Leu Val Leu Gln Trp Ile Glu
 675 680 685
 Glu Cys Met Val Lys Thr Lys Trp Trp Ile His Val Gln Ser Ser Ile
 690 695 700
 Glu Glu Gly Arg Pro Ile Ala Pro Thr Pro Pro Ala Ser Pro Pro Arg
 705 710 715 720
 Phe Ser Glu Gly Ser Gly Gly Phe Ile Ser Gly Thr Thr Ser Ser Val
 725 730 735
 Pro Phe Ser Ala Cys Gly Ser Leu Met Glu Ile Val Ser Pro Thr Ala
 740 745 750
 Glu Asp His Ile Leu Glu Cys Ala Leu Phe Phe Arg Arg Ile Lys Asn
 755 760 765
 Asp Gly Gln Leu Val Leu Phe Thr Asn Asp Val Thr Leu Lys Ile Lys
 770 775 780
 Ala Met Ala Glu Gly Leu Asn Cys Glu Thr Val Glu Glu Phe Arg Glu
 785 790 795 800
 Ser Leu Val Asn Pro Phe Ser Glu Arg Phe Met Trp Ser Asp Ser Ser
 805 810 815
 Pro Arg Gly Gln Thr Trp Ser Tyr Leu Asp Asp Val Val Leu Arg Glu
 820 825 830
 Lys Tyr Tyr Arg Cys Pro Leu Lys Lys Ala Ser Lys Gly Gly Glu Ser
 835 840 845
 Ala Lys Gly Leu Lys Leu Ile Leu Leu His Asn Ser His Tyr Gly Lys
 850 855 860
 Ile Gly Ser Ile Ser
 865

<210> 5

<211> 1123

<212> PRT

<213> Glycine max

5 <220>

<221> misc_feature

<222> (700)..(700)

<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido natural

<400> 5

10

ES 2 441 369 T3

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

ES 2 441 369 T3

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

ES 2 441 369 T3

645										650					655				
Phe	Gln	Val	Val	Asn	Ile	Val	Glu	Glu	Val	Ala	Met	Asp	Ser	Ile	Ser				
			660					665					670						
Asp	Gly	Asn	Lys	Cys	Ile	Lys	Asn	Ile	Asp	Pro	Ala	Ser	Phe	Asp	Gly				
		675					680					685							
Lys	Gly	Leu	Ala	Ala	Val	Thr	Val	Ile	Pro	Ser	Xaa	Asp	Lys	Cys	Gly				
	690					695					700								
Lys	Glu	Leu	Glu	Ser	Lys	Leu	Pro	Ala	Ser	Leu	Asn	Ala	Lys	Ser	Cys				
705					710					715					720				
His	Glu	Gln	Gly	Lys	Ser	Val	Ala	Glu	Ile	Ala	Glu	Asp	Thr	Gly	Lys				
			725					730						735					
Lys	Cys	Ala	Ser	Ser	Ile	Ser	Ser	Thr	Ser	Phe	Gln	Val	Glu	Ser	Pro				
			740					745					750						
Asn	Ser	Ser	Met	Pro	Arg	Glu	Gln	Thr	Pro	Gln	Ser	Leu	Thr	Ala	Val				
		755				760						765							
Thr	Arg	Cys	Ser	Gly	Gly	Glu	Phe	Leu	Glu	Asn	His	Val	Lys	Pro	Thr				
	770				775						780								
Glu	Lys	Ser	Ser	Ala	Phe	Gly	Ser	Ile	Trp	Ser	Arg	Cys	Lys	Pro	Ala				
785				790					795					800					
Ser	Ala	Pro	Leu	Val	Gln	Ala	Arg	Lys	Ser	Arg	Phe	Met	Ser	Thr	Ala				
			805					810					815						
Lys	Val	Gly	Thr	Glu	Val	Lys	Arg	Ser	Asn	Glu	Lys	Asn	Val	Val	Ile				
		820						825					830						
Asn	Lys	Leu	Met	Pro	Lys	Asp	Leu	Ser	Ala	Val	Phe	Asp	Glu	Glu	Lys				
		835					840					845							
Glu	Ala	Phe	Ile	Leu	Asn	Lys	Glu	Asn	Leu	Ser	Pro	Asn	Thr	Tyr	His				
	850				855						860								
Leu	Gln	Phe	Met	Arg	Lys	Lys	Asp	Lys	Pro	Glu	Glu	Ile	Lys	His	Ser				
865				870					875					880					
Ile	Ser	Gln	Arg	Ser	Pro	Asn	Leu	Ser	Tyr	Phe	Ser	Pro	Arg	Ile	Tyr				
			885					890						895					
Leu	Asp	Lys	Arg	Ile	Ser	Ser	Lys	Arg	Ser	Trp	Asp	Met	Val	Val	Asp				
		900						905					910						
Thr	Ala	Ser	Leu	Leu	Asn	Lys	Glu	Ser	Arg	Lys	Ala	Leu	Gln	Leu	Leu				
		915					920					925							
Gln	Gly	Leu	Lys	Gly	Thr	Arg	Leu	Ile	Ile	Pro	Ser	Leu	Val	Ile	Arg				
	930				935						940								
Glu	Leu	Gly	Ser	Met	Lys	Gln	Lys	Phe	Arg	Ile	Phe	Arg	Thr	Thr	Ser				
945				950					955					960					
Glu	Ala	Ser	Leu	Ala	Leu	Glu	Trp	Ile	Glu	Glu	Cys	Leu	Glu	Lys	Thr				
			965					970					975						
Arg	Trp	Trp	Ile	His	Ile	Gln	Ser	Ser	Met	Glu	Glu	Phe	Arg	Leu	Thr				
		980					985						990						

Ala	Leu	Thr	His	His	Ala	Ser	Pro	Gln	Thr	Arg	Phe	Ile	Glu	Glu	Ser
	995						1000					1005			
Trp	Ala	Phe	Pro	Gly	Leu	Asn	Thr	Leu	Lys	Lys	Cys	Ala	Ser	Pro	
	1010					1015					1020				
Lys	Val	Glu	Asp	His	Ile	Leu	Asp	Ser	Ala	Leu	Gln	Tyr	Gly	Arg	
	1025					1030					1035				
Lys	Glu	Asn	Val	Gly	Gln	Leu	Val	Leu	Leu	Ser	Ser	Asp	Val	Ser	
	1040					1045					1050				
Leu	Lys	Ile	Lys	Ser	Met	Ala	Lys	Gly	Leu	Leu	Cys	Glu	Thr	Val	
	1055					1060					1065				
Gln	Gln	Phe	Arg	Gln	Ser	Leu	Val	Asn	Pro	Phe	Ser	Glu	Arg	Phe	
	1070					1075					1080				
Met	Trp	Pro	Lys	Ser	Ser	Pro	Arg	Gly	Leu	Thr	Trp	Ser	Cys	Gln	
	1085					1090					1095				
Asp	Asp	Leu	Val	Leu	Arg	Glu	Lys	Tyr	Cys	Gly	Leu	Pro	Ser	Lys	
	1100					1105					1110				
Ala	Gly	Leu	Lys	Leu	Ile	Thr	Phe	His	Asp						
	1115					1120									

<210> 6

<211> 1198

5 <212> PRT

<213> Glycine max

<400> 6

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

ES 2 441 369 T3

165										170					175				
Ile	Glu	Ser	Met	Asp	Ser	Ile	Val	Glu	Asp	Ile	Ser	Ser	Leu	Phe	Leu				
			180						185					190					
Asp	Glu	Asn	Val	Glu	Leu	Thr	Val	Lys	Glu	Glu	Ile	Pro	Leu	Glu	Pro				
		195					200					205							
Trp	Met	Leu	Glu	Asp	Met	Ile	Ser	Leu	Cys	Cys	Glu	Glu	Glu	Arg	Lys				
		210				215					220								
Ser	Pro	Ser	Lys	Glu	Glu	Ala	Ile	Glu	Ile	Pro	Ser	Asp	Pro	Phe	Gly				
225					230					235					240				
Thr	Glu	Thr	Ser	Tyr	Leu	Pro	Thr	Ile	Ser	Asp	Gly	Glu	Asn	Asn	Leu				
			245					250						255					
Cys	Asp	Ser	Val	Ser	Gln	Val	Leu	Ser	Pro	Thr	Tyr	Val	Glu	Ser	Leu				
			260					265					270						
Val	Glu	Cys	Asp	Asp	Thr	Leu	Thr	Glu	Asn	Leu	Ser	Asp	Thr	Ser	Cys				
		275				280						285							
Leu	Pro	Ala	Val	Glu	Ala	Val	Leu	Glu	Thr	Lys	Met	Leu	Gln	Phe	His				
		290				295					300								
Thr	Pro	Pro	Asp	Ile	Phe	Thr	Ser	Pro	Leu	Pro	Ser	Gly	His	Glu	Asn				
305				310						315					320				
Leu	Phe	Glu	Lys	His	Tyr	Ser	Ser	Leu	Pro	Val	Asn	Thr	Ala	Pro	Ser				
			325					330						335					
Ser	Leu	Gly	Glu	Lys	Ser	Ala	Pro	Glu	Ala	Val	Ile	Met	Pro	Glu	Glu				
		340						345					350						
Thr	Glu	Cys	Glu	Ser	Glu	Asp	Asp	Glu	Ser	Ile	Ile	Asp	Ile	Phe	Thr				
		355				360						365							
Val	Pro	Glu	Ser	Leu	His	Ala	Ala	Glu	Asp	Val	Ile	Thr	Thr	Asn	Glu				
		370				375					380								
Ser	Glu	Ser	Glu	Cys	Thr	Leu	Arg	Asp	Asp	Gly	Ser	Val	Thr	Asp	Ala				
385				390						395					400				
Phe	Ile	Ala	Gly	Ala	Gly	Asn	Phe	Asn	Ser	Glu	Asp	Val	Phe	Leu	Pro				
			405					410						415					
Val	Glu	Glu	Val	Met	Pro	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Gln	Ile	Lys	Ile	Val				
			420					425					430						
Glu	Lys	Val	Ala	Met	Asp	Ser	Leu	Ser	Asp	Glu	Gly	Lys	Gln	His	Met				
		435					440					445							
Tyr	Arg	Ser	Leu	Ser	Gln	Leu	Leu	Asn	Asp	Lys	Phe	Cys	His	Asp	Gln				
		450				455					460								
Trp	His	Ser	Leu	Asn	Glu	Ile	Val	Gln	Asp	Val	Arg	Asn	Lys	His	Ala				
465				470						475					480				
Tyr	Ser	Ile	Ser	Pro	Thr	Pro	His	Gln	Ile	Glu	Ser	Val	Asn	Leu	Ser				
			485						490					495					
Met	Pro	Gln	Glu	Val	Val	Leu	Asn	Ile	Met	Asn	Glu	Asp	Gln	Thr	Gln				
			500					505					510						

His Ser Asp Met Glu Asn Leu Glu Ser Cys Ile Lys Ala Met Glu Lys
 515 520 525
 Thr Ser Thr Asn Ile Trp Ser Arg Arg Gly Lys Ala Thr Ser Ala Pro
 530 535 540
 Gln Val Arg Thr Ser Lys Ser Ile Leu Lys Asn Ala Ala Asn Val Glu
 545 550 555 560
 Val Ala Met Ser Asn Glu Lys Asp Ile Arg Asn Arg Thr Ile Ser Lys
 565 570 575
 Asn Leu Ser Ser Val Leu Asp Gly Glu Val Glu Glu Asp Asp Glu Glu
 580 585 590
 Ile Tyr Thr Pro Asp Lys Glu Asn Ile Ser Pro Asn Thr Leu His Leu
 595 600 605
 Arg Phe Leu Lys Lys Gly Lys Ile Glu Gly Ile Lys His Ser Lys Ser
 610 615 620
 Gln Arg Ser Arg His Ile Leu Arg Asp Thr Phe Asn Cys Asp Ile Tyr
 625 630 635 640
 Pro Asn Glu Ser Ile Asp Pro Thr Leu Cys Asn Met Asn Lys Lys Asp
 645 650 655
 Leu Phe Ser Val Leu Asp Gly Glu Val Lys Glu Lys Glu Ile Phe Ile
 660 665 670
 Pro Glu Glu Glu Asn Leu Asn Pro Asn Ala Leu Gln Leu Arg Leu Leu
 675 680 685
 Lys Lys Lys Gly Lys Val Glu Glu Ile Lys Arg Ser Lys Ser Arg Arg
 690 695 700
 Ser Pro Leu Ser Lys Gly Thr Phe Asn Pro Asp Met Tyr Pro Asn Glu
 705 710 715 720
 Asn Ile Gly Ser Thr Leu Cys Asn Ile Asn Gln Lys Asp Ser Ile Asn
 725 730 735
 Arg Thr Ile Ser Arg Asp Leu Phe Ser Asp Leu Glu Gly Glu Glu Glu
 740 745 750
 Glu Glu Ile Phe Thr Pro Asp Lys Glu Asn Phe Ser Pro Asn Thr Leu
 755 760 765
 His Leu Arg Leu Leu Lys Lys Lys Gly Lys Val Glu Glu Ile Lys His
 770 775 780
 Ser Lys Ser Gln Arg Ser Pro Leu Ser Lys Gly Thr Phe Asn Pro Asp
 785 790 795 800
 Met Tyr Pro Asn Glu Ser Ile Gly Pro Ser Leu Arg Arg Met Asn Gln
 805 810 815
 Lys Asp Val Ile Asn Lys Thr Ile Ser Lys Asp Leu Leu Ser Asp Leu
 820 825 830
 Asp Gly Glu Glu Glu Glu Glu Glu Ile Phe Thr Pro Asp Lys Glu Asn
 835 840 845

Phe Ser Pro Asn Thr Leu Arg Leu Gln Leu Leu Lys Lys Lys Asp Asn
 850 855 860
 Phe Cys Pro Asn Leu Tyr Pro Asp Glu Asn Ile Ile Pro Thr Ser Asn
 865 870 875 880
 Glu Glu Asn Gln Thr Leu Lys Gly Val Gln Asp Gln Lys Leu Gln Arg
 885 890 895
 Asn Pro Phe Ser Ser His Ile Lys Phe Ala Gln Glu Gln Asp Leu Lys
 900 905 910
 Asp Arg Val Glu Arg Ile Pro Phe Gln Ser Leu Arg Asn Ser Gly Asp
 915 920 925
 Lys Arg Arg Ser Gly Thr Cys Cys Pro Val Ser Ala Ser Lys Ser Leu
 930 935 940
 His Phe Ser Asn Cys Gly Gln Ile Leu Asp Gln Arg Phe Asn Pro Ser
 945 950 955 960
 Asp Ile Ser Gly Val Pro Lys Lys Arg Ser Trp Asp Met Ile Val Asp
 965 970 975
 Thr Thr Ser Leu Val Asn Lys Glu Ser Arg Lys Ala Leu Gln Leu Leu
 980 985 990
 Gln Gly Leu Lys Gly Thr Arg Leu Ile Ile Pro Arg Leu Val Ile Arg
 995 1000 1005
 Glu Leu Asp Arg Met Lys Gln Gln Phe Thr Ile Phe Arg Arg Ile
 1010 1015 1020
 Ser Glu Ser Ser Leu Ala Leu Glu Trp Ile Glu Glu Cys Met Val
 1025 1030 1035
 Lys Ser Asn Trp Trp Ile His Ile Gln Ser Ser Val Asp Glu Gly
 1040 1045 1050
 Arg Leu Ile Ala Pro Thr Pro Pro Ala Ser Pro Leu Thr Gln Phe
 1055 1060 1065
 Ser Glu Glu Ser Trp Thr Ser Leu Ser Thr Gln Lys Phe Ser Met
 1070 1075 1080
 Glu Ile Ala Ser Pro Thr Val Glu Asp His Ile Leu Asp Phe Ala
 1085 1090 1095
 Leu Leu Tyr Arg Arg Asn Gln Asn Asp Gly Gln Leu Ile Leu Leu
 1100 1105 1110
 Ser Glu Asp Val Thr Leu Lys Ile Lys Cys Met Ala Glu Gly Leu
 1115 1120 1125
 Leu Cys Glu Pro Val Gln Glu Phe Arg Glu Ser Leu Val Asn Pro
 1130 1135 1140
 Phe Ser Glu Arg Phe Leu Trp Asp Lys Ser Ile Pro Arg Gly Gln
 1145 1150 1155
 Thr Trp Ser Cys Gln Asp Asp Val Val Leu Arg Glu Lys Phe Cys
 1160 1165 1170
 Arg Leu Arg Lys Pro Ser Lys Gly Val Ala Ser Gly Leu Lys Leu

	1175		1180		1185				
Ile	Leu	Leu	His	Asn	Ser	Gln	Tyr	Gly	Leu
	1190					1195			

<210> 7

<211> 1092

5 <212> PRT

<213> Sorghum bicolor

<400> 7

ES 2 441 369 T3

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

ES 2 441 369 T3

Lys Ser Leu Cys Val Asp Thr Gly Arg Ser Arg Asp Arg Ser Ser Thr
 290 295 300
 Leu Ile His Ser Ile Arg Lys Gly Asp Gln Asn Glu Ile Leu Val Cys
 305 310 315 320
 Ser Gln Ser Cys Gly Thr Glu Cys Thr Ala Cys Ile Ala Leu Phe Gly
 325 330 335
 Ile Ser Glu Val Glu Arg Ala Glu Glu Lys Glu Glu Leu Ile Ala Glu
 340 345 350
 Asp Lys Val Asp Met Asn Pro Pro Ala Ser Met Ile Met Glu Gly Thr
 355 360 365
 Met Lys Glu Arg Lys Pro Glu Asn Tyr Ile Pro Gln Asp Pro Val Asp
 370 375 380
 Ala Lys Leu Gln Lys Lys Val Gly Leu Leu Asp Ser Ala Leu Pro Leu
 385 390 395 400
 His Phe Lys Asp Asp Ala Phe Thr Asp Lys Glu Ile Pro Glu Trp Asn
 405 410 415
 Gly Ala Thr Ile Asp Thr Glu Ser Val Leu Val Ser Glu Asn Leu Ile
 420 425 430
 Met Pro Glu Met Lys His Asp Gly Leu Asn His Leu Asn Leu Glu Gly
 435 440 445
 Asp Leu Ser Glu Asn Glu Asn Met Asp Pro Asn Asn Val Ala Glu Gly
 450 455 460
 Pro Gly Asn Cys Asn Leu Glu Gly Thr Ile Cys Gly Asn Leu Phe Asp
 465 470 475 480
 Asn Leu Asp Thr Glu Gly Ile Glu Glu Asp Glu Glu Ile Cys Pro Met
 485 490 495
 Asp Lys Asp Glu Ile Thr Pro Asn Val Ser Gly Asn Ile Ile Met Glu
 500 505 510
 Arg Ser His Ile Gly Leu Lys Pro Thr Ile Ser Gln Gln Leu Met Asp
 515 520 525
 Ser Ile Ser Pro Leu Asn Leu Asp His Asp Asp Phe Ser Glu Asn Glu
 530 535 540
 Asn Ser Lys Leu Tyr Thr Gly Asp Gln Met Lys Ser Asn Glu Pro Val
 545 550 555 560
 Ser Glu Asn Leu Asn Pro Leu Met Pro Ile Ser His Leu Glu Phe Lys
 565 570 575
 Asp Asp Ile Leu Leu Asp Met Glu Asn Ser Val Pro Ala Leu Glu Lys
 580 585 590
 Ser Glu Ala Met Ala Val Arg Gln Glu Asn Leu Phe Ser Glu Lys Glu
 595 600 605
 Asn Val Thr Pro Ala Ser Lys Val Lys Thr Asn Val Arg Arg Val Leu
 610 615 620
 Gly Thr Arg Met Asp Asn Ser Met Ser Ala Ala Ala Asp Ser Asn Lys

ES 2 441 369 T3

625		630		635		640
Lys Lys Val Leu Gly Ser Arg Val Asp Asn Ser Val Ser Thr Glu Asn						
		645		650		655
Ser Ser Asn Lys Lys Gln Cys Ser Glu Leu Ser Ser Lys Ser Glu Lys						
		660		665		670
Phe His Thr Val Asp Phe Asp Val Phe Tyr Ser Asp Lys Glu Asn Leu						
		675		680		685
Thr Pro Ile Ala Ser Gly Gly Met Lys Ala Arg Lys Cys Phe Pro Asn						
		690		695		700
Asp Leu Ser Val Asp Leu Asp Gln Asp Gln Glu Ala Phe Cys Ser Asp						
		705		710		715
Lys Glu Asn Leu Thr Pro Leu Ser Ser Ala Ala Arg Lys Thr Arg Asp						
		725		730		735
Met Ser Glu Asn Arg Ala Arg Val Glu Ser Ala Ile Thr Lys Lys Arg						
		740		745		750
Val Ala Asp Arg Leu Pro Phe Gln Thr Leu Leu Ser Asn Ser Pro Leu						
		755		760		765
Arg Pro Ala Ser Ser His Asp Cys Thr Cys Ala Val Ala Gly Pro Thr						
		770		775		780
Asp Ile Thr Ala Gly Asp Leu Val Ile Lys Leu Glu Asp Lys Phe Asn						
		785		790		795
Asn Leu Ser Cys Asn Asn Gln Glu Ser Gly Ser Ala Gly Gln Gly Met						
		805		810		815
Lys Thr Trp Thr Met Val Ala Asn Thr Asp Ser Leu Leu Asp Asp Glu						
		820		825		830
Ser Arg Lys Ala Ile Met Leu Leu Lys Gly Leu Lys Gly Thr Arg Leu						
		835		840		845
Phe Ile Pro Arg Ile Val Ile Arg Glu Leu Asp Ser Met Lys Gln Arg						
		850		855		860
Glu Gly Leu Phe Arg Arg Ser Thr Lys Ala Thr Thr Ile Leu Gln Trp						
		865		870		875
Ile Glu Glu Cys Met Ala Thr Glu Ser Trp Trp Ile His Val Gln Ser						
		885		890		895
Ser Ala Asp Met Phe Pro Val Ala Ala Pro Thr Pro Pro Ala Thr Pro						
		900		905		910
Ser Ala Gln Arg Ile Asp Glu Glu Met Glu Ile Ser Ser Ser Ser Ser						
		915		920		925
Thr Phe Asn Pro Met Ala Ser Phe Phe Ser Pro Arg Ser Ser Pro Ala						
		930		935		940
Leu Ala Asp Ile Val Ser Pro Arg Pro Glu Asp Arg Val Leu Asp Cys						
		945		950		955
Ala Ile Leu Val Ser Arg Leu Arg Arg Ser Gly Glu Lys Val Val Val						
		965		970		975

Leu Ser His Ser Val Ser Leu Lys Ile Lys Ala Met Ala Glu Gly Leu
 980 985 990
 Pro Cys Glu Gly Ala Lys Glu Phe Arg Glu Ser Leu Met Asp Pro Ser
 995 1000 1005
 Ser Arg Arg Phe Met Trp Ala Ala Ser Ala Pro Arg Gly Ala Ala
 1010 1015 1020
 Cys Ser Cys Leu Asp Ala Ser Ala Leu Ala Glu Asn Tyr Tyr Asn
 1025 1030 1035
 Ser His His His Ala Met Lys Arg Ser Gly Val Val Pro Ala Ala
 1040 1045 1050
 Ala Ala Arg Pro Ala Gln Ala Ala Lys Gly Leu Lys Leu Ile Leu
 1055 1060 1065
 Arg His Asn Ser Leu Tyr Ala Gln Ala Thr Thr Glu Thr Pro Pro
 1070 1075 1080
 Leu Leu Ala Ser Ala Leu Ala Ser Val
 1085 1090

<210> 8

<211> 1096

5 <212> PRT

<213> Zea mays

<220>

<221> misc_feature

<222> (1033)..(1033)

10 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido natural

<400> 8

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

ES 2 441 369 T3

Pro Ser Ser Lys Leu Leu Pro Gly His Arg Asp Ser Val Asn Met Glu
 165 170 175
 Thr His Gln Asp Thr Ser Glu Gln Ile Val Ser Glu Asp Ile Ala Phe
 180 185 190
 Pro Ala Lys Val Ala Pro Ser Ala Pro Pro Leu Ser Glu Phe Leu Gln
 195 200 205
 Pro Phe Phe Val Glu Glu His Ser Leu Ser Gln Phe His Glu Lys Arg
 210 215 220
 Asn Gly Val Thr Glu Glu Lys Leu Val Asp Lys Asn Gln Ile Ser Glu
 225 230 235 240
 Ser Phe Gly Ser Leu Ile Ile Gln Glu Met Pro Gly Thr Leu Thr Asn
 245 250 255
 Ala Gly Lys Ser Ile Gln Ser Gly Glu Gln Glu Asp Ala Ser Asn Lys
 260 265 270
 Val Ser Lys Arg Ser Lys Leu Lys Ser Val Lys Ser Leu Arg Val Asp
 275 280 285
 Thr Gly Arg Ser Ser Glu Arg Ser Ser Thr Leu Ser His Ser Phe Gln
 290 295 300
 Lys Gly Asp Gln Asn Asp Ile Val Val Cys Ser Gln Ser Cys Gly Thr
 305 310 315 320
 Glu Cys Ala Val Cys Ile Ala Leu Phe Gly Ile Ser Glu Ile Glu Lys
 325 330 335
 Ala Glu Glu Lys Glu Glu Leu Ile Ala Glu Asp Asn Val Asp Met Asn
 340 345 350
 Pro Pro Ala Ser Met Ile Met Glu Gly Asn Met Asn Glu Arg Lys Pro
 355 360 365
 Asp Asn Tyr Ile Pro Gln Asp Pro Ile Gly Ala Lys Leu Gln Lys Lys
 370 375 380
 Leu Gly Leu Leu Asp Ser Ala Leu Pro Leu His Phe Lys Asp Asp Val
 385 390 395 400
 Phe Ala Asp Lys Glu Ile Pro Gln Trp Asn Val Ala Ser Val His Thr
 405 410 415
 Glu Ser Glu Leu Leu Ser Glu Tyr Leu Ile Ile Pro Glu Val Lys His
 420 425 430
 Asp Asp Leu Asn His Leu Asn Leu Glu Glu Gly Leu Ser Lys Ser Glu
 435 440 445
 Asn Ile Asn Pro Asn Lys Ile Thr Glu Gly Pro Gly Asn Cys Gln Leu
 450 455 460
 Glu Gly Thr Ile Arg Gly Asn Leu Phe Asp Asn Leu Asp Thr Asp Gly
 465 470 475 480
 Ile Glu Glu Gly Glu Glu Ile Cys Pro Leu Asp Lys Asp Glu Ile Thr
 485 490 495

ES 2 441 369 T3

Pro Asn Gly Ser Gly Asn Ile Ile Met Glu Arg Ser Asn Ile Val Leu
 500 505 510
 Lys Pro Thr Ile Ser Gln Gln Leu Met Asp Ser Ile Ser Pro Leu Asn
 515 520 525
 Leu Asp His Gly Asp Phe Ser Glu Asn Glu Asn Ser Met Leu Asn Thr
 530 535 540
 Gly Asp Gln Met Lys Leu Asn Glu Pro Val Ser Glu Asn Leu Asn Pro
 545 550 555 560
 Leu Ile Pro Thr Asp Glu Lys Tyr Leu Lys Ser Gln Thr Glu Glu Cys
 565 570 575
 Met Pro Ile Ser Tyr Leu Glu Phe Lys Asp Asp Ile Leu Leu Asp Arg
 580 585 590
 Glu Asn Ser Val Leu Ala Pro Arg Lys Tyr Glu Ala Met Ser Pro Val
 595 600 605
 Arg Gln Glu Asn Leu Phe Ser Asp Lys Glu Asn Val Thr Pro Ala Ser
 610 615 620
 Lys Val Lys Thr Val Val Arg Gly Val Leu Gly Thr Arg Met Asp Asn
 625 630 635 640
 Ser Val Ser Ala Ala Asn Ala Ser Asn Lys Asn Lys Val Leu Gly Ser
 645 650 655
 Arg Val Asp Asn Ser Val Ser Thr Glu Asn Ser Ser Asn Lys Lys Gln
 660 665 670
 Cys Glu Leu Ser Ser Lys Ser Lys Lys Val His Thr Val Asp Phe Asp
 675 680 685
 Val Phe Tyr Ser Asp Lys Glu Asn Leu Thr Pro Ile Ser Ser Gly Gly
 690 695 700
 Met Lys Ala Arg Lys Cys Phe Pro Lys Asp Leu Ser Val Asp Leu Asp
 705 710 715 720
 Gln Asp Gln Glu Ala Phe Cys Ser Asp Lys Glu Asn Leu Thr Pro Leu
 725 730 735
 Ser Ser Ala Ala Arg Lys Thr Arg Asp Met Ser Gly Asn Leu Thr Arg
 740 745 750
 Val Glu Ser Ala Val Thr Lys Lys Arg Val Val Gly Arg Leu Pro Phe
 755 760 765
 Gln Thr Leu Val Ser Asn Ser Pro Leu Arg Pro Ala Ser Ser His Asp
 770 775 780
 Cys Thr Cys Ala Val Ala Arg Pro Ala Gly Val Ala Ala Gly Asp Leu
 785 790 795 800
 Ala Ile Lys Leu Glu Asp Lys Leu Asn Asp Leu Ser Cys Asn Gly His
 805 810 815
 Glu Ser Gly Ser Ala Gly Glu Gly Met Lys Thr Trp Thr Met Val Ala
 820 825 830
 Asn Thr Asp Ser Leu Leu Asp Asp Glu Ser Arg Lys Ala Ile Met Leu

835						840						845					
Leu	Lys	Gly	Leu	Lys	Gly	Thr	Arg	Leu	Phe	Ile	Pro	Arg	Ile	Val	Ile		
850						855						860					
Arg	Glu	Leu	Asp	Ser	Met	Lys	Gln	Arg	Glu	Gly	Leu	Phe	Arg	Arg	Ser		
865				870						875				880			
Thr	Lys	Ala	Thr	Ser	Ile	Leu	Gln	Trp	Ile	Glu	Glu	Cys	Met	Ala	Arg		
			885						890			895					
Glu	Ser	Trp	Trp	Ile	His	Val	Gln	Ser	Ser	Ala	Asp	Met	Phe	Pro	Val		
			900						905			910					
Ala	Pro	Thr	Pro	Pro	Ala	Thr	Pro	Ser	Ala	Gln	Arg	Ile	Asp	Glu	Glu		
915									920			925					
Ile	Glu	Ile	Ser	Ser	Gly	Ser	Phe	Asn	Pro	Met	Met	Ala	Leu	Phe	Gly		
930						935				940							
Pro	Arg	Ser	Ser	Ala	Ala	Leu	Ala	Asp	Met	Ile	Ser	Pro	Arg	Pro	Glu		
945				950						955				960			
Asp	Arg	Val	Leu	Asp	Cys	Ala	Leu	Leu	Val	Ser	Arg	Val	Arg	Ser	Asn		
			965						970			975					
Glu	Lys	Val	Val	Val	Leu	Ser	Asn	Ser	Val	Thr	Leu	Lys	Ile	Lys	Ala		
			980						985			990					
Met	Ala	Glu	Gly	Leu	Pro	Cys	Glu	Gly	Ala	Lys	Glu	Phe	Arg	Glu	Ser		
995									1000			1005					
Leu	Val	Asp	Pro	Ser	Ser	Arg	Arg	Phe	Met	Trp	Ala	Ala	Ser	Ala			
1010						1015				1020							
Pro	Arg	Gly	Ser	Ala	Trp	Ser	Cys	Leu	Xaa	Ala	Ser	Ala	Leu	Ala			
1025						1030				1035							
Glu	Asn	Tyr	Tyr	Asn	Ser	Arg	His	His	Ala	Met	Lys	Arg	Arg	Val			
1040						1045				1050							
Leu	Val	Ala	Ala	Arg	Pro	Ser	Glu	Ser	Glu	Ala	Ala	Lys	Gly	Leu			
1055						1060				1065							
Lys	Leu	Ile	Leu	Arg	His	Asn	Ser	Leu	Tyr	Ala	Gln	Ala	Thr	Asp			
1070						1075				1080							
Ala	Val	Asn	Lys	Thr	Pro	Leu	Val	Ser	Leu	Ala	Ala	Val					
1085						1090				1095							

ES 2 441 369 T3

<210> 9

<211> 1226

<212> PRT

<213> Medicago truncatula

5 <400> 9

Met	Ala	Ser	Ile	Val	Val	Ser	Asp	Asp	Asn	Pro	Asn	Gln	Gln	Gln	Gln
1				5					10				15		
Ser	Leu	Ile	Pro	Val	Leu	Thr	Val	Phe	Lys	Asn	Asn	Ser	Ile	Leu	Lys
			20					25					30		
Asn	Ile	Ile	Ile	Leu	Asn	Asn	Asn	Asn	Asn	Asn	Asn	Lys	Tyr	Asn	Asp
		35					40					45			

ES 2 441 369 T3

Asp Gln Ile Leu Leu Val Gly Arg His Pro Asn Cys Asn Ile Val Leu
 50 55 60
 Phe His Pro Ser Ile Ser Arg Phe His Leu Gln Ile Arg Phe Asn Pro
 65 70 75 80
 Ser Ser Arg Ser Ile Ser Leu Leu Asp Leu Ser Ser Gly Ile Ser Glu
 85 90 95
 Lys Pro Leu Phe Ser Phe Phe Phe Phe Glu Tyr Ser Phe Phe Phe Ile
 100 105 110
 Cys Tyr Ser Phe Leu Glu Ser Trp Phe Phe Ile Val Cys Gly Thr Val
 115 120 125
 His Gly Thr Trp Val Cys Gly Arg Lys Leu Glu His Gly Val Ser Val
 130 135 140
 Asp Leu Lys Glu Gly Asp Thr Phe Gln Leu Gly Ser Ser Ser Arg Val
 145 150 155 160
 Tyr Leu Leu Gln Phe Val Met Leu Ser Leu Val Phe Val Phe Leu Ser
 165 170 175
 Phe Gly Phe Gly Leu Gln Asn Ile Gly Ser Leu Gly Cys Asp Asp Lys
 180 185 190
 Arg Lys Asp Gln Ser Asn Asp Glu Thr Phe Glu Asp Glu Asn Asp Ser
 195 200 205
 Phe Gly Thr Glu Thr Ser Cys Cys Asn Gly Glu Asn Lys Leu Cys Gly
 210 215 220
 Cys His Phe Cys Leu Leu Ser Pro Pro Tyr Thr Gln Ser Val Asp Glu
 225 230 235 240
 Thr Asp Asn Ile Gln Met Gly Glu Ala Cys Pro Glu Val Glu Met Pro
 245 250 255
 Gly Glu Thr Asn Leu Phe Cys Thr Leu Arg Glu Cys Phe Gln Gln Asn
 260 265 270
 Ile Cys Ile Pro Val Ala Glu Ala Val Gln Gly Ser Lys Leu His Gln
 275 280 285
 Gln Ser Ser Ala Glu Lys Gln Leu Ile Asp Pro Glu Ser Ser Phe Gly
 290 295 300
 Glu Lys Gly Asp Gly Ala Val Asp Glu Val Pro Lys Glu Ser Glu Phe
 305 310 315 320
 Glu Gly Thr Phe Glu Tyr Ile Val Thr Thr Gly Gly Arg Val Phe Asn
 325 330 335
 Ser Glu Asp Met Pro Cys Ser Glu Ser His Gln Thr Asn Thr Asn Glu
 340 345 350
 Glu Val Ser Val Asp Ser Leu Ser Asp Gly Glu Lys Gln Gly Ser Cys
 355 360 365
 Gly Glu Glu Tyr Glu Ser Glu Leu Gln Asn Leu Asn Ala Asn Ser Cys
 370 375 380
 His Lys Gln Gln Tyr Ser Pro Asp Glu Ile Val Glu Asp Ile Gly Lys

ES 2 441 369 T3

385		390		395		400
Gln Cys Ile Glu Asn Met Asp Pro Ala Ser Ser Glu Glu Asn Gly Val						
		405		410		415
Ala Ala Leu Ser Val Thr Pro Lys Glu His Lys Leu Glu Phe Phe Ser						
		420		425		430
Glu Glu Asn Asp Met Ile Asp Asp Val Leu Ser Ser Val Ala Arg Phe						
		435		440		445
Phe Asn Ser Glu Asn Thr Ser Ser Leu Val Lys Glu Thr Ile His His						
		450		455		460
Val Thr Asn Phe Gln Gln Ile Asn Thr Val Glu Glu Val Ala Ala Val						
		465		470		475
Asp Ser Leu Ser Asp Glu Glu Lys Glu Asn Lys Cys Asp Val Glu Phe						
		485		490		495
Lys Ala Tyr Leu Asn Ile Lys Pro Cys Asp Glu Glu Gly Asn Ser Leu						
		500		505		510
Val Glu Thr Val Glu Glu Thr Val Lys Ser Phe Gln Thr Glu Ser Val						
		515		520		525
Asn Pro Leu Ser Val Asn Thr Tyr Ser Leu Val Glu Asp Ser Ile Pro						
		530		535		540
Val Thr Asn Phe Gln Leu Ile Asn Ile Val Asp Glu Val Ala Thr Val						
		545		550		555
Asp Ser Leu Ser Asp Glu Glu Lys Glu Asn Glu Cys Asp Glu Glu Phe						
		565		570		575
Lys Ala Tyr Leu Tyr Val Lys Pro Cys Asp Glu Gly Ser Ser Leu Asp						
		580		585		590
Glu Thr Val Glu Glu Thr Val Lys Ser Phe Gln Thr Glu Ser Leu Asn						
		595		600		605
Pro Ser Ser Gly Asn Thr Ser Ser Leu Val Glu Glu Ala Ile Pro Val						
		610		615		620
Thr Asn Phe Gln Leu Ile Asn Ile Val Glu Glu Val Ala Thr Val Asp						
		625		630		635
Ser Leu Ser Asn Glu Glu Lys Glu Asn Glu Cys Asp Glu Glu Phe Lys						
		645		650		655
Ala Tyr Leu Tyr Val Lys Pro Cys Asp Glu Glu Gly Asn Ser Leu Asp						
		660		665		670
Glu Thr Val Glu Glu Thr Val Lys Ser Phe Gln Thr Glu Ser Leu Asn						
		675		680		685
Pro Ser Val Thr Gln Glu Thr Asp Leu Glu Ile Thr Glu Lys Lys Glu						
		690		695		700
Asn Gln Thr Leu Gln Ser Leu Val Ala Val Ala Gly Cys Phe Asp Val						
		705		710		715
Lys Phe His Glu Asn Cys Val Glu Glu Ser Val Glu Gly Ser Leu Thr						
		725		730		735

ES 2 441 369 T3

Leu Gly Ser Asp Ile Leu Ser Arg Arg Asp Lys Ala Ala Ser Ala Pro
 740 745 750
 Gln Asp Arg Thr Arg Lys Ser Arg Leu Leu Asn Thr Pro Asp Val Asp
 755 760 765
 Thr Lys Phe Val Met Ser Asn Leu Lys Asp Ile Asn Ile Ile Asn Lys
 770 775 780
 Pro Met Pro Gln Asn Ile Phe Ser Asp Leu Asp Glu Glu Glu Met Phe
 785 790 795 800
 Thr Pro Asn Lys Glu Asn Ser Ser Pro Thr Asn Thr Phe His Ser Gln
 805 810 815
 Phe Met Arg Lys Lys Gly Val Leu Glu Glu Ser Lys Ser Ser Lys Ser
 820 825 830
 Gln Arg Ala His Asn Leu Lys Ala Ser Phe Ser Ser Ile Ile Tyr Ser
 835 840 845
 Ala Glu Arg Cys Thr Ser Ala Ile Ser Asn Lys Glu Asn Gln Thr Pro
 850 855 860
 Lys Ser Gln Arg Ala His Asn Leu Lys Ala Ser Phe Ser Pro Ile Ile
 865 870 875 880
 Tyr Ser Ala Glu Arg Ser Thr Ser Ala Ile Ser Asn Lys Glu Asn Leu
 885 890 895
 Thr Pro Arg Glu Ala Arg Glu Trp Lys Ser Gln Arg Ser His Asn Leu
 900 905 910
 Arg Ala Ser Phe Ser Pro Ile Ile Tyr Ser Ala Glu Arg Ser Ala Ser
 915 920 925
 Ala Ile Ser Asn Lys Glu Asn Leu Thr Pro Lys Glu Ala Leu Glu Trp
 930 935 940
 Met Ser Gly Arg Asn Pro Leu Glu Cys Arg Asn Thr Met Glu Leu Arg
 945 950 955 960
 Lys Lys Arg Val Glu Arg Met Pro Leu Gln Ser Leu Ile Ser Ser Gly
 965 970 975
 Gly Asn His Asn Ser Asn Ser Ser Pro Phe Ser Ser Ser Pro Phe Ser
 980 985 990
 Ala Ala Lys Ser Ile Leu Gly Val Thr Val Arg Ser Ser Asn Cys Gly
 995 1000 1005
 His Ile Ser Asp Lys His Ala Gln Pro Ser Val Arg Tyr His Lys
 1010 1015 1020
 Ala Glu Arg Lys Arg Ser Trp Asp Leu Val Val Asp Thr Ser Ser
 1025 1030 1035
 Leu Leu Asn Lys Glu Ser Arg Lys Ala Leu Gln Leu Leu Gln Gly
 1040 1045 1050
 Leu Lys Arg Thr Arg Leu Ile Ile Pro Gln Ser Ser Val Ile Arg
 1055 1060 1065

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

<210> 10

<211> 878

5 <212> PRT

<213> Solanum lycopersicum

<400> 10

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

ES 2 441 369 T3

Val	Glu	Leu	Lys	Glu	Gly	Asp	Arg	Met	Gln	Leu	Gly	Gly	Ser	Ser	Arg	
145					150					155					160	
Val	Tyr	Arg	Leu	His	Trp	Val	Pro	Ile	Ser	His	Ala	Tyr	Asp	Leu	Glu	
			165						170					175		
Asn	Pro	Phe	Val	Pro	Thr	Leu	Cys	Glu	Ser	Glu	Pro	Glu	Glu	Ser	Thr	
			180					185					190			
Gln	Glu	Glu	Gln	His	Gln	Asp	Glu	Ser	Gly	Phe	Ser	Leu	Gln	Asn	Asp	
		195					200					205				
Gln	Ile	Gln	Lys	Glu	Asp	Tyr	Asp	Met	Val	Gln	Gly	Leu	Asp	Ser	Ser	
	210				215						220					
Phe	Ser	Gly	Met	Ser	Ser	Leu	Pro	Arg	Leu	Arg	Ser	Leu	Thr	Pro	Pro	
225					230					235					240	
Ala	Pro	Pro	Met	Leu	Asp	Lys	Asn	Val	Ala	Ala	Asn	Glu	Asn	Leu	Pro	
				245					250					255		
Gly	Asn	Ile	His	Glu	Glu	Gly	Glu	Ile	Ser	Leu	Arg	Gln	Pro	Ala	Tyr	
			260					265					270			
Gln	Ala	Asp	Lys	Glu	Asn	Ser	Ile	Pro	Glu	Ala	Leu	Leu	Val	Pro	Gly	
		275					280					285				
Gln	Ser	Pro	Asn	Glu	Asn	Ala	Asp	Gly	Thr	Pro	Pro	Arg	Ser	Gln	Gln	
	290					295					300					
Arg	Cys	Ser	Ser	Ile	Trp	Ser	Arg	Arg	Gly	Lys	His	Ser	Asn	Val	Gln	
305					310					315					320	
Ile	Gln	Thr	Gly	Lys	Asp	Arg	Ala	Met	Asn	Glu	Asn	Ile	Asp	Met	Glu	
				325					330					335		
Thr	Glu	Val	Glu	Ser	Ile	Asn	Arg	Glu	Ile	Glu	Gly	Thr	Ile	Ser	Val	
			340					345					350			
Ser	Lys	Asp	Leu	Phe	Ala	Ser	Gly	Asn	Lys	Asp	Lys	Glu	Glu	Glu	Val	
		355					360					365				
Phe	Thr	Pro	Asp	Lys	Glu	Asn	His	Thr	Pro	Ser	Ser	Leu	Phe	Leu	Gly	
	370					375					380					
Ser	Met	Lys	Lys	Ser	Cys	Leu	Ser	Glu	Met	Thr	Asn	Arg	Ser	Gly	Arg	
385					390					395					400	
Lys	Ser	Val	Leu	Ser	Asn	Met	Asp	Glu	Thr	Asp	Glu	Glu	Thr	Phe	Thr	
				405					410					415		
Pro	Asp	Lys	Glu	Asn	Met	Thr	Pro	Glu	Thr	Arg	Arg	Leu	Arg	Leu	Met	
			420					425					430			
Lys	Lys	Ile	Gly	Ser	Gln	His	Gln	Ile	Lys	His	Pro	Lys	Leu	Phe	Lys	
		435					440					445				
Ser	Ser	Ser	Leu	Lys	Leu	Val	Val	Glu	Pro	Arg	Ser	Asn	Gln	Ala	Ala	
	450					455					460					
Gly	Cys	Val	Ser	His	Lys	Lys	Glu	Lys	Leu	Gly	Ser	Thr	Thr	Lys	Ser	
465					470					475					480	

ES 2 441 369 T3

Thr	Gln	Pro	Asn	Val	Asp	Glu	Asn	Asp	Glu	Glu	Ile	Phe	Thr	Pro	Asp	
				485					490						495	
Lys	Glu	Asn	Met	Thr	Pro	Asp	Thr	Arg	Leu	Met	Arg	Ser	Met	Lys	Lys	
			500					505					510			
Ile	Gly	Lys	Leu	Glu	Asp	Leu	Lys	Leu	Glu	Ser	Phe	Lys	Phe	Ser	Leu	
		515					520					525				
Asp	Asn	Val	Val	Asp	Pro	Ile	Phe	His	Gln	Asn	Gly	Thr	Pro	Phe	Ser	
	530					535					540					
Ser	Glu	Lys	Asp	Asn	Leu	Asn	Asp	Lys	Val	Leu	Glu	Glu	Gln	Lys	Ser	
545					550					555					560	
Thr	Ile	Leu	Ala	Pro	Arg	Tyr	Pro	Ala	Arg	Leu	Glu	Val	Asn	Thr	Val	
				565					570						575	
Lys	Asn	Arg	Met	Asp	Arg	Val	Pro	Leu	Gln	Ser	Leu	Leu	Val	Asn	Tyr	
			580					585						590		
Pro	Val	Lys	Thr	Ser	Ser	Ile	Ser	Pro	Glu	Glu	Asn	Ile	Lys	Leu	Arg	
		595					600					605				
Asp	Tyr	Pro	Ile	Gln	His	Pro	Glu	Thr	Met	Glu	Leu	Cys	Pro	Phe	Phe	
	610					615					620					
Asn	Glu	Ser	Phe	Met	Glu	Lys	Lys	Arg	Trp	Thr	Ile	Val	Val	Asp	Thr	
625					630					635					640	
Gly	Ser	Leu	Leu	Asn	Lys	Glu	Ser	Arg	Lys	Ser	Leu	Gln	Leu	Leu	Gln	
				645					650					655		
Gly	Leu	Arg	Arg	Thr	Tyr	Met	Ile	Ile	Pro	Arg	Thr	Val	Ile	Arg	Glu	
			660					665					670			
Leu	Asp	Cys	Met	Lys	Arg	Arg	Ala	Ser	Leu	Phe	Arg	Arg	Thr	Thr	Glu	
		675					680					685				
Val	Ser	Ala	Ala	Leu	Glu	Trp	Ile	Glu	Asp	Cys	Met	Ile	Asn	Ala	Lys	
		690				695					700					
Ala	Trp	Ile	His	Val	Gln	Ser	Cys	Ala	Glu	Glu	Thr	Arg	Ala	Val	Ala	
705					710					715					720	
Pro	Thr	Pro	Pro	Ala	Thr	Ala	Pro	Leu	Ser	Leu	Phe	Ser	Glu	Glu	Asn	
				725					730					735		
Gly	Met	Phe	Pro	Val	Gly	Ser	His	Gln	Phe	Ser	Pro	His	Ser	Gly	Leu	
			740					745					750			
Met	Asp	Phe	Ala	Ser	Pro	Thr	Ala	Glu	Asp	His	Ile	Leu	Glu	Tyr	Ala	
		755					760					765				
Leu	Phe	Phe	Lys	Arg	Thr	Asn	Arg	Asn	Gly	Gln	Leu	Val	Leu	Leu	Ser	
		770					775					780				
Asn	Asp	Leu	Thr	Met	Lys	Ile	Lys	Ala	Met	Ala	Glu	Gly	Leu	Asn	Cys	
785					790					795					800	
Glu	Thr	Ala	Glu	Glu	Phe	Arg	Glu	Ser	Leu	Val	Asn	Pro	Phe	Ser	Glu	
				805					810					815		
Arg	Phe	Leu	Trp	Lys	Asp	Ser	Ser	Pro	Arg	Gly	Arg	Thr	Trp	Ser	Cys	

820							825					830			
Glu	Asp	Asp	Phe	Val	Leu	Arg	Glu	Thr	Tyr	Tyr	His	Gly	Pro	Pro	Lys
		835					840					845			
Lys	Pro	Ser	Met	Ser	Gly	Glu	Ala	Ala	Lys	Gly	Leu	Lys	Leu	Ile	Leu
	850					855					860				
Leu	His	Asn	Ser	His	Phe	Arg	Cys	His	Ile	Ser	Thr	Ala	Ser		
865					870					875					

<210> 11

<211> 153

5 <212> PRT

<213> Solanum tuberosum

<400> 11

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

<210> 12

<211> 132

<212> PRT

<213> Helianthus argophyllus

5 <400> 12

```

Pro Gln Ser Leu Lys Tyr Leu Lys Leu Leu Glu Asp Ile Glu Gly Thr
1          5          10          15

Gln Leu Phe Leu Thr Lys Thr Val Val Arg Glu Leu Met Asp Ile Glu
          20          25          30

Ser Gln Asp Asn Phe Phe Asn Arg Ser Ser Lys Lys Ala Ser Leu Ala
          35          40          45

Leu Glu Trp Ile Asp Glu Cys Met Met Asn Thr Ser Gln Trp Ile His
50          55          60

Met Asp Asp Asp Asp Asp Glu Thr Val Arg Arg Ser Ser Thr Val Leu

65          70          75          80

Glu Ile Ala Leu Arg Leu Arg Glu Glu Asp Ser Asp Gln Lys Ile Ile
          85          90          95

Ile Leu Ser Asp Asn Leu Thr Leu Lys Ile Lys Ala Leu Ala Glu Gly
          100          105          110

Ile Met Cys Glu Ala Ala Glu Glu Phe His Lys Ser Leu Val Asn Pro
          115          120          125

Phe Ser Glu Arg
          130

```

<210> 13

<211> 189

10 <212> PRT

<213> Malus domestica

<400> 13

ES 2 441 369 T3

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

<210> 14

<211> 200

<212> PRT

5 <213> Triticum_aestivum

<400> 14

Lys	Val	Trp	Thr	Met	Leu	Ala	Asp	Thr	Asp	Cys	Leu	Leu	Asp	Asp	Glu
1				5				10						15	
Ser	Arg	Lys	Ser	Ile	Met	Leu	Leu	Lys	Gly	Ile	Lys	Gly	Thr	His	Leu

ES 2 441 369 T3

	20		25		30										
Ile	Ile	Pro	Arg	Ile	Val	Met	Arg	Glu	Leu	Glu	Gly	Met	Lys	Gln	Arg
	35						40					45			
Glu	Gly	Met	Phe	Lys	Arg	Ser	Ser	Lys	Ala	Thr	Ser	Ile	Met	Gln	Trp
	50					55					60				
Ile	Glu	Asp	Cys	Met	Glu	Asn	Glu	Ser	Trp	Trp	Ile	His	Val	Gln	Ser
65					70				75						80
Ser	Ser	Glu	Met	Leu	Pro	Val	Ala	Pro	Thr	Pro	Pro	Ala	Thr	Pro	Thr
				85					90					95	
Glu	Thr	Gln	Arg	Asn	Ser	Glu	Glu	Ser	Glu	Ala	Thr	Ala	Ala	Gly	Ala
			100					105					110		
Phe	Asn	Ser	Met	Leu	Ala	Leu	Phe	Ser	Pro	Arg	Ser	Phe	Thr	Gly	Ile
	115						120					125			
Phe	Ser	Pro	Arg	Ile	Leu	Ala	Asp	Ile	Asp	Ser	Pro	Lys	Thr	Glu	Asp
	130					135					140				
Arg	Val	Leu	Asp	Cys	Ala	Leu	Leu	Phe	Asn	Lys	Leu	Arg	Gly	Cys	Gly
145					150					155					160
Gln	Asn	Met	Val	Ile	Leu	Ser	Asn	Ser	Val	Asn	Leu	Lys	Ile	Lys	Ala
				165					170					175	
Met	Ser	Glu	Gly	Leu	Leu	Cys	Glu	Gly	Ala	Lys	Glu	Phe	Arg	Glu	Thr
			180					185					190		
Leu	Met	Asn	Pro	Cys	Ser	Glu	Arg								
	195						200								

<210> 15

<211> 19

5 <212> ADN

<213> Artificial

<220>

<223> cebador PCR

<400> 15

10 acatctccct tgcgtaac 19

<210> 16

<211> 19

<212> ADN
 <213> Artificial
 <220>
 <223> cebador PCR
 5 <400> 16
 atctctcaat cggtcggtc 19
 <210> 17
 <211> 25
 <212> ADN
 10 <213> Artificial
 <220>
 <223> cebador PCR
 <400> 17
 ctgataccag acgttgcccg cataa 25
 15 <210> 18
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Artificial
 <220>
 20 <223> cebador PCR
 <400> 18
 tcggagtcac gaagactatg 20
 <210> 19
 <211> 21
 25 <212> ADN
 <213> Artificial
 <220>
 <223> cebador PCR
 <400> 19
 30 cagtctcact gattattcct g 21
 <210> 20

<211> 21
 <212> ADN
 <213> Artificial
 <220>
 5 <223> cebador PCR
 <400> 20
 gcttcttcc ctccttct c 21
 <210> 21
 <211> 21
 10 <212> ADN
 <213> Artificial
 <220>
 <223> cebador PCR
 <400> 21
 15 aaggctgata ttctgattca t 21
 <210> 22
 <211> 21
 <212> ADN
 <213> Artificial
 20 <220>
 <223> cebador PCR
 <400> 22
 ctctgttg tccgtatctt a 21
 <210> 23
 25 <211> 28
 <212> ADN
 <213> Artificial
 <220>
 <223> cebador PCR
 30 <400> 23
 aacgtccgca atgtgttatt aagttgtc 28

<210> 24
 <211> 21
 <212> ADN
 <213> Artificial
 5 <220>
 <223> cebador PCR
 <400> 24
 aatcggtag tcaggttca g 21
 <210> 25
 10 <211> 21
 <212> ADN
 <213> Artificial
 <220>
 <223> cebador PCR
 15 <400> 25
 ccatggatga aagcgattta g 21
 <210> 26
 <211> 19
 <212> ADN
 20 <213> Artificial
 <220>
 <223> cebador PCR
 <400> 26
 tccttcatc ttaatatgc 19
 25 <210> 27
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> Artificial
 <220>
 30 <223> cebador PCR
 <400> 27

tctgtccacg aattattta 19
 <210> 28
 <211> 16
 <212> ADN
 5 <213> Artificial
 <220>
 <223> cebador PCR
 <400> 28
 cccatgtctc cgatga 16
 10 <210> 29
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> Artificial
 <220>
 15 <223> cebador PCR
 <400> 29
 ggcgtttaat ttgcattct 19
 <210> 30
 <211> 20
 20 <212> ADN
 <213> Artificial
 <220>
 <223> cebador PCR
 <400> 30
 25 gtttgggaa gtttgctgg 20
 <210> 31
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Artificial
 30 <220>
 <223> cebador PCR

<400> 31
 cagtctaaaa gcgagagtat gatg 24
 <210> 32
 <211> 21
 5 <212> ADN
 <213> Artificial
 <220>
 <223> cebador PCR
 <400> 32
 10 gaggataacct cttgctgatt c 21
 <400> 27
 tctgtccacg aattattta 19
 <210> 28
 <211> 16
 15 <212> ADN
 <213> Artificial
 <220>
 <223> cebador PCR
 <400> 28
 20 cccatgtctc cgatga 16
 <210> 29
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> Artificial
 25 <220>
 <223> cebador PCR
 <400> 29
 ggcgtttaat ttgcattct 19
 <210> 30
 30 <211> 20
 <212> ADN

<213> Artificial

<220>

<223> cebador PCR

<400> 30

5 gttttgggaa gttttgctgg 20

<210> 31

<211> 24

<212> ADN

<213> Artificial

10 <220>

<223> cebador PCR

<400> 31

cagtctaaaa gcgagagtat gatg 24

<210> 32

15 <211> 21

<212> ADN

<213> Artificial

<220>

<223> cebador PCR

20 <400> 32

gaggatacct cttgctgatt c 21

<213> Arabidopsis thaliana

<400> 38

gggaactaaa	tgaggtgaag	cgcagtcgca	gttttctctt	tagaagaaga	acagagattg	60
cttcttcagc	tctggactgg	atcgaagaat	gtaagggtta	ttcaaaatgg	tggtattcaag	120
tccagagtcc	aacagaagaa	accaaagcaa	ttgcaccaac	cccaccagtc	actccccagt	180
caaattggctc	atcggcattc	cccttttcac	ttcactggaa	caactatgca	ccagagattg	240
attctccgac	atcagaagat	caagttctcg	aatgtgctct	tctttatoga	aaccgtaacc	300
gtgacgaaaa	actcgttctt	cttagcaacg	atgtaactct	caagatcaaa	gccatggcag	360
ag						362

25 <210> 39

<211> 21

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> cebador PCR

<400> 39

5 ccatagtgag agttatggag c 21

<210> 40

<211> 23

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

10 <220>

<223> cebador PCR

<400> 40

ggcgcctttt caacctctac ttg 23

REIVINDICACIONES

1. Método para obtener una planta que produce polen $2n$, en donde dicho método comprende la inhibición en dicha planta de una proteína de aquí en adelante denominada como proteína PS1, en donde dicha proteína:

5 - comprende dentro de su región N-terminal (preferiblemente dentro de sus 300 aminoácidos N-terminales, más preferiblemente dentro de sus 250 aminoácidos N-terminales, y aún más preferiblemente dentro de sus 200 aminoácidos N-terminales), un dominio que tiene al menos un 40%, y por orden creciente de preferencia, al menos un 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 o 98% de identidad de secuencia, o al menos un 60%, y por orden creciente de preferencia, al menos, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 o 98% de similitud de secuencia con el dominio FHA de la proteína AtPS1 (aminoácidos 64- 132 de SEQ ID NO: 1);

10 - comprende dentro de su región C-terminal (preferiblemente dentro de sus 350 aminoácidos C-terminales, más preferiblemente dentro de sus 300 aminoácidos C-terminales, y aún más preferiblemente dentro de sus 250 aminoácidos C-terminales), un dominio que tiene al menos un 40%, y por orden creciente de preferencia, al menos un 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 o 98% de identidad de secuencia, o al menos, y por orden creciente de preferencia, al menos, un 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 o 98% de similitud de secuencia con el dominio PINc de la proteína AtPS1 (aminoácidos 1237-1389 de SEQ ID NO:1).

2. Método según la reivindicación 1, en donde la inhibición de dicha proteína se obtiene mediante mutagénesis del gen PS1 o de su promotor, y en donde se seleccionan los mutantes que han perdido parcial o totalmente la actividad de la proteína PS1.

20 3. Método según la reivindicación 1, en donde la inhibición de dicha proteína se obtiene mediante la expresión en dicha planta de un ARN de silenciamiento que selecciona como diana el gen que codifica dicha proteína.

4. Casete de expresión que comprende:

- un promotor funcional en una célula vegetal;

- un constructo de ADN seleccionado entre:

25 a) un constructo de ADN de 200 a 1000 pb, preferiblemente de 300 a 900 pb, que comprende un fragmento de un ADNc que codifica la proteína PS1, o de su complementario, o que tiene al menos un 95% de identidad, y por orden creciente de preferencia, al menos un 96%, 97%, 98%, o 99 % de identidad con dicho fragmento;

b) un constructo de ADN que es capaz, cuando se transcribe, de formar un ARN hairpin que selecciona como diana el gen *PS1*;

30 c) un constructo de ADN que es capaz, cuando se transcribe, de formar un amiARN que selecciona como diana el gen *PS1*;

donde dicha secuencia está situada bajo control transcripcional de dicho promotor.

5. Vector recombinante que comprende un casete de expresión según la reivindicación 4.

35 6. Planta transgénica que produce polen $2n$, en donde dicha planta contiene un transgén que comprende un casete de expresión según la reivindicación 4.

7. Método para producir polen $2n$, en donde dicho método comprende:

- obtener una planta que produce polen $2n$, mediante un método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3;

- cultivar dicha planta;

40 - recuperar el polen producido por dicha planta.

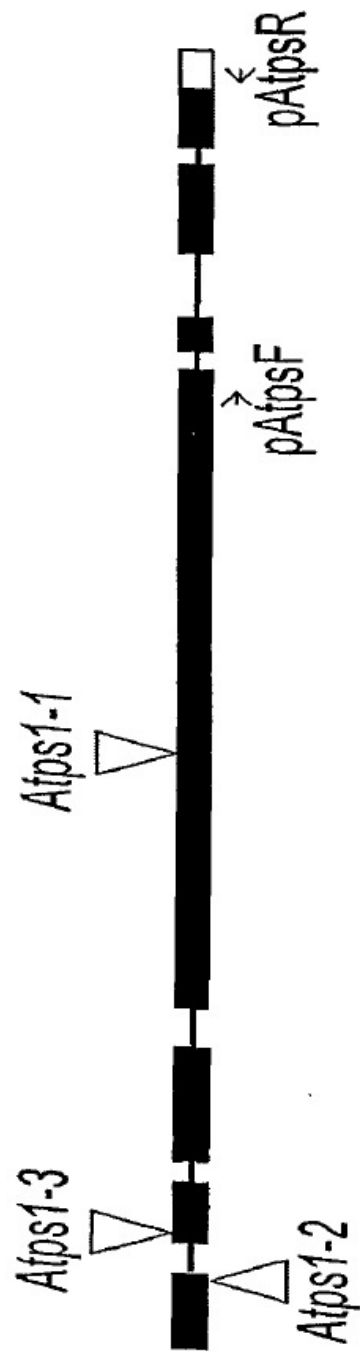


Figura 1

70

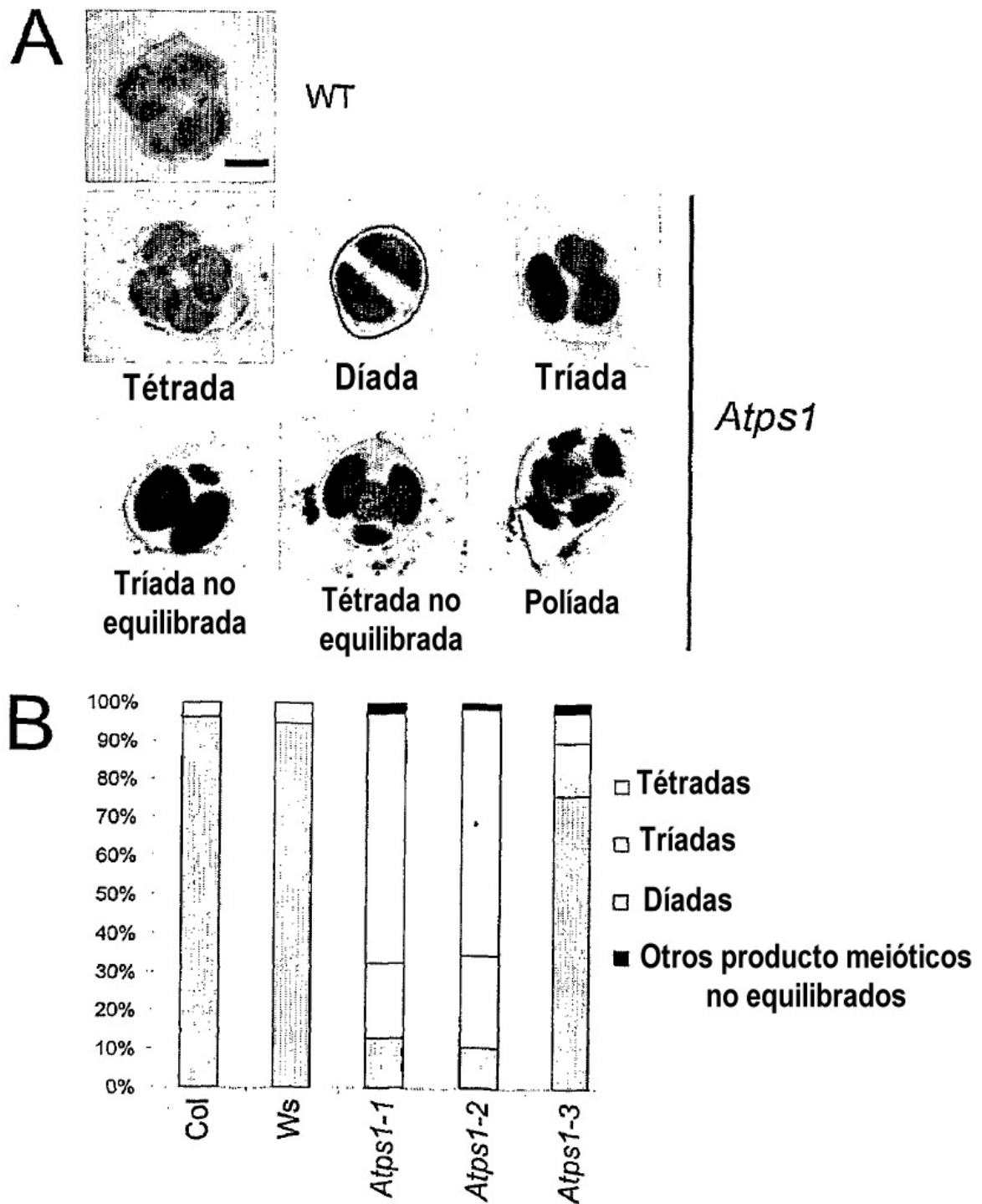


Figura 3

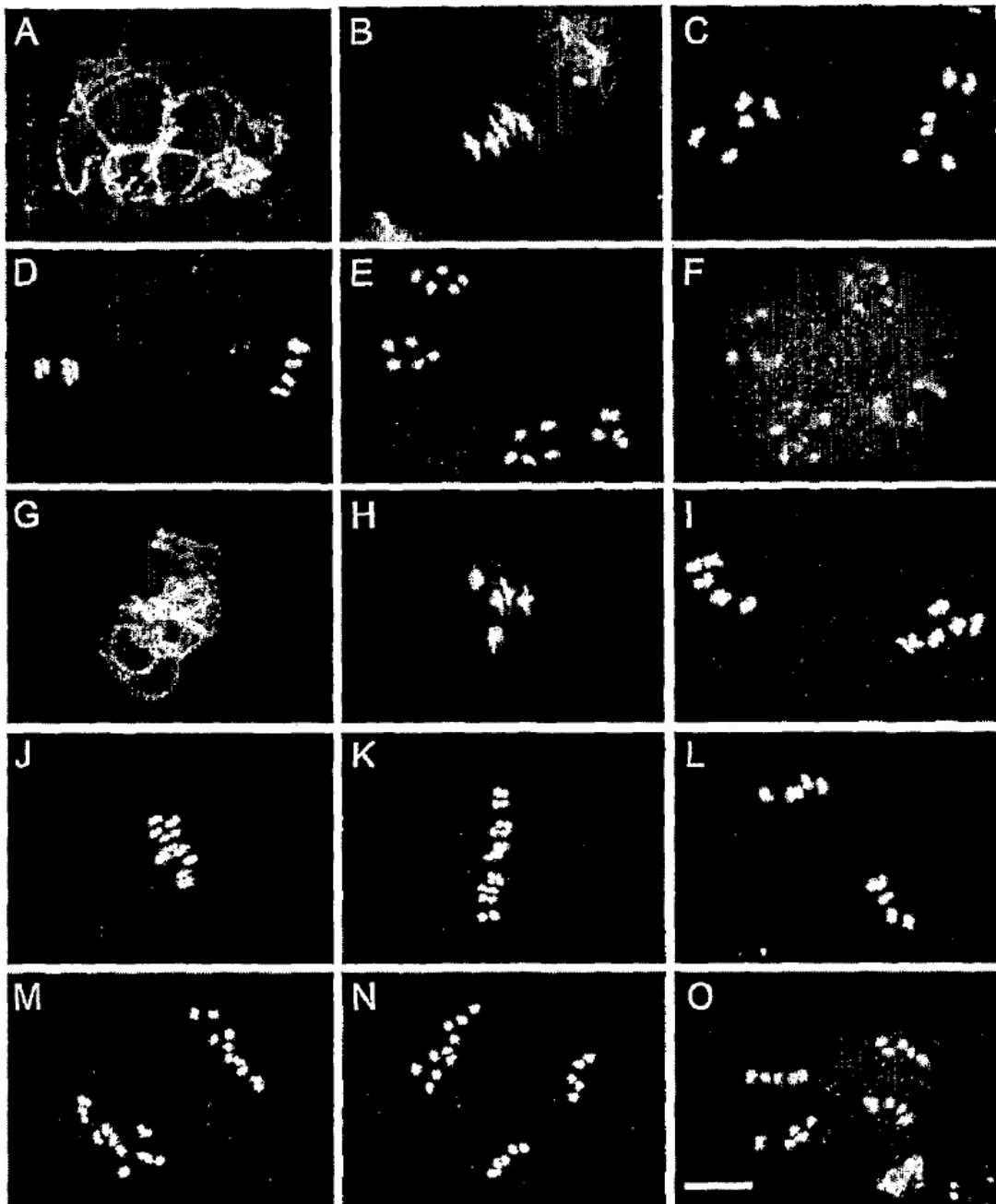


Figura 4

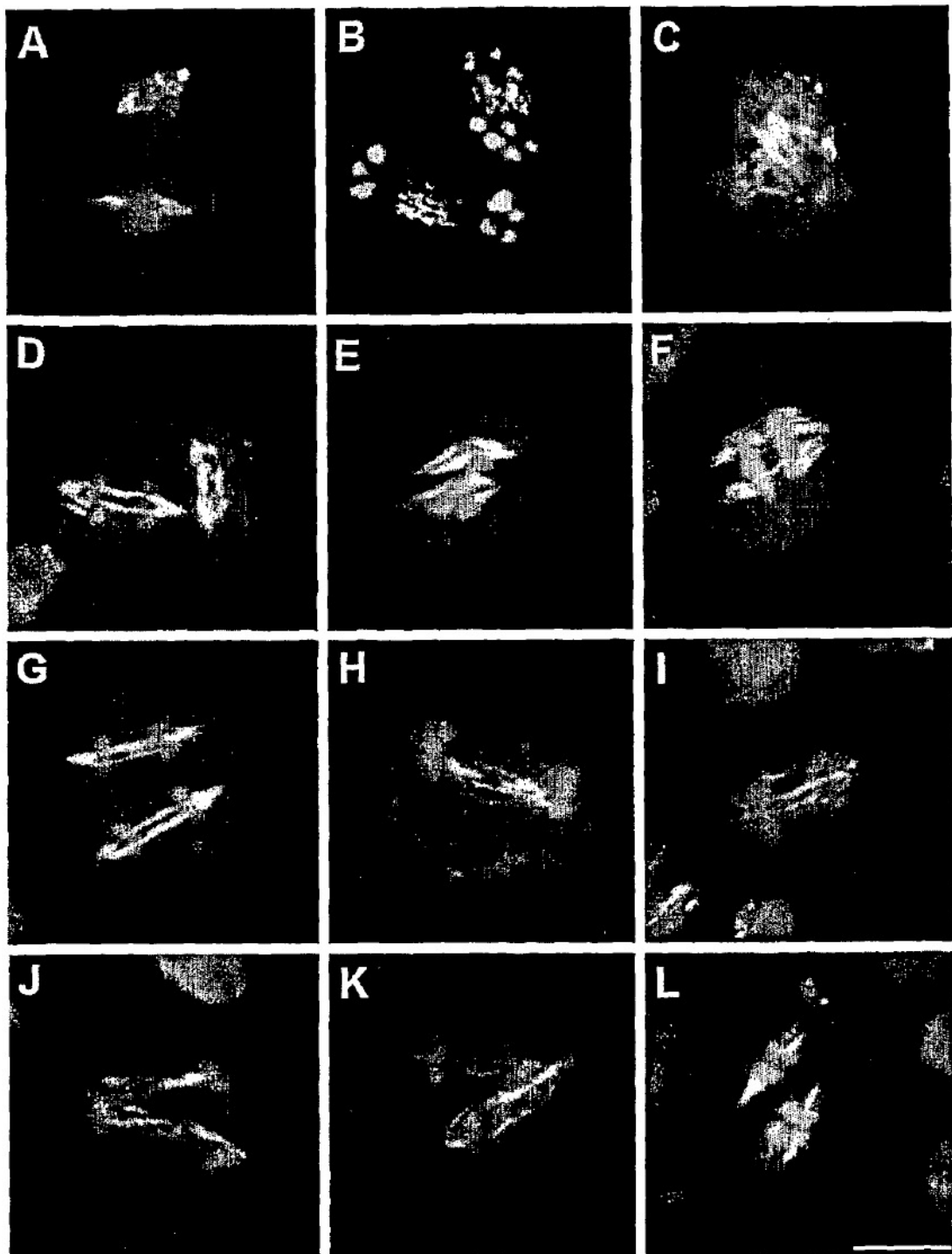


Figura 5

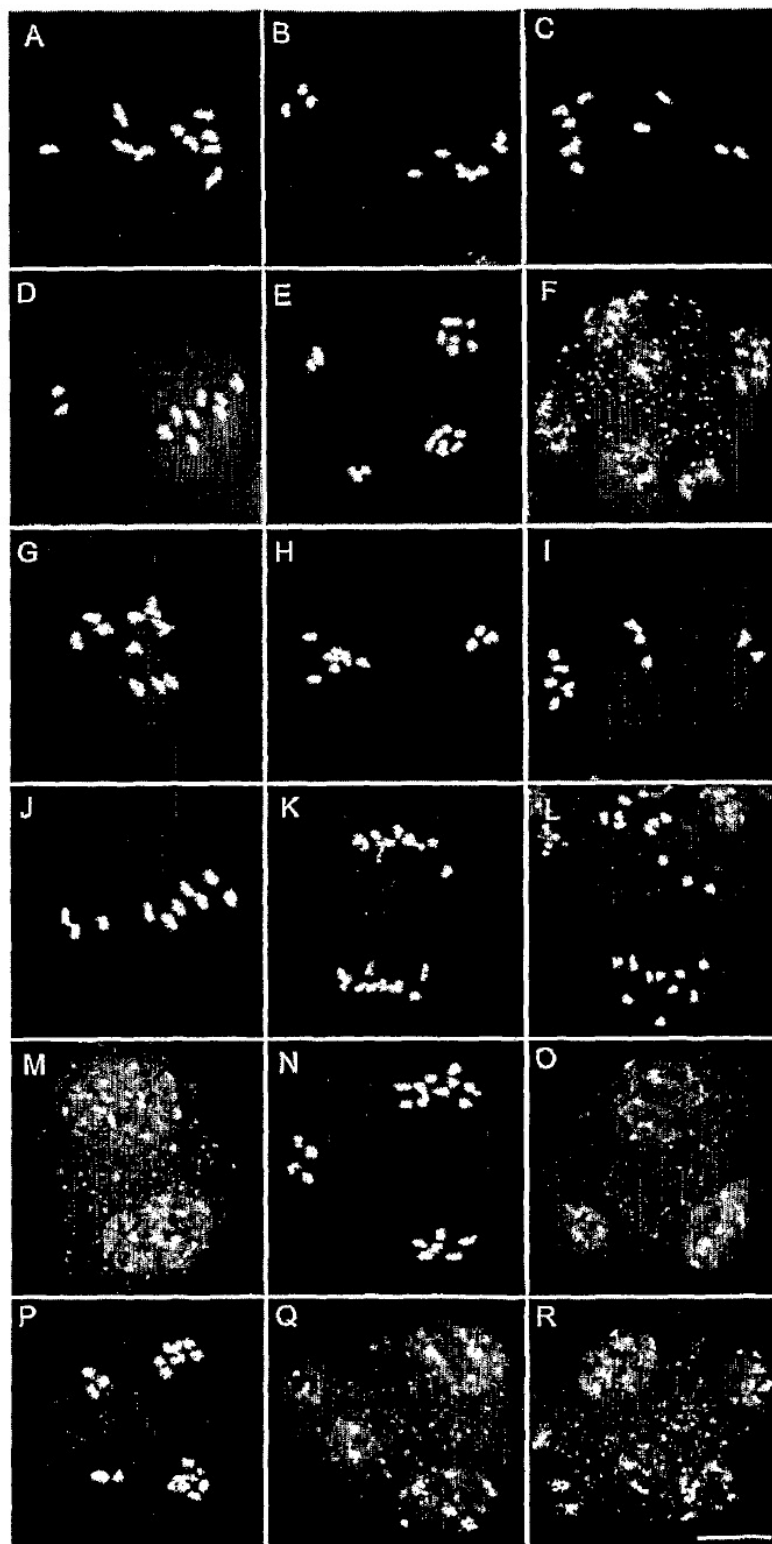


Figura 6

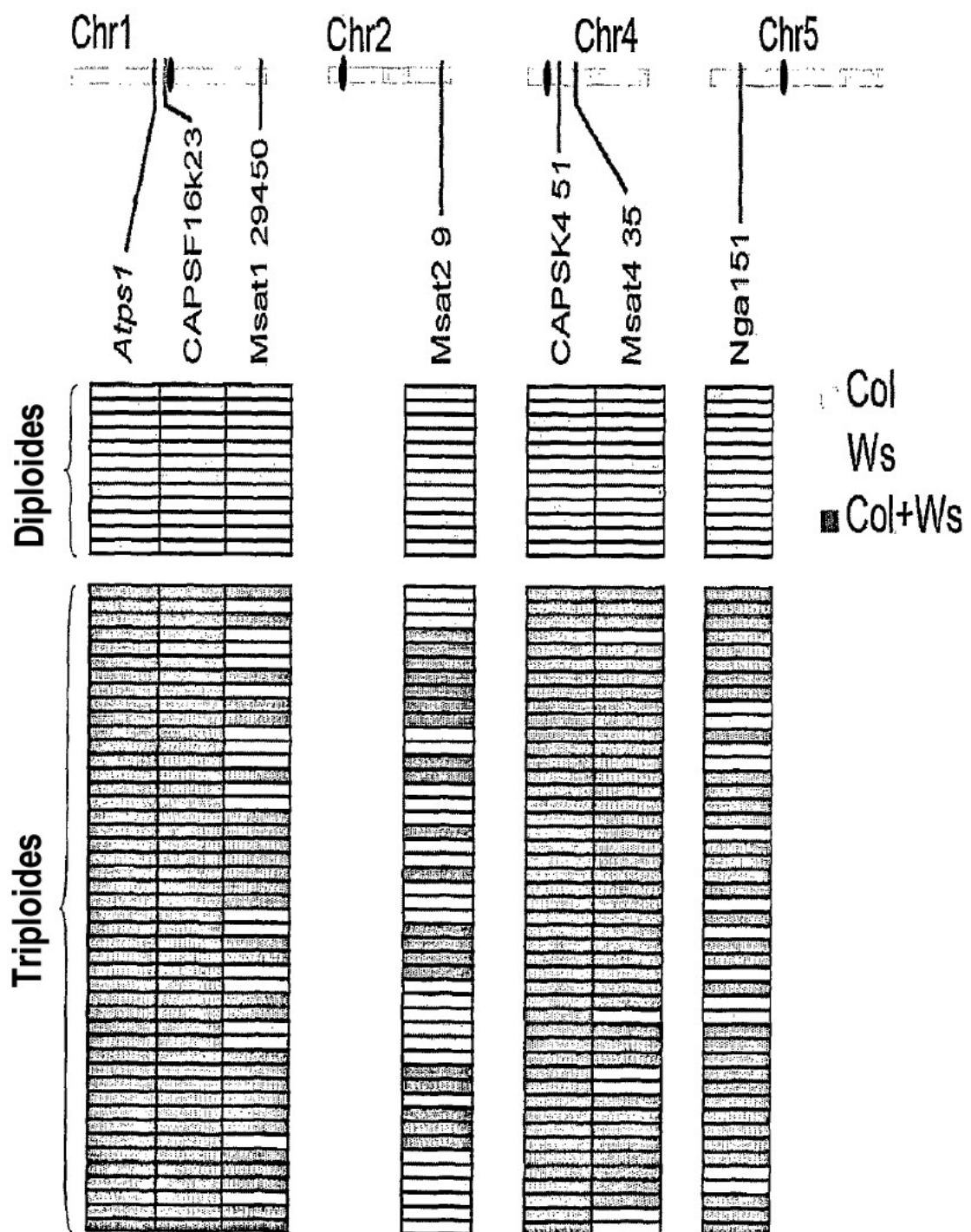


Figura 7

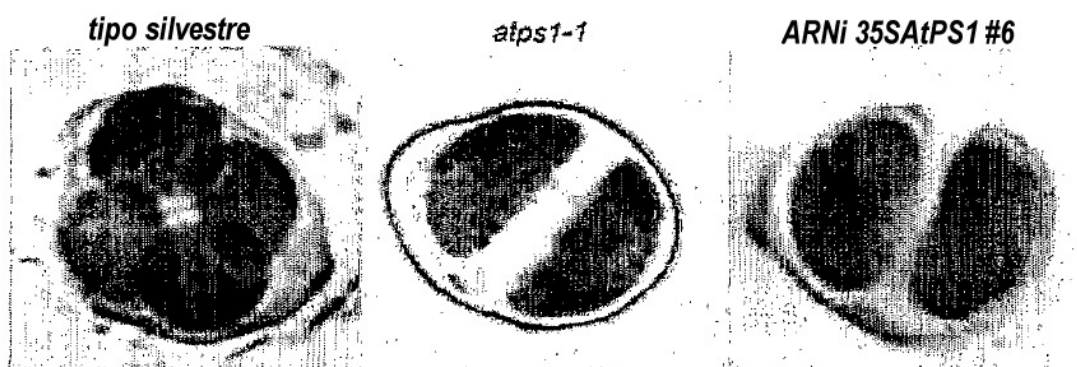


Figura 8

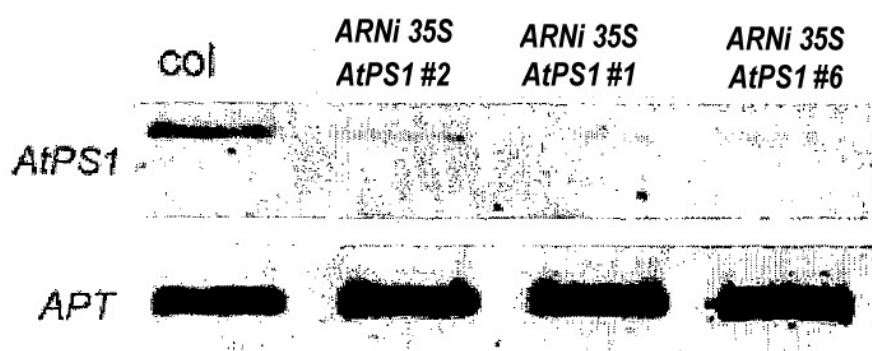


Figura 9