



OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11) Número de publicación: 2 451 669

51 Int. Cl.:

C12N 15/82 (2006.01) A01H 1/00 (2006.01) C07K 14/415 (2006.01)

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: 02.08.2007 E 07788181 (1)

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: 08.01.2014 EP 2054516

(54) Título: Plantas que tienen características mejoradas y un procedimiento de fabricación de las mismas

(30) Prioridad:

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente: 28.03.2014

(73) Titular/es:

CROPDESIGN N.V. (100.0%) TECHNOLOGIEPARK 3 9052 ZWIJNAARDE, BE

(72) Inventor/es:

FRANKARD, VALERIE; MIRONOV, VLADIMIR; REUZEAU, CHRISTOPHE y SANZ MOLINERO, ANA ISABEL

(74) Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

DESCRIPCIÓN

Plantas que tienen características mejoradas y un procedimiento de fabricación de las mismas

5

30

35

40

45

50

La presente invención se refiere, en general, al campo de la biología molecular y se refiere a un procedimiento para mejorar diversas características de las plantas modulando en una planta la expresión de un ácido nucleico que codifica una PRC (Proteína Relacionada con el Crecimiento). La presente invención también se refiere a plantas que tienen expresión modulada de un ácido nucleico que codifica un polipéptido de PRC cuyas plantas tienen características mejoradas con respecto a las plantas de tipo silvestre correspondientes u otras plantas de control. La invención también proporciona construcciones útiles en los procedimientos de la invención.

La constante cada vez mayor población mundial y la disminución de suministro de tierra cultivable disponible para la agricultura incentivan la investigación hacia el aumento de la eficiencia de la agricultura. Los medios convencionales para mejoras de cultivo y hortícolas utilizan técnicas de siembra selectivas para identificar plantas que tienen características deseables. Sin embargo, dichas técnicas de siembra selectivas tienen diversos inconvenientes, concretamente que estas técnicas son típicamente laboriosas y producen plantas que a menudo contienen componentes genéticos heterogéneos que no siempre pueden producir el rasgo deseable que se transmite desde la planta progenitora. Los avances en biología molecular han permitido a la humanidad modificar el plasma germinal de animales y plantas. La ingeniería genética de las plantas implica el aislamiento y manipulación del material genético (típicamente en forma de ADN o ARN) y la introducción posterior de ese material genético en una planta. Dicha tecnología tiene la capacidad de producir cultivos o plantas que tienen diversos rasgos económicos, agronómicos u hortícolas mejorados.

Un rasgo de interés económico particular es el aumento del rendimiento. El rendimiento se define normalmente como el producto medible de valor económico de un cultivo. Esto puede definirse en términos de cantidad y/o calidad. El rendimiento depende directamente de diversos factores, por ejemplo, número y tamaño de los órganos, arquitectura de la planta (por ejemplo, del número de ramas), rendimiento de semillas, senescencia de las hojas y más factores. El desarrollo de raíces, la absorción de nutrientes, la tolerancia al estrés, y el vigor temprano también pueden ser factores importantes en la determinación del rendimiento. Por lo tanto, optimizar los factores mencionados anteriormente puede contribuir a aumentar el rendimiento del cultivo.

El rendimiento de las semillas es un rasgo particularmente importante, ya que las semillas de muchas plantas son importantes para la nutrición humana y animal. Cultivos tales como maíz, arroz, trigo, canola y soja representan más de la mitad de la ingesta calórica humana total, bien a través del consumo directo de las propias semillas o a través del consumo de productos cárnicos generados sobre semillas procesadas. También son una fuente de azúcares, aceites y muchos tipos de metabolitos utilizados en los procesos industriales. Las semillas contienen un embrión (la fuente de nuevos brotes y raíces) y un endospermo (la fuente de nutrientes para el crecimiento del embrión durante la germinación y durante el crecimiento temprano de las plántulas). El desarrollo de una semilla implica muchos genes y requiere la transferencia de los metabolitos desde las raíces, hojas y tallos al interior de la semilla en crecimiento. El endospermo, en particular, asimila los precursores metabólicos de los carbohidratos, aceites y proteínas y los sintetiza en macromoléculas de almacenamiento para llenar el grano.

Otro rasgo importante para muchos cultivos es el vigor temprano. Mejorar el vigor temprano es un objetivo importante de programas de siembra de arroz modernos en variedades de cultivo de arroz tanto de clima templado como tropical. Las raíces largas son importantes para el anclaje adecuado al suelo en arroz sembrado en agua. Cuando el arroz se siembra directamente en campos inundados, y cuando las plantas deben emerger rápidamente a través del agua, se asocian brotes con mayor vigor. Cuando se practica siembra con perforación, para la buena emergencia de las plántulas, son importantes mesocótilos y coleóptilos más grandes. La capacidad de modificar genéticamente el vigor temprano en plantas sería de gran importancia en la agricultura. Por ejemplo, el pobre vigor temprano ha sido una limitación para la introducción de híbridos de maíz (Zea mays L.) basados en plasma germinal del Cinturón de Maíz en el Atlántico Europeo.

Un rasgo importante adicional es el de tolerancia mejorada al estrés abiótico. El estrés abiótico es la causa principal de pérdidas de cultivo en todo el mundo, reduciendo las producciones promedio para la mayoría de las plantas de cultivo principales en más de un 50 % (Wang y col., Planta (2003) 218: 1-14). El estrés abiótico puede producirse por sequía, salinidad, temperaturas extremas, toxicidad química y estrés oxidativo. La capacidad de mejorar la tolerancia de la planta al estrés abiótico sería de gran ventaja económica para los granjeros de todo el mundo y permitiría la cosecha de cultivos durante condiciones adversas y en territorios cuando la cosecha de cultivos no pueda ser posible de otra forma.

Por lo tanto el rendimiento del cultivo puede aumentarse al optimizar uno de los factores mencionados anteriormente.

Dependiendo del uso final, la modificación de determinados rasgos de rendimiento puede estar favorecida sobre otros. Por ejemplo, para aplicaciones tales como forraje o producción de madera, o fuente de biocombustible, puede ser deseable un aumento en las partes vegetativas de una planta, y para aplicaciones tales como producción de harina, almidón o aceite, el aumento en los parámetros de semilla puede ser particularmente deseable. Incluso entre

los parámetros de semilla, algunos pueden estar favorecidos sobre otros, dependiendo de la aplicación. Diversos mecanismos pueden contribuir a aumentar el rendimiento de semillas, ya sea que esté en la forma de tamaño de semilla aumentado o número de semilla aumentado.

Una estrategia para aumentar el rendimiento (rendimiento de semillas y/o biomasa) en plantas puede ser a través de la modificación de los mecanismos de crecimiento intrínsecos de una planta, tal como el ciclo celular o diversas rutas de señalización implicados en el crecimiento de la planta o en los mecanismos de defensa.

Ahora se ha descubierto que en las plantas pueden mejorarse diversas características modulando, en una planta, la expresión de un ácido nucleico que codifica un polipéptido PRC (Proteína Relacionada con el Crecimiento) en una planta. El polipéptido PRC, como se describe en el presente documento, es un polipéptido de Anquirina con dedo de Cinc (AZ). Las características mejoradas comprenden rasgos relacionados con el rendimiento, tales como rendimiento aumentado y/o crecimiento aumentado, o contenido de compuestos de almacenamiento modificados.

Antecedentes

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

Polipéptido de Anquirina con dedo de Cinc

La biomasa vegetal se produce para cultivos de forraie como alfalfa, ensilaie de maíz y heno. En los cultivos de grano se han utilizado muchos indicadores para el rendimiento. El principal entre ellos son las estimaciones del tamaño de la planta. El tamaño de la planta puede medirse de diversas maneras dependiendo de la especie y de la fase de desarrollo, aunque incluye el peso seco total de la planta, el peso seco sobre la superficie, el peso fresco sobre la superficie, el área foliar, el volumen del tallo, la altura de la planta, el diámetro de roseta, la longitud foliar, la longitud radicular, la masa radicular, el número de retoños y número de hojas. Muchas especies mantienen una proporción conservativa entre el tamaño de las diferentes partes de la planta en una fase de desarrollo determinada. Estas relaciones alométricas se usan para extrapolar desde una de estas medidas de tamaño a otras (por ejemplo, Tittonell y col. 2005 Agric Ecosys & Environ 105: 213). El tamaño de la planta en una fase de desarrollo temprana se correlacionará típicamente con el tamaño de la planta más tarde en el desarrollo. Una planta más grande con mayor área foliar típicamente puede absorber más luz y dióxido de carbono que una planta más pequeña y por tanto probablemente obtendrá mayor peso durante el mismo período (Fasoula & Tollenaar 2005 Maydica 50: 39). Esto es por lo que, además de la posible continuación de la ventaja microambiental o genética, la planta ha de alcanzar inicialmente el tamaño más grande. Existe un fuerte componente genético con respecto al tamaño de la planta y la tasa de crecimiento (por ejemplo, ter Steege et al 2005 Plant Physiology 139: 1078) y por eso para un intervalo de tamaño de planta de genotipos diversos en una condición ambiental se correlaciona posiblemente con el tamaño en otra (Hittalmani y col. 2003 Theoretical Applied Genetics 107: 679). De este modo se usa un entorno estándar como un indicador para los entornos diversos y dinámicos encontrados en diferentes localizaciones y tiempos por los cultivos en el campo.

El índice de cosecha, la proporción de rendimiento de semilla con respecto al peso seco sobre la superficie, es relativamente estable en muchas condiciones ambientales y por tanto a menudo puede obtenerse una fuerte correlación entre el tamaño de la planta y el rendimiento de grano (por ejemplo Rebetzke y col. 2002 Crop Science 42: 739). Estos procesos están intrínsecamente relacionados porque la mayoría de la biomasa en grano es dependiente de la productividad fotosintética normal o almacenada por las hojas y los tallos de la planta (Gardener y col. 1985 Physiology of Crop Plants. Iowa State University Press, págs. 68-73) Por lo tanto, la selección del tamaño de la planta, incluso en fases tempranas del desarrollo, se ha usado como un indicador para futuras posibles producciones (por ejemplo Tittonell y col. 2005 Agric Ecosys & Environ 105: 213). Cuando se analiza el impacto de las diferencias genéticas sobre la tolerancia al estrés, la capacidad de normalizar las propiedades del suelo, temperatura, disponibilidad de agua y nutrientes e intensidad de luz es una ventaja intrínseca de los entornos de invernaderos o cámaras de cultivo de plantas en comparación con el campo. Sin embargo, limitaciones artificiales sobre producciones debidas a una mala polinización por ausencia de viento o de insectos, o espacio insuficiente para la maduración de las raíces o crecimiento del dosel arbóreo, pueden restringir el uso de estos entornos controlados para analizar diferencias de rendimiento. Por lo tanto, las mediciones del tamaño de las plantas en el desarrollo temprano, en condiciones normalizadas en una cámara de cultivo o en un invernadero, son prácticas convencionales para proporcionar indicaciones de las posibles ventajas de rendimiento genético.

La transcripción se realiza mediante ARN polimerasas. Estas polimerasas están normalmente asociadas con otras proteínas (factores de transcripción) que determinan la especificidad de los procesos de transcripción. Los factores de transcripción se unen a elementos reguladores en cis del gen y también pueden mediar en la unión de otras proteínas reguladoras. Stegmaier y col. propusieron una clasificación de factores de transcripción basándose en sus dominios de unión a ADN. Se diferenciaron 5 superclases, basándose en la presencia de: 1) dominios básicos, 2) dominios de coordinación de cinc, 3) dominios hélice-giro-hélice, 4) dominios con estructura beta con contactos en surco menor y 0) otros dominios (Stegmaier y col., Genome informatics 15, 276-286, 2004). El grupo de factores de transcripción que comprenden dominios de coordinación de cinc es muy diverso y adicionalmente puede clasificarse de acuerdo con sus restos de cisteína e histidina conservados, incluyendo los dominios WRKY, grupos de cinc C6, dominios DM y GCM.

Además de motivos de unión a ADN, los factores de transcripción también pueden comprender motivos de

interacción proteína-proteína. Un motivo de este tipo es el motivo de anquirina. Este está presente en muchas familias de proteínas diversas, normalmente como una repetición de 2 a más de 20 unidades. Cada unidad contiene dos hélices antiparalelas y una horquilla beta.

Aunque muchas proteínas vegetales con dominios de dedo de cinc están bien caracterizadas, se sabe poco sobre proteínas vegetales que comprendan el motivo de dedo de cinc C3H1. PEI1, un factor de transcripción que según se informa desempeña una función en el desarrollo embrionario, tiene un motivo de dedo de cinc que se asemeja al motivo C3H1 pero carece de un motivo de anquirina (Li y Thomas, Plant Cell 10, 383-398, 1998). El documento WO 02/44389 describe AtSIZ, un factor de transcripción aislado de *Arabidopsis*. Se descubrió que la expresión de *AtSIZ* bajo el control del promotor CaMV35S promovía la transcripción de genes inducidos por estrés y, según se informa, plantas con expresión de *AtSIZ* aumentada tenían una tasa de supervivencia más alta bajo estrés salino en comparación con las plantas de control, pero no se proporcionó ningún análisis con respecto al rendimiento de semillas. Se postuló que AtSIZ podía usarse en plantas para aumentar la resistencia al estrés osmótico.

Sumario

5

10

15

30

35

40

45

50

55

Sorprendentemente, ahora se ha descubierto que la modulación de la expresión de un ácido nucleico que codifica un polipéptido PRC proporciona plantas que tienen características mejoradas con respecto a plantas de control.

La presente memoria descriptiva describe que la modulación de la expresión en una planta de un ácido nucleico que codifica el polipéptido AZ de *Arabidopsis* (AtAZ) o un homólogo del mismo proporciona plantas que tienen rendimiento aumentado con respecto a plantas de control.

La memoria descriptiva describe un procedimiento para aumentar el rendimiento de las plantas, que comprende modular en una planta la expresión de un ácido nucleico que codifica el polipéptido AZ o un homólogo del mismo. Ventajosamente, la realización de los procedimientos de acuerdo con la presente invención produce plantas con rendimiento aumentado, particularmente rendimiento de semillas, con respecto a plantas de tipo silvestre correspondientes. La presente memoria descriptiva también describe secuencias de ácido nucleico y construcciones útiles en la realización de dichos procedimientos.

La presente invención proporciona la materia objeto como se expone en uno cualquiera y en todos los puntos (1) (22) indicados a continuación:

- 1. Un procedimiento para aumentar el rendimiento de semillas de plantas con respecto a plantas de tipo silvestre correspondientes, que comprende introducir y expresar en una planta un ácido nucleico AZ o una variante del mismo, en el que dicho ácido nucleico AZ codifica un polipéptido AZ o un homólogo del mismo, en el que el homólogo proporciona plantas que tienen rendimiento aumentado, y en el que dicho polipéptido AZ o el homólogo del mismo comprende dos repeticiones de anquirina y dos dominios C3H1 de dedo de cinc, y en el que dichas repeticiones de anquirina se localizan aguas arriba de los dominios C3H1 de dedo de cinc.
- 2. Un procedimiento de acuerdo con el punto 1, en el que polipéptido AZ comprende al menos uno de los siguientes motivos:

(P/A)CSRAY(S/T)HDWTEC (motivo 1, SEC ID N°: 3) HPGENARRDPR (motivo 2, SEC ID N°: 4) HG(V/I)FE(C/S)WLHP(A/S)QY(R/K)TRLCK (motivo 3, SEC ID N°: 5) CFFAH (motivo 4, SEC ID N°: 6).

- 3. El procedimiento de acuerdo con el punto 1 o 2, en el dicho ácido nucleico AZ codifica un polipéptido AZ de SEC ID Nº: 2: o un homólogo del mismo.
- 4. El procedimiento de acuerdo con uno cualquiera de los puntos 1 a 3, en el que dicha variante es una parte de un ácido nucleico AZ o una secuencia capaz de hibridarse con un ácido nucleico AZ, cuya parte o secuencia de hibridación codifica un polipéptido AZ que comprende dos repeticiones de anquirina y dos dominios de dedo de cinc C3H1, y en el que dichas repeticiones de anquirina se localizan aguas arriba de los dominios de dedo de cinc C3H1.
- 5. El procedimiento de acuerdo con uno cualquiera de los puntos 1 a 4, en el que dicho ácido nucleico AZ o variante del mismo se sobreexpresa en una planta.
- 6. El procedimiento de acuerdo con uno cualquiera de los puntos 1 a 5, en el que dicho ácido nucleico AZ o variante del mismo es de origen vegetal, preferentemente de una planta dicotiledónea, más preferentemente de la familia *Brassicaceae*, más preferentemente el ácido nucleico es de *Arabidopsis thaliana*.
- 7. El procedimiento de acuerdo con uno cualquiera de los puntos 1 a 6, en el que dicho ácido nucleico AZ o variante del mismo está unido operativamente a un promotor específico de semilla.
- 8. El procedimiento de acuerdo con el punto 7, en el que dicho promotor específico de semilla es un promotor WSI18.
- 9. El procedimiento de acuerdo con uno cualquiera de los puntos 1 a 8, en el que dicha rendimiento de semilla aumentada comprende peso de mil granos aumentado.
 - 10. Una construcción que comprende:
 - (i) un ácido nucleico AZ o una variante del mismo como se define en cualquiera de los puntos 1 a 4 y 6;

- (ii) un promotor WSI18 específico de semilla o un promotor GOS2 constitutivo unido operativamente a la secuencia de ácido nucleico de (i).
- 11. Una construcción de acuerdo con el punto 10, en el que dicho promotor WSI18 es como se representa en la SEC ID Nº 55 o SEC ID Nº 9.
- 12. Una construcción de acuerdo con el punto 10, en el que dicho promotor GOS2 es como se representa en la SEC ID Nº 56 o SEC ID Nº 54.
 - 13. Una planta transformada con una construcción de acuerdo con uno cualquiera de los puntos 10 a 12.
 - 14. Un procedimiento para la producción de una planta transgénica que tiene rendimiento de semilla aumentado en comparación con plantas de tipo silvestre correspondientes, cuyo procedimiento comprende:
 - (i) introducir y expresar en una planta o en una célula de planta un ácido nucleico AZ o variante del mismo como se define en cualquiera de los puntos 1 a 4 y 6; y
 - (ii) cultivar la célula de planta en condiciones que promuevan el crecimiento y desarrollo de la planta,
 - 15. Una planta transgénica de acuerdo con el punto 13, en la que dicha planta es una planta monocotiledónea tal como caña de azúcar o en la que la planta es un cereal, tal como arroz, maíz, trigo, cebada, mijo, centeno, avena o sorgo.
 - 16. Partes cosechables de una planta de acuerdo uno cualquiera de los puntos 13 o 15, en las que dichas partes cosechables comprenden una construcción de acuerdo con uno cualquiera de los puntos 10 a 12.
 - 17. Partes cosechables de una planta de acuerdo con el punto 16 en las que dichas partes cosechables son semillas
- 20 18. Productos directamente derivados de una planta de acuerdo con el punto 13 o 15 y/o de partes cosechables de una planta de acuerdo con los puntos 16 o 17, en los que dichos productos comprenden una construcción de acuerdo con uno cualquiera de los puntos 10 a 12.
 - 19. El uso de un ácido nucleico AZ o variante del mismo como se define en cualquiera de los puntos 1 a 4 y 6, o el uso de un polipéptido AZ o un homólogo del mismo, en el rendimiento de semillas aumentado, con respecto a plantas de tipo silvestre correspondientes.
 - 20. El uso de acuerdo con el punto 19, en el que dicha rendimiento de semillas aumentada comprende el peso de mil granos aumentado.
 - 21. El uso de un ácido nucleico AZ o variante del mismo como se define en cualquiera de los puntos 1 a 4 y 6, o el uso de un polipéptido AZ o un homólogo del mismo, como un marcador molecular.
 - 22. El uso de una construcción de acuerdo con cualquiera de los puntos 10 a 12 en un procedimiento para fabricar plantas que tengan rendimiento de semillas aumentado con respecto a plantas de control.

Definiciones

5

10

15

25

30

40

45

Polipéptido(s)/Proteína(s)

Los términos "polipéptido" y "proteína" se usan indistintamente en el presente documento y se refieren a aminoácidos en una forma polimérica de cualquier longitud, unidos entre sí por enlaces peptídicos.

Polinucleótido(s)/Ácido(s) nucleico(s)/Secuencia(s) de ácidos nucleicos/Secuencia(s) de nucleótidos

Los términos "polinucleótido (polinucleótidos)", "secuencia (secuencias) de ácidos nucleicos", "secuencia (secuencias) de nucleótidos", "ácido (ácidos) nucleico (nucleicos)" y "molécula de ácido nucleico" se usan indistintamente en el presente documento y se refieren a nucleótidos, ya sean ribonucleótidos o desoxirribonucleótidos o una combinación de ambos, en una forma no ramificada polimérica de cualquier longitud.

Planta (plantas) de control

La elección de plantas de control adecuadas es una parte rutinaria de un montaje experimental y puede incluir plantas de tipo silvestre correspondientes o plantas correspondientes sin el gen de interés. La planta de control es típicamente de la misma especie de planta o incluso de la misma variedad que la planta que se va a evaluar. La planta de control también puede ser un nulicigoto de la planta que se va a evaluar. Los nulizigotos son individuos que perdieron el transgén por segregación. Una "planta de control" como se usa en el presente documento no solo se refiere a plantas completas, sino también a partes de planta, que incluye semillas y partes de semilla.

Homólogo/ (homólogos)

Los "homólogos" de una proteína incluyen péptidos, oligopéptidos, polipéptidos, proteínas y enzimas que tienen sustituciones, deleciones y/o inserciones de aminoácidos con relación a la proteína no modificada en cuestión y que tienen actividad biológica y funcional similar como la proteína no modificada de la cual derivan.

Una deleción se refiere a la eliminación de uno o más aminoácidos de una proteína.

Una inserción se refiere a uno o más restos de aminoácido que se introducen en un sitio predeterminado en una proteína. Las inserciones pueden comprender fusiones de N y/o C terminal así como inserciones intra-secuencia de

un solo aminoácido o múltiples aminoácidos. De manera general, las inserciones dentro de la secuencia de aminoácidos serán más pequeñas que las fusiones de N o C terminal, del orden de aproximadamente 1 a 10 restos. Ejemplos de las proteínas de fusión de N o C terminal o péptidos incluyen el dominio de unión o dominio de activación de un activador transcripcional como se utiliza en el sistema de doble híbrido de levadura, proteínas de cubierta de fago, etiqueta de (histidina)- 6, etiqueta de glutatión S-transferasa, proteína A, proteína de unión a maltosa, dihidrofolato reductasa, epítope Tag•100, epítope c-myc, epítope FLAG[®], lacZ, CMP (péptido de unión a calmodulina), epítope HA, epítope de proteína C y epítope VSV.

Una sustitución se refiere a un reemplazo de aminoácidos de la proteína con otros aminoácidos que tienen propiedades similares (tales como hidrofobicidad similar, hidrofilicidad, antigenicidad, propensión para formar o romper estructuras α -helicoidales o estructura β -laminares). Las sustituciones de aminoácido son típicamente de restos únicos, pero pueden agruparse dependiendo de las limitaciones funcionales puestas al polipéptido; las inserciones serán normalmente del orden de aproximadamente 1 a 10 restos de aminoácido. Las sustituciones de aminoácido son preferentemente sustituciones de aminoácido conservativas. En la técnica se conocen bien las tablas de sustitución conservativas (véase, por ejemplo, Creighton (1984) Proteins. W.H. Freeman y Company (Eds) y Tabla 1 más adelante).

Resto	Sustituciones conservativas	Restos	Sustituciones conservativas
Ala	Ser	Leu	Ile; Val
Arg	Lys	Lys	Arg; Gln
Asn	Gln; His	Met	Leu; lle
Asp	Glu	Phe	Met; Leu; Tyr
Gln	Asn	Ser	Thr; Gly
Cys	Ser	Thr	Ser; Val
Glu	Asp	Trp	Tyr
Gly	Pro	Tyr	Trp; Phe
His	Asn; Gln	Val	lle; Leu
lle	Leu, Val		

Tabla 1: Ejemplos de sustituciones de aminoácido conservativas

Las sustituciones, deleciones y/o inserciones de aminoácido pueden realizarse fácilmente utilizando técnicas sintéticas de péptidos bien conocidas en la técnica, tal como síntesis peptídica de fase sólida y similares, o por manipulación de ADN recombinante. Se conocen bien en la técnica los procedimientos para la manipulación de secuencias de ADN para producir variantes de sustitución, inserción o deleción de una proteína. Por ejemplo, técnicas para realizar mutaciones de sustitución en sitios predeterminados en ADN son bien conocidas por aquellos expertos en la técnica e incluyen mutagénesis M13, mutagénesis *in vitro* T7-Gen (USB, Cleveland, OH), mutagénesis dirigida a sitio QuickChange (Stratagene, San Diego, CA), mutagénesis dirigida a sitio mediada por PCR u otros protocolos de mutagénesis dirigida a sitio.

25 <u>Derivados</u>

20

30

35

5

10

15

Los "derivados" incluyen péptidos, oligopéptidos, polipéptidos que pueden, en comparación con la secuencia de aminoácidos de forma natural de la proteína, tal como la proteína de interés, comprender sustituciones de aminoácidos con restos de aminoácido de origen no natural o adiciones de restos de aminoácido de origen no natural. Los "derivados" de una proteína también incluyen péptidos, oligopéptidos, polipéptidos que comprenden restos de aminoácido modificados de origen natural (glucosilado, acilado, prenilado, fosforilado, miristoilado, sulfatado, etc.) o modificados no origen no natural en comparación con la secuencia de aminoácidos de forma no natural del polipéptido. Un derivado también puede comprender uno o más sustituyentes o adiciones no aminoácido en comparación con la secuencia de aminoácidos de la que deriva, por ejemplo, una molécula indicadora u otro ligando, unido covalente o no covalentemente a la secuencia de aminoácidos, tal como una molécula indicadora que se une para facilitar su detección, y restos de aminoácido que no son de origen natural con respecto a la secuencia de aminoácidos de una proteína de origen natural. Además, los "derivados" también incluyen fusiones de la forma de origen natural de la proteína con péptidos etiquetadores tal como FLAG, HIS6 o tiorredoxina (para una revisión de péptidos etiquetadores, véase Terpe, Appl. Microbiol. Biotechnol. 60, 523-533, 2003).

Ortólogo(s)/Parálogo(s)

Los ortólogos y parálogos incluyen conceptos evolutivos utilizados para describir las relaciones antecesoras de los genes. Los parálogos son genes dentro de la misma especie que se han originado a través de la duplicación de un gen antecesor; los ortólogos son genes de diferentes organismos que se han originado a través de especiación y también derivan de un gen antecesor común.

Dominio

5

10

35

40

45

50

55

El término "dominio" se refiere a un conjunto de aminoácidos conservados en posiciones específicas a lo largo de un alineamiento de secuencias de las proteínas evolutivamente relacionadas. Aunque los aminoácidos en otras posiciones pueden variar entre los homólogos, los aminoácidos que son altamente conservados en posiciones específicas indican aminoácidos que son probablemente esenciales en la estructura, estabilidad o función de una proteína. Identificado por su alto grado de conservación en las secuencias alienadas de una familia de homólogos de proteína, éstas pueden utilizarse como identificadores para determinar si cualquier polipéptido en cuestión pertenece a una familia polipeptídica previamente identificada.

Motivo/Secuencia consenso/Firma

La expresión "motivo" o "secuencia consenso" o "firma" se refiere a una región conservada corta en la secuencia de las proteínas evolutivamente relacionadas. Los motivos son partes de dominios frecuentemente muy conservadas, pero también pueden incluir solo parte del dominio, o se ubican fuera del dominio conservado (si todos los aminoácidos del motivo caen fuera de un dominio definido).

<u>Hibridación</u>

El término "hibridación" como se define en el presente documento es un proceso en el que la secuencia de nucleótidos complementaria sustancialmente homóloga hibrida entre sí. El proceso de hibridación puede producirse completamente en la solución, es decir, ambos ácidos nucleicos complementarios están en la solución. El proceso de hibridación también puede producirse con uno de los ácidos nucleicos complementarios inmovilizado en una matriz tal como perlas magnéticas, perlas de Sefarosa o cualquier otra resina. El proceso de hibridación puede producirse adicionalmente cuando uno de los ácidos nucleicos complementarios inmovilizados en un soporte sólido, tal como una membrana de nitrocelulosa o de nailon o se inmoviliza mediante, por ejemplo, fotolitografía a, por ejemplo, un soporte vítreo silíceo (el último conocido como matrices o micromatrices de ácido nucleico o como microplacas de ácido nucleico). Con el fin de permitir que ocurra la hibridación, las moléculas de ácido nucleico de manera general se desnaturalizan térmica o químicamente para fundir una doble cadena en dos cadenas únicas y/o para retirar horquillas u otras estructuras secundarias de ácidos nucleicos de cadena sencilla.

El término "rigurosidad" se refiere a las condiciones bajo las cuales se produce la hibridación. La rigurosidad de la hibridación está influenciada por condiciones tales como temperatura, concentración de sal, fuerza iónica y composición del tampón de hibridación. Generalmente se seleccionan condiciones de baja rigurosidad por ser aproximadamente 30 °C menores que el punto de fusión térmico (T_m) para la secuencia específica a una fuerza iónica definida y pH. Las condiciones de rigurosidad media son cuando la temperatura es 20 °C por debajo de la T_m y las condiciones de rigurosidad alta son cuando la temperatura es 10 °C por debajo de la T_m. Las condiciones hibridación de rigurosidad alta se usan típicamente para aislar las secuencias de hibridación que tienen alta similitud de secuencia con la secuencia de ácido nucleico diana. Sin embargo, los ácidos nucleicos pueden desviarse en cuanto a la secuencia y aún codificar un polipéptido sustancialmente idéntico, debido a la degeneración del código genético. Por lo tanto, algunas veces pueden necesitarse condiciones de hibridación de rigurosidad media para identificar dichas moléculas de ácidos nucleicos.

La Tm es la temperatura bajo fuerza iónica definida y pH, en la que el 50 % de la secuencia diana se hibrida con una sonda perfectamente emparejada. La T_m depende de las condiciones de solución y de la composición base y longitud de la sonda. Por ejemplo, las secuencias más largas hibridan específicamente a temperaturas más altas. El índice máximo de hibridación se obtiene de aproximadamente 16 °C hasta 32 °C por debajo de la T_m. La presencia de cationes monovalentes en la solución de hibridación reduce la repulsión electrostática entre las dos cadenas de ácido nucleico que promueven por lo tanto la formación del híbrido; este efecto es visible para concentraciones de sodio de hasta 0,4 M (para concentraciones más elevadas, este efecto puede ignorarse). La formamida reduce la temperatura de fusión de dúplex ADN-ADN y ADN-ARN con 0,6 a 0,7 °C para cada porcentaje de formamida y la adición de formamida al 50 % permite que se realice la hibridación de 30 a 45 °C, aunque se disminuirá el índice de hibridación. Los emparejamientos erróneos de los pares de bases reducen el índice de hibridación y la estabilidad térmica de los dúplex. En promedio y para sondas grandes, la Tm disminuye aproximadamente 1 °C por % de emparejamiento erróneo de bases. La Tm puede calcularse utilizando las siguientes ecuaciones, dependiendo de los tipos de híbridos:

1) Híbridos de ADN-ADN (Meinkoth y Wahl, Anal. Biochem., 138: 267-284, 1984):

 $T_m = 81.5 \text{ °C} + 16.6 \text{ x } \log_{10} [\text{Na}^{\dagger}]^a + 0.41 \text{ x } \% [\text{G/C}^b] - 500 \text{ x } [\text{L}^c]^{-1} - 0.61 \text{ x } \% \text{ formamida}$

2) Híbridos de ADN-ARN o ARN-ARN:

$$T_m = 79.8 \text{ }^{\circ}\text{C} + 18.5 (\log_{10} [\text{Na}^{\dagger}]^a) + 0.58 \text{ x } (\% \text{ G/C}^b) - 11.8 (\% \text{ G/C}^b)^2 - 820/\text{L}^c$$

3) Híbridos de oligo-ADN u oligo ARNd

Para <20 nucleótidos: $T_m = 2 (I_n)$

Para 20-25 nucleótidos: $T_m = 22 + 1,46 (I_n)$

5

20

25

30

35

45

La unión no específica puede controlarse usando uno cualquiera de un número de técnicas conocidas tal como, por ejemplo, bloqueo de la membrana con soluciones que contienen la proteína, adiciones del ARN heterólogo, ADN y SDS heterólogo al tampón de hibridación y tratamiento con Rnasa. Para sondas no homólogas, puede realizarse una serie de hibridaciones al variar uno de (i) disminuir progresivamente la temperatura de hibridación (por ejemplo de 68 ° C a 42 °C) o (ii) disminuir progresivamente la concentración de formamida (por ejemplo de 50 % al 0 %). El experto en la técnica es consciente de que durante la hibridación pueden alterarse diversos parámetros y que se mantendrán o cambiarán las condiciones de rigurosidad.

Además de las condiciones de hibridación, la especificidad de hibridación también depende típicamente de la función de lavados post-hibridación. Para retirar el fondo resultante de la hibridación no específica, las muestras se lavan con soluciones salinas diluidas. Los factores críticos de dichos lavados incluyen la fuerza iónica y la temperatura de la solución de lavado final: la menor concentración de sal y la mayor temperatura de lavado, la mayor rigurosidad de lavado. Las condiciones de lavado se realizan típicamente a o por debajo de la rigurosidad de hibridación. Una hibridación positiva proporciona una señal que es al menos dos veces la del fondo. Generalmente, las condiciones de rigurosidad adecuadas para los ensayos de hibridación de ácido nucleico o los procedimientos de detección de amplificación de genes son como se establecieron anteriormente. También pueden seleccionarse condiciones más o menos rigurosas. El experto en la técnica es consciente de diversos parámetros que pueden alterarse durante el lavado y que mantendrán o cambiarán las condiciones de rigurosidad.

Por ejemplo, las condiciones de hibridación de alta rigurosidad típicas para híbridos de ADN mayores de 50 nucleótidos incluyen hibridación a 65 ° C en 1x SSC o a 42 °C en 1x SSC y formamida al 50 %, seguido de lavado a 65 ° C en 0,3 x SSC. Ejemplos de condiciones de hibridación de rigurosidad media para híbridos de ADN mayores de 50 nucleótidos incluyen hibridación a 50 °C en 4x SSC o a 40 °C en 6x SSC y formamida al 50 %, seguido de lavado a 50 °C en 2x SSC. La longitud del híbrido es la longitud prevista para la hibridación del ácido nucleico. Cuando los ácidos nucleicos de la secuencia conocida se hibridan, la longitud del híbrido puede determinarse alineando las secuencias e identificando las regiones conservadas descritas en el presente documento. 1xSSC es NaCl 0,15M y citrato sódico 15 mM; la solución de hibridación y las soluciones de lavado pueden incluir adicionalmente reactivo de Denhard 5x, SDS 0,5-1,0 %, 100 μ g/ml de ADN de espera de salmón fragmentado, desnaturalizado, pirofosfato sódico al 0,5 %.

Con objeto de definir el nivel de rigurosidad, puede hacerse referencia a Sambrook y col. (2001) Molecular Cloning: a laboratory manual, 3ª edición, Cold Spring Harbor Laboratory Press, CSH, Nueva York o a Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, N.Y. (1989 y actualizaciones anuales).

40 Variante de corte y empalme

El término "variante de corte y empalme" como se usa en el presente documento incluye variantes de una secuencia de ácido nucleico en la que los intrones y/o exones seleccionados se han escindido, reemplazado, desplazado o añadido, o en la que los intrones se han acortado o alargado. Dichas variantes serán unas en las que la actividad biológica de la proteína se conserva sustancialmente; esto puede conseguirse conservando selectivamente los segmentos funcionales de la proteína. Dichas variantes de corte y empalme pueden encontrarse en la naturaleza o pueden ser fabricadas por el hombre. Los procedimientos para predecir y aislar dichas variantes de corte y empalme son bien conocidos en la técnica (véase por ejemplo, Foissac y Schiex (2005) BMC Bioinformatics 6: 25).

Variante alélica

Los alelos o variantes alélicas son formas alternativas de un gen determinado, localizado en la misma posición cromosómica. Las variantes alélicas incluyen Polimorfismos Mononucleotídicos (SNP), así como Polimorfismos de Inserción/Deleción pequeños (INDEL). El tamaño de INDEL es normalmente menor de 100 pb. Los SNP e INDEL forman el grupo de variantes de secuencia más grande en las cepas polimórficas de origen natural de la mayoría de los organismos.

ao para otro catión monovalente, pero solo exacto en el intervalo 0,01-0,4 M.

^b solo exacto para % GC en el intervalo de 30 % a 75 %.

^c L = longitud de dúplex en pares de bases.

^d oligo, oligonucleótido; I_n = longitud eficaz del cebador = $2 \times (n^o \text{ de G/C}) + (n^o \text{ de A/T})$.

Combinación de genes/Evolución dirigida

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

La combinación de genes o evolución dirigida consta de iteraciones de combinación de ADN seguido de detección y/o selección apropiada para generar variantes de ácidos nucleicos o partes de las mismas que codifican proteínas que tienen una actividad biológica modificada (Castle y col., (2004) Science 304(5674): 1151-4; Patentes de Estados Unidos Nº 5.811.238 y 6.395.547).

Elemento regulador/Secuencia de control/Promotor

Las expresiones "elemento regulador", "secuencia de control" y "promotor" se utilizan todas indistintamente en el presente documento y se toman en un contexto amplio para referirse a una secuencia de ácidos nucleicos reguladora capaz de efectuar la expresión de las secuencias a las que se unen. El término "promotor" típicamente se refiere a una secuencia de control de ácidos nucleicos localizada en dirección 5' del inicio transcripcional de un gen y que está implicado en el reconocimiento y unión de la ARN polimerasa y otras proteínas, dirigiendo de este modo la transcripción de un ácido nucleico unido operativamente. Incluidas en los términos anteriormente mencionados se encuentran las secuencias reguladoras transcripcionales derivadas de un gen genómico eucariota clásico (que incluye la caja TATA que es necesaria para el inicio de transcripción adecuado, con o sin secuencia de caja CCAAT) y elementos reguladores adicionales (es decir, secuencias activadoras en dirección 5', potenciadores y silenciadores) que alteran la expresión génica en respuesta al desarrollo y/o estímulo externo, o en una forma específica de tejido. También se incluye dentro del término una secuencia reguladora transcripcional de un gen procariota clásico, en cuyo caso puede incluir una secuencia de caja -35 y/o secuencias reguladoras transcripcionales de caja -10. La expresión "elemento regulador" también incluye una molécula de fusión sintética o un derivado que confiere, activa o potencia la expresión de una molécula de ácido nucleico en una célula, tejido u órgano.

Un "promotor de planta" comprende elementos reguladores, que median la expresión de un segmento de secuencia codificante en células de plantas. Por consiguiente, un promotor de planta no necesita ser de origen vegetal, pero puede originarse a partir de virus o microorganismos, por ejemplo de virus que atacan a las células de planta. El "promotor de planta" también puede originarse de una célula de planta, por ejemplo, de la planta que se transforma con la secuencia de ácidos nucleicos a expresar en el proceso de la invención y que se describe en el presente documento. Esto también se aplica a las otras señales reguladoras de "planta", tales como terminadores de "planta". Los promotores en la dirección 5' de la secuencia de nucleótidos útiles en los procedimientos de la presente invención pueden modificarse mediante una o más sustituciones, inserciones y/o deleciones de nucleótido sin interferir con la funcionalidad o actividad de cualquiera de los promotores, la fase de lectura abierta (ORF, *Open Reading Frame*) o la región reguladora e 3' tal como terminadores u otras regiones reguladores 3' que se ubican lejos de la ORF. Además es posible que la actividad de los promotores aumente por modificación de su secuencia o que se reemplacen completamente por más promotores activos, incluso promotores de organismos heterólogos. Para la expresión en plantas, la molécula de ácido nucleico debe, como se ha descrito anteriormente, estar unida operativamente a o comprender un promotor adecuado que exprese el gen de manera adecuada en tiempo y con el patrón de expresión espacial requerido.

Para la identificación de promotores funcionalmente equivalentes, la fuerza del promotor y/o el patrón de expresión de un promotor candidato pueden analizarse, por ejemplo, uniendo operativamente el promotor a un gen indicador y evaluando el nivel de expresión y patrón del gen indicador en diversos tejidos de la planta. Los genes indicadores bien conocidos adecuados incluyen, por ejemplo, beta-glucuronidasa o beta-galactosidasa. La actividad del promotor se evalúa midiendo la actividad enzimática de la beta-glucuronidasa o beta-galactosidasa. El patrón de expresión y/o la fuerza del promotor pueden después compararse con aquel de un promotor de referencia (tal como el utilizado en los procedimientos de la presente invención). Como alternativa, la fuerza del promotor puede evaluarse cuantificando los niveles de ARNm o comparando niveles de ARNm del ácido nucleico utilizado en el procedimientos de la presente invención, con niveles de ARNm de genes constitutivos tal como ARNr 18S, utilizando los procedimientos conocidos en la técnica, tal como transferencia de Northern con análisis densitométrico de autorradiogramas, PCR cuantitativa en tiempo real o RT-PCR (Heid y col., 1996 Genome Methods 6: 986-994). Generalmente por "promotor débil" se entiende un promotor que dirige la expresión de una secuencia codificante a un nivel bajo. Por "nivel bajo" se entiende niveles de aproximadamente 1/10.000 transcriptos a aproximadamente 1/100.000 transcriptos, a aproximadamente 1/500.000 transcriptos por célula. Por el contrario, un "promotor fuerte" dirige la expresión de una secuencia codificante de alto nivel, o aproximadamente 1/10 transcriptos a aproximadamente 1/100 transcriptos a aproximadamente 1/1000 transcriptos por célula.

Unido operativamente

La expresión "unido operativamente" como se usa en el presente documento se refiere a un enlace funcional entre la secuencia promotora y el gen de interés, de tal manera que la secuencia promotora es capaz de iniciar la transcripción del gen de interés.

Promotor constitutivo

5

Un "promotor constitutivo" se refiere a un promotor que es transcripcionalmente activo durante la mayor parte, pero no necesariamente todas, las fases de crecimiento y desarrollo y en condiciones más ambientales, en al menos una célula, tejido u órgano. La siguiente Tabla 2a proporciona ejemplos de promotores constitutivos.

Tabla 2a: Ejemplos de promotores constitutivos

Fuente del gen	Referencia	
Actina	McElroy y col, Plant Cell, 2: 163-171, 1990	
HMGP	Documento WO 2004/070039	
CAMV 35S	Odell y col, Nature, 313: 810-812, 1985	
CaMV 19S	Nilsson y col., Physiol. Plant. 100: 456-462, 1997	
GOS2	de Pater y col, Plant J Nov; 2(6): 837-44, 1992, documento WO 2004/065596	
Ubiquitina	Christensen y col, Plant Mol. Biol. 18: 675-689, 1992	
Ciclofilina de arroz	Buchholz y col, Plant Mol Biol. 25(5): 837-43, 1994	
Histona H3 de maíz	Lepetit y col, Mol. Gen. Genet. 231:276-285, 1992	
Histona H3 de alfalfa	Wu y col. Plant Mol. Biol. 11:641-649, 1988	
Actina 2	An y col, Plant J. 10(1); 107-121, 1996	
34S FMV	Sanger y col., Plant. Mol. Biol., 14, 1990: 433-443	
Subunidad pequeña Rubisco	Documento US 4.962.028	
OCS	Leisner (1988) Proc Natl Acad Sci USA 85(5): 2553	
SAD1	Jain y col., Crop Science, 39 (6), 1999: 1696	
SAD2	Jain y col., Crop Science, 39 (6), 1999: 1696	
nos	Shaw y col. (1984) Nucleic Acids Res. 12(20):7831-7846	
V-ATPasa	Documento WO 01/14572	
Súper promotor	Documento WO 95/14098	
Proteínas de caja G	Documento WO 94/12015	

Promotor ubicuo

Un promotor ubicuo es activo en sustancialmente todos los tejidos o células de un organismo.

Promotor regulado evolutivamente

Un promotor regulador evolutivamente es activo durante ciertas etapas de desarrollo o en partes de la planta que experimentan cambios evolutivos.

Promotor inducible

10

15

20

Un promotor inducible ha inducido o aumentado el inicio de la transcripción en respuesta a un estímulo químico (para una revisión véase Gatz 1997, Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol., 48: 89-108), ambiental o físico, o puede ser "inducible por estrés", es decir, activado cuando una planta se expone a diversas condiciones de estrés, o un "patógeno inducible", es decir, activado cuando una planta está expuesta a la exposición de diversos patógenos.

Promotor específico de órgano/Específico de tejido

Un promotor específico de órgano o específico de tejido es uno que puede iniciar preferentemente la transcripción en determinados órganos o tejidos, tales como hojas, raíces, tejido de semilla, etc. Por ejemplo, un "promotor específico de raíz" es un promotor que es transcripcionalmente activo predominantemente en las raíces de las plantas, sustancialmente con la exclusión de cualesquiera otras partes de una planta, mientras que aún permite

cualquier expresión parcial en estas otras partes de la planta. En el presente documento a los promotores que pueden iniciar la transcripción solo en determinadas células se les denomina "específicos de célula".

Un promotor específico de semilla es transcripcionalmente activo predominantemente en el tejido de semilla, pero no necesariamente exclusivamente en tejidos de semilla (en casos de expresión parcial). El promotor específico de semilla puede ser activo durante el desarrollo y/o durante la germinación de las semillas. El promotor específico de semilla puede ser específico de endospermo/aleurona/embrión. Ejemplos de promotores específicos de semillas se muestran en las Tablas 2b a 2e a continuación. Otros ejemplos de promotores específicos de semilla se proporcionan en Qing Qu y Takaiwa (Plant Biotechnol. J. 2, 113-125, 2004), cuya descripción se incorpora por referencia en el presente documento en su totalidad.

5

10

Tabla 2b: Ejemplos de promotores específicos de semilla

Fuente del gen	Referencia	
Genes específicos de semilla	Simon y col., Plant Mol. Biol. 5: 191, 1985;	
	Scofield y col., J. Biol. Chem. 262: 12202, 1987.	
	Baszczynski y col., Plant Mol. Biol. 14: 633, 1990.	
Albúmina de Nuez del Brasil	Pearson y col., Plant Mol. Biol. 18: 235-245, 1992.	
Legumina	Ellis y col., Plant Mol. Biol. 10: 203-214, 1988.	
Glutelina (arroz)	Takaiwa y col., Mol. Gen. Genet. 208: 15-22, 1986;	
	Takaiwa y col., FEBS Letts. 221: 43-47, 1987	
Zeína	Matzke y col Plant Mol Biol, 14(3): 323-32 1990	
парА	Stalberg y col, Planta 199: 515-519, 1996.	
Gluteína-1 LMW y HMW de trigo	Mol Gen Genet 216: 81-90, 1989; NAR 17: 461-2, 1989	
SPA de trigo	Albani y col, Plant Cell, 9: 171-184, 1997	
α, β, γ-gliadinas de trigo	EMBO J. 3: 1409-15, 1984	
Promotor It1 de cebada	Diaz y col. (1995) Mol Gen Genet 248(5): 592-8	
Hordeína B1, C, D de cebada	Theor Appl Gen 98:1253-62, 1999; Plant J 4: 343-55, 1993; Mol Gen Genet 250:7 50-60, 1996	
DOF de cebada	Mena y col, The Plant Journal, 116(1): 53-62, 1998	
blz2	EP99106056.7	
promotor sintético	Vicente-Carbajosa y col., Plant J. 13: 629-640, 1998.	
Prolamina NRP33 de arroz	Wu y col, Plant Cell Physiology 39(8) 885-889, 1998	
a-globulina Glb-1 de arroz	Wu y col, Plant Cell Physiology 39(8) 885-889, 1998	
OSH1 de arroz	Sato y col, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 93: 8117-8122, 1996	
α-globulina REB/OHP-1 de arroz	Nakase y col. Plant Mol. Biol. 33: 513-522, 1997	
Pirofosforilasa ADP glucosa de arroz	Trans Res 6: 157-68, 1997	
Familia del gen ESR de maíz	Plant J 12:235-46, 1997	
α-kafirina de sorgo	DeRose y col., Plant Mol. Biol 32: 1029-35, 1996	
KNOX	Postma-Haarsma y col, Plant Mol. Biol. 39: 257-71, 1999	
Oleosina de arroz	Wu y col, J. Biochem. 123: 386, 1998	
oleosina de girasol	Cummins y col., Plant Mol. Biol. 19: 873-876, 1992	

ES 2 451 669 T3

(continuación)

Fuente del gen	Referencia
PRO0117, supuesta proteína ribosomal 40S de arroz	WO 2004/070039
PRO0136, alanina aminotransferasa de arroz	No publicado
PRO0147, inhibidor de tripsina ITR1 (cebada)	No publicado
PRO0151, WSI18 de arroz	WO 2004/070039
PRO0175, RAB21 de arroz	WO 2004/070039
PRO005	WO 2004/070039
PRO0095	WO 2004/070039
α-amilasa (Amy32b)	Lanahan y col, Plant Cell 4: 203-211, 1992; Skriver y col, Proc Natl Acad Sci USA 88: 7266-7270, 1991
Gen similar a β-catepsina	Cejudo y col, Plant Mol Biol 20: 849-856, 1992
Ltp2 de cebada	Kalla y col., Plant J. 6: 849-60, 1994
Chi26	Leah y col., Plant J. 4: 579-89, 1994
B-Peru de maíz	Selinger y col., Genetics 149;1125-38,1998

Tabla 2c: Ejemplos de promotores específicos de endospermo

Fuente del gen	Referencia
Glutelina (arroz)	Takaiwa y col. (1986) Mol Gen Genet 208: 15-22; Takaiwa y col. (1987) FEBS Letts. 221: 43-47
Zeína	Matzke y col., (1990) Plant Mol Biol 14(3): 323-32
Gluteína-1 LMW y HMW de trigo	Colot y col. (1989) Mol Gen Genet 216: 81-90, Anderson y col. (1989) NAR 17: 461-2
SPA de trigo	Albani y col. (1997) Plant Cell 9: 171-184
Gliadinas de trigo	Rafalski y col. (1984) EMBO 3: 1409-15
Promotor Itr1 de cebada	Diaz y col. (1995) Mol Gen Genet 248(5): 592-8
Hordeína B1, C, D de Cebada	Cho y col. (1999) Theor Appl Genet 98: 1253-62; Muller y col. (1993) Plant J 4: 343-55; Sorenson y col. (1996) Mol Gen Genet 250: 750-60
DOF de cebada	Mena y col, (1998) Plant J 116(1): 53-62
blz2	Onate y col. (1999) J Biol Chem 274(14): 9175-82
Promotor sintético	Vicente-Carbajosa y col. (1998) Plant J 13: 629-640
Prolamina NRP33 de arroz	Wu y col, (1998) Plant Cell Physiol 39(8) 885-889
Globulina Glb-1 de arroz	Wu y col. (1998) Plant Cell Physiol 39(8) 885-889
Globulina REB/OHP-1 de arroz	Nakase y col. (1997) Plant Molec Biol 33: 513-522
Pirofosforilasa ADP glucosa de arroz	Russell y col. (1997) Trans Res 6: 157-68

(continuación)

Fuente del gen	Referencia
Familia del gen ESR de maíz	Opsahl-Ferstad y col. (1997) Plant J 12:235-46
Kafirina de sorgo	DeRose y col. (1996) Plant Mol Biol 32: 1029-35

Tabla 2d: Ejemplos de promotores específicos de embrión

Fuente del gen	Referencia
OSH1 de arroz	Sato y col, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 93: 8117-8122, 1996
KNOX	Postma-Haarsma y col, Plant Mol. Biol. 39:257-71, 1999
PRO0151	WO 2004/070039
PRO0175	WO 2004/070039
PRO005	WO 2004/070039
PRO0095	WO 2004/070039

Tabla 2e: Ejemplos de promotores específicos de aleurona

Fuente del gen	Referencia
α-amilasa (Amy32b)	Lanahan y col, Plant Cell 4:203-211, 1992; Skriver y col, Proc Natl Acad Sci USA 88: 7266-7270, 1991
Gen similar a β-catepsina	Cejudo y col, Plant Mol Biol 20: 849-856, 1992
Ltp2 de cebada	Kalla y col., Plant J. 6: 849-60, 1994
Chi26	Leah y col., Plant J. 4: 579-89, 1994
B-Perú de maíz	Selinger y col., Genetics 149; 1125-38, 1998

Un promotor específico de tejido verde como se define en el presente documento es un promotor que es transcripcionalmente activo predominantemente en tejido verde, sustancialmente con la exclusión de cualesquiera otras partes de una planta, mientras que aún permanece cualquier expresión parcial en estas otras partes de la planta.

Otro ejemplo de un promotor específico de tejido es un promotor específico de meristemo, que es transcripcionalmente activo predominantemente en tejido meristemático, sustancialmente con la exclusión de cualesquiera otras partes de una planta, mientras que aún permite cualquier expresión parcial en estas otras partes de las plantas.

Terminador

5

El término "terminador" incluye una secuencia de control que es una secuencia de ADN en el extremo de una unidad que señaliza el procesamiento y la poliadenilación en 3' de un transcripto primario y la terminación de la transcripción. El terminador puede derivar del gen natural, de una diversidad de otros genes de planta, o de ADN-T. El terminador a añadir puede derivar de, por ejemplo, los genes de nopalina sintasa u octopina sintasa, o como alternativa, de otro gen de planta, o menos preferentemente de cualquier otro gen eucariota.

20 Modulación

25

El término "modulación" significa en relación a la expresión o expresión de gen, un proceso en el que el nivel de expresión se cambia mediante dicho gen de expresión en comparación con la planta de control, el nivel de expresión puede aumentarse o disminuirse. La expresión no modulada, original, puede ser de cualquier tipo de expresión de un ARN estructural (ARNr, ARNt) o ARNm con traducción posterior. La expresión "modulación de la actividad" significará cualquier cambio de la expresión de las secuencias de ácidos nucleicos de la invención o las proteínas codificadas, que conduce a la rendimiento aumentado y/o a crecimiento aumentado de las plantas.

Expresión

5

25

30

35

40

45

50

55

El término "expresión" o "expresión de gen" significa la transcripción de un gen específico o genes específicos o construcción genética específica. El término "expresión" o "expresión de gen" significa en particular la transcripción de un gen o genes o construcción genética en ARN estructural (ARNr, ARNt) o ARNm con o sin traducción posterior del último en una proteína. El proceso incluye la transcripción de ADN y el procesamiento del producto de ARNm resultante.

Expresión aumentada/sobreexpresión

La expresión "expresión aumentada" o "sobreexpresión" como se usa en el presente documento significa cualquier forma de expresión que se es adicional al nivel de expresión original de tipo silvestre.

Los procedimientos para aumentar la expresión de los genes o productos génicos se documentan bien en la técnica e incluyen, por ejemplo, la sobreexpresión conducida mediante promotores adecuados, el uso de potenciadores de la transcripción o potenciadores de la traducción. Los ácidos nucleicos aislados que sirven como promotor o elementos potenciadores pueden introducirse en una posición adecuada (típicamente en la dirección 5') de una forma no heteróloga de un polinucleótido para regular por aumento la expresión de un ácido nucleico que codifica el polipéptido de interés. Por ejemplo, los promotores endógenos pueden alterarse *in vivo* por mutación, deleción y/o sustitución (véase, Kmiec, US 5.565.350; Zarling y col., WO9322443), o pueden introducirse promotores aislados en una célula de planta en la orientación y distancia apropiada de un gen como se describe en el presente documento de tal manera que se controle la expresión del gen.

Si se desea la expresión del polipéptido, es generalmente deseable incluir una región de poliadenilación en el extremo 3' de una región codificante de polinucleótido. La región de poliadenilación puede derivar del gen natural, de una diversidad de otros genes de planta, o de ADN-T. La secuencia de extremo 3' a añadir puede derivar de, por ejemplo, los genes nopalina sintasa u octopina sintasa, o como alternativa de otro gen de planta, o menos preferentemente de cualquier otro gen eucariota.

También puede añadirse una secuencia intrónica a la región no traducida (UTR, untranslated region) 5' o la secuencia codificante de la secuencia codificante parcial para aumentar la cantidad del mensaje maduro que se acumula en el citosol. Se ha observado que la inclusión de un intrón de corte y empalme en la unidad de transcripción en construcciones de expresión tanto de plantas como de animales aumenta la expresión génica tanto a nivel de proteína como de ARNm hasta 1000 veces (Buchman y Berg (1988) Mol. Cell biol. 8: 4395-4405; Callis y col. (1987) Genes Dev 1: 1183-1200). Dicha potenciación intrónica de la expresión génica es típicamente mayor cuando se pone cerca del extremo 5' de la unidad de transcripción. En la técnica se conoce el uso de los intrones de maíz, el intrón Adh1-S 1, 2 y 6, el intrón Bronze-1. Para información general véase: The Maize Handbook, capítulo 116, Freeling y Walbot, Eds., Springer, N.Y. (1994).

Gen endógeno

La referencia en el presente documento a un gen "endógeno" no solo se refiere al gen en cuestión como se encuentra en una planta en su forma natural (es decir, sin existir ninguna intervención humana), sino también se refiere a aquel mismo gen (o un ácido nucleico/gen sustancialmente homólogo) en una forma aislada posteriormente (re)introducida en una planta (un transgén). Por ejemplo, una planta transgénica que contiene dicho transgén puede encontrar una reducción sustancial de la expresión transgénica y/o reducción sustancial de la expresión del gen endógeno. El gen aislado puede aislarse de un organismo o puede fabricarlo en hombre, por ejemplo, mediante síntesis química.

Expresión reducida

En el presente documento la referencia a "expresión reducida" o "reducción o eliminación sustancial" de expresión significa una reducción en la expresión del gen endógeno y/o los niveles de polipeptido y/o actividad de polipéptido con relación a las plantas de control. La reducción o eliminación sustancial está en orden aumentado de preferencia por lo menos de 20 %, 30 %, 40 % o 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 85 %, 90 % o 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o más reducido en comparación con el de las plantas de control.

Para la reducción o eliminación sustancial de la expresión de un gen endógeno en una planta, se requiere una longitud suficiente de nucleótidos sustancialmente contiguos de una secuencia de ácidos nucleicos. Para realizar el silenciamiento génico, este puede ser tan pequeño como 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10 o menos nucleótidos, como alternativa éste puede ser tanto como el gen completo (incluyendo la UTR 5' y/o 3', ya sea en parte o en su totalidad). El tramo de los nucleótidos sustancialmente contiguos puede derivar del ácido nucleico que codifica la proteína de interés (gen diana), o de cualquier ácido nucleico capaz de codificar un ortólogo, parálogo u homólogo de la proteína de interés. Preferentemente, el tramo de los nucleótidos sustancialmente contiguos es capaz de formar enlaces de hidrógeno con el gen diana (cadena en sentido o antisentido), más preferentemente, el tramo de nucleótidos sustancialmente contiguos tiene, en orden aumentado de preferencia, una identidad de secuencia de 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 100 % con el gen diana (cadena en sentido o antisentido). Una secuencia de ácidos nucleicos que codifica un polipéptido (funcional) no es un

requerimiento para los diversos procedimientos analizados en el presente documento para la reducción o eliminación sustancial de la expresión de un gen endógeno.

Esta reducción o eliminación sustancial de la expresión puede realizarse usando herramientas y técnicas habituales. Un procedimiento para la reducción o eliminación sustancial de la expresión del gen endógeno es al introducir y expresar en una planta una construcción genética en la que el ácido nucleico (en este caso un tramo de nucleótidos sustancialmente contiguos derivados del gen de interés, o de cualquier nucleótido capaz de codificar un ortólogo, parálogo u homólogo de cualquiera de las proteínas de interés) se clona como una repetición invertida (en parte o completamente), separado por un espaciador (ADN no codificante).

5

10

15

20

25

30

45

50

55

60

En dicho procedimiento, la expresión del gen endógeno se reduce o se elimina sustancialmente a través del silenciamiento mediado por ARN utilizando una repetición invertida de un ácido nucleico o una parte del mismo (en este caso un tramo de nucleótidos sustancialmente contiguos derivados del gen de interés, o de cualquier ácido nucleico capaz de codificar un ortólogo, parálogo u homólogo de la proteína de interés), preferentemente capaz de formar una estructura en horquilla. La repetición invertida se clona en un vector de expresión que comprende las secuencias de control. Una secuencia de ácidos nucleicos de ADN no codificante (un espaciador, por ejemplo un fragmento de la región de unión de matriz (MAR), un intrón, un poliengarce, etc.) se localiza entre los dos ácidos nucleicos invertidos que forman la repetición invertida. Después de la transcripción de la repetición invertida, se forma un ARN quimérico con una estructura auto-complementaria (parcial o completa). Esta estructura de ARN bicatenario se denomina ARN en horquilla (ARNhp). El ARNhp se procesa en la planta en los ARNip que se incorporan en un complejo de silenciamiento inducido por ARN (RISC, *RNA*). El RISC escinde adicionalmente los transcriptos de ARNm, reduciendo por lo tanto sustancialmente el número de transcriptos de ARNm que van a traducirse en los polipéptidos. Para detalles generales adicionales véase, por ejemplo, Grierson y col. (1998) WO 98/53083; Waterhouse y col. (1999) WO 99/53050).

La realización de los procedimientos como se describe en el presente documento no se basa en introducir y expresar en una planta una construcción genética en la que el ácido nucleico se clona como una repetición invertida, sino que pueden utilizarse cualquiera de uno o más de los diversos procedimientos de "silenciamiento génico" bien conocidos para lograr los mismos efectos.

Un procedimiento de este tipo para la reducción de la expresión del gen endógeno es el silenciamiento mediado por ARN de la expresión del gen (regulación por disminución). El silenciamiento en este caso se activa en una planta mediante una secuencia de ARN bicatenario (ARNbc) que es sustancialmente similar al gen endógeno diana. Este ARNbc se procesa adicionalmente por la planta de aproximadamente 20 a aproximadamente 26 nucleótidos denominado ARN de interferencia pequeño (ARNip). Los ARNip se incorporan en un complejo de silenciamiento inducido por ARN (RISC) que escinde el transcrito de ARNm del gen endógeno diana, reduciendo por tanto sustancialmente el número de transcriptos de ARNm que se traducen en un polipéptido. Preferentemente, la secuencia de ARN bicatenario corresponde a un gen diana.

Otro ejemplo de un procedimiento de silenciamiento de ARN implica la introducción de secuencias de ácidos nucleicos o partes de las mismas (en este caso un tramo de nucleótidos sustancialmente contiguos derivados del gen de interés, o del cualquier ácido nucleico capaz de codificar un ortólogo, parálogo u homólogo de la proteína de interés) en una orientación en sentido en una planta. "Orientación en sentido" se refiere a una secuencia de ADN que es homóloga a un transcripto de ARNm de la misma. Por lo tanto, en una planta se introduciría al menos una copia de la secuencia de ácidos nucleicos. La secuencia de ácidos nucleicos adicional reduciría la expresión del gen endógeno, dando lugar a un fenómeno conocido como co-supresión. La reducción de la expresión del gen sería más pronunciada si en una planta se introducen diversas copias adicionales de una secuencia de ácidos nucleicos, cuando hay una correlación positiva entre altos niveles de transcripto y la activación de la co-supresión.

Otro ejemplo de un procedimiento de silenciamiento de ARN implica el uso de las secuencias de ácidos nucleicos antisentido. Una secuencia de "ácidos nucleicos antisentido" comprende una secuencia de nucleótidos que es complementaria a una secuencia de ácidos nucleicos "en sentido" que codifica una proteína, es decir, complementaria a la cadena codificante de una molécula de ADNc bicatenario o complementario a una secuencia de transcripto de ARNm. La secuencia de ácidos nucleicos antisentido es preferentemente complementaria al gen endógeno a silenciar. La complementariedad puede localizarse en la "región codificante" y/o en la "región no codificante" de un gen. La expresión "región codificante" se refiere a una región de la secuencia de nucleótidos que comprende codones que se traducen en restos de aminoácido. La expresión "región no codificante" se refiere a las secuencias 5' y 3' que flanquean la región codificante que se transcriben pero no se traducen en aminoácidos (denominado también regiones no traducidas 5' y 3').

Las secuencias de ácidos nucleicos antisentido pueden diseñarse de acuerdo con las normas de emparejamiento de bases de Watson y Crick. La secuencia de ácidos nucleicos antisentido puede ser complementaria a la secuencia de ácidos nucleicos completa (en este caso un tramo de nucleótidos sustancialmente contiguos derivados del gen de interés, o de cualquier ácido nucleico capaz de codificar un ortólogo, parálogo u homólogo de la proteína de interés), pero también puede ser un oligonucleótido que es antisentido para solo a una parte de la secuencia de ácidos nucleicos (incluyendo la UTR 5' y 3' del ARNm). Por ejemplo, la secuencia de oligonucleótidos antisentido puede ser complementaria a la región que rodea el sitio de inicio de traducción de un transcripto de ARNm que codifica un

polipéptido. La longitud de una secuencia de oligonucleótidos antisentido adecuada se conoce en la técnica y puede iniciar de aproximadamente 50, 45, 40, 35, 30, 25, 20, 15 o 10 nucleótidos de longitud o menos. Una secuencia de ácidos nucleicos antisentido como se describe en el presente documento puede construirse usando síntesis química y las reacciones de ligamiento enzimático utilizando los procedimientos conocidos en la técnica. Por ejemplo, una secuencia de ácidos nucleicos antisentido (por ejemplo, una secuencia de oligonucleótidos antisentido) puede sintetizarse químicamente usando nucleótidos de origen natural o varios nucleótidos modificados diseñados para aumentar la estabilidad biológica de las moléculas o para el aumentar la estabilidad física del dúplex formado entre las secuencias de ácidos nucleicos antisentido y sentido, por ejemplo, pueden utilizarse derivados fosforotioato y nucleótidos sustituidos por acridina. En la técnica se conocen bien ejemplos de nucleótidos modificados que pueden utilizarse para generar las secuencias de ácidos nucleicos antisentido. Las modificaciones de nucleótido conocidos incluyen metilación, ciclación y "protecciones" y sustitución de uno o más de los nucleótidos de origen natural con un análogo tal como inosina. En la técnica se conocen bien otras modificaciones de nucleótidos.

5

10

15

35

La secuencia de ácidos nucleicos antisentido puede producirse biológicamente utilizando un vector de expresión en el que se ha subclonado una secuencia de ácidos nucleicos en una orientación antisentido (es decir, el ARN transcrito del ácido nucleico insertado tendrá una orientación antisentido con respecto a un ácido nucleico diana de interés). Preferentemente, la producción de las secuencias de ácidos nucleicos antisentido en plantas se produce mediante una construcción de ácido nucleico establemente integrada que comprende un promotor, un oligonucleótido antisentido unido operativamente y un terminador.

Las moléculas de ácido nucleico utilizadas para el silenciamiento en los procedimientos descritos en el presente 20 documento (tanto si se introduce en una planta como se genera in situ) se hibridan con o se unen a los transcriptos de ARNm y/o ADN genómico que codifica un polipéptido para inhibir así la expresión de la proteína, por ejemplo, al inhibir la transcripción y/o traducción. La hibridación puede ser cualquier complementariedad convencional de nucleótidos para formar un dúplex estable o, por ejemplo, en el caso de una secuencia de ácidos nucleicos antisentido que se une a los dúplex de ADN, a través de interacciones específicas en el surco principal de la doble 25 hélice. Las secuencias de ácidos nucleicos antisentido pueden introducirse en una planta mediante transformación o invección directa en un sitio de tejido específico. Como alternativa, las secuencias de ácidos nucleicos antisentido pueden modificarse para dirigir las células seleccionadas y después administrarse por vía sistémica. Por ejemplo. para administración sistémica, las secuencias de ácidos nucleicos antisentido pueden modificarse de tal manera que se unan específicamente a los receptores o antígenos expresados sobre una superficie celular seleccionada, por ejemplo, al ligar la secuencia de ácidos nucleicos antisentido a los péptidos o anticuerpos que se unen a los 30 receptores o antígenos de superficie celular. Las secuencias de ácidos nucleicos antisentido también pueden administrarse a células usando los vectores descritos en el presente documento.

Como se describe en el presente documento, la secuencia de ácidos nucleicos antisentido es una secuencia de ácidos nucleicos anomérica a. Una secuencia de ácidos nucleicos anomérica a forma híbridos bicatenarios específicos con ARN de complementariedad en el que, contrario a las unidades b habituales, las cadenas corren paralelas entre sí (Gaultier y col. (1987) Nucl Ac Res 15: 6625-6641). La secuencia de ácidos nucleicos antisentido también puede comprender un 2'-o-metilrribonucleótido (Inoue y col. (1987) Nucl Ac Res 15, 6131-6148) o un análogo de ARN-ADN quimérico (Inoue y col. (1987) FEBS Lett. 215, 327-330).

La reducción o eliminación sustancial de la expresión del gen endógeno también puede realizarse usando ribozimas. 40 Las ribozimas son moléculas de ARN catalíticas con actividad de ribonucleasa que pueden escindir una secuencia de ácidos nucleicos monocatenaria, tal como un ARNm, en el que tienen una región complementaria. Por tanto, las ribozimas (por ejemplo, ribozimas cabeza de martillo (descritas en Haselhoff y Gerlach (1988) Nature 334, 585-591) pueden utilizarse para escindir catalíticamente los transcriptos de ARNm que codifican un polipéptido, reduciendo sustancialmente por tanto el número de transcriptos de ARNm que van a traducirse en un polipéptido. Se puede diseñar una ribozima que tenga especificidad para una secuencia de ácidos nucleicos (véase, por ejemplo: Cech y 45 col. Patente de Estados Unidos Nº 4.987.071; y Cech y col. Patente de Estados Unidos Nº 5.116.742). Como alternativa, los transcriptos de ARNm correspondientes a una secuencia de ácidos nucleicos pueden utilizarse para seleccionar un ARN catalítico que tenga una actividad específica de ribonucleasa de un conjunto de moléculas de ARN (Bartel y Szostak (1993) Science 261, 1411-1418). El uso de ribozimas para el silenciamiento génico en plantas es conocido en la técnica (por ejemplo, Atkins y col. (1994) WO 94/00012; Lenne y col. (1995) WO 95/03404; 50 Lutziger y col. (2000) WO 00/00619; Prinsen y col. (1997) WO 97/13865 y Scott y col. (1997) WO 97/38116).

El silenciamiento génico también puede producirse por mutagénesis de inserción (por ejemplo, inserción de ADN-T o inserción de transposón) o mediante estrategias como describen, entre otros, Angell y Baulcombe ((1999) Plant J 20(3): 357-62), (Amplicon VIGS WO 98/36083) o Baulcombe (documento WO 99/15682).

El silenciamiento génico también puede producirse si hay una mutación en un gen endógeno y/o una mutación en un gen aislado/ácido nucleico posteriormente introducido en una planta. La reducción o eliminación sustancial puede estar provocada por un polipéptido no funcional. Por ejemplo, el polipéptido puede unirse a diversas proteínas que interaccionan; por lo tanto pueden proporcionarse una o más mutaciones y/o truncamientos para un polipéptido que es aún capaz de unir las proteínas que interaccionan (tal como proteínas receptoras) pero que no pueden exhibir su función normal (tal como ligando de señalización).

Una estrategia adicional para el silenciamiento génico es dirigir la secuencia de ácidos nucleicos complementaria a la región reguladora del gen (por ejemplo, el promotor y/o los potenciadores) para formar estructuras helicoidales triples que impiden la transcripción del gen en células diana. Véase Helene, C., Anticancer Drug Res. 6, 569-84, 1991; Helene y col., Ann. N.Y. Acad. Sci. 660, 27-36 1992; y Maher, L.J. Bioassays 14, 807-15, 1992.

- Un experto conocerá otros procedimientos, tales como el uso de anticuerpos dirigidos a un polipéptido endógeno para inhibir su función en la planta, o la interferencia en la ruta de señalización en la que un polipéptido está implicado. En particular, se puede prever que las moléculas fabricadas por el hombre pueden ser útiles para inhibir la función biológica de un polipéptido diana o para interferir con la ruta de señalización en la que está implicado el polipéptido diana.
- Como alternativa, puede establecerse un programa de detección hasta identificar en una población de plantas las variantes naturales de un gen, cuyas variantes codifican los polipéptidos con actividad reducida. Dichas variantes naturales también pueden utilizarse, por ejemplo, para realizar recombinación homóloga.
- Para desactivar la expresión génica y/o traducción de ARNm pueden utilizarse microARN (miARN) artificiales y/o naturales. Los miARN endógenos son ARN pequeños monocatenarios típicamente con una longitud de 19-24 nucleótidos. Principalmente funcionan para regular la expresión génica y/o la traducción de ARNm. La mayor parte de los microARN (miARN) de planta tienen complementariedad perfecta o casi perfecta con sus secuencias diana. Sin embargo, hay dianas naturales con hasta cinco emparejamiento erróneos. Se procesan a partir de ARN no codificantes más largos con estructuras de plegamiento características mediante RNasas específicas bicatenarias de la familia Dicer. Después del procesamiento, se incorporan en el complejo de silenciamiento inducido por ARN (RISC) al unirse a su componente principal, una proteína Argonauta. Los miARN sirven como componentes de especificidad del RISC, debido al emparejamiento de bases con ácidos nucleicos diana, principalmente ARNm, en el citoplasma. Los acontecimientos reguladores posteriores incluyen la escisión de ARNm diana y la destrucción y/o inhibición traduccional. Por tanto, los efectos de la sobreexpresión de miARN se reflejan frecuentemente en niveles de ARNm reducidos de los genes diana.
- Los microARN artificiales (amiARN), que típicamente tienen 21 nucleótidos de longitud, pueden modificarse por ingeniería genética específicamente para regular negativamente la expresión génica de un solo gen o de múltiples genes de interés. En la técnica se conocen bien los determinantes de la selección diana de microARN de planta. Se han definido los parámetros empíricos para el reconocimiento diana y pueden utilizarse para ayudar en el diseño de los amiARN específicos (Schwab y col., Dev. Cell 8, 517-527, 2005). Están disponibles para el público las herramientas convenientes para el diseño y la generación de los amiARN y sus precursores (Schwab y col., Plant Cell 18, 1121-1133, 2006).
 - Para un rendimiento óptimo, las técnicas de silenciamiento génico utilizadas para reducir la expresión en una planta de un gen endógeno requieren el uso de secuencias de ácidos nucleicos de plantas monocotiledóneas para la transformación de plantas monocotiledóneas, y de plantas dicotiledóneas para la transformación de plantas dicotiledóneas. Preferentemente, una secuencia de ácidos nucleicos de cualquier especie de planta dada se introduce dentro de esta misma especie. Por ejemplo, una secuencia de ácidos nucleicos de arroz se transforma en una planta de arroz. Sin embargo, no es un requisito absoluto que la secuencia de ácidos nucleicos que se introduce se origine de la misma especie de planta como la planta en la que se introducirá. Basta con que exista una homología sustancial entre el gen diana endógeno y el ácido nucleico a introducir.
- Anteriormente se han descrito ejemplos de diversos procedimientos para la reducción o eliminación sustancial de la expresión en una planta de un gen endógeno. Un experto en la técnica será capaz de adaptar fácilmente los procedimientos anteriormente mencionados para el silenciamiento para conseguir la reducción de la expresión de un gen endógeno en una planta completa o en partes de la misma a través del uso de un promotor apropiado, por ejemplo.
- 45 Marcador de selección (gen)/Gen indicador

35

50

55

Un "marcador de selección", "gen marcador de selección" o "gen indicador" incluye cualquier gen que confiere un fenotipo a una célula en el que se expresa para facilitar la identificación y/o selección de las células que se transfectan o se transforman con una construcción de ácido nucleico como se describe en el presente documento. Estos genes marcadores permiten la identificación de una transferencia exitosa de las moléculas de ácido nucleico mediante una serie de diferentes principios. Los marcadores adecuados pueden seleccionarse de marcadores que confieren resistencia herbicida o antibiótica, que introducen un nuevo rasgo metabólico o que permiten selección visual. Como ejemplos de genes marcadores de selección se incluyen genes que confieren resistencia a antibióticos (tales como nptll que fosforila neomicina y canamicina, o hpt, que higromicina fosforilante, o genes que confieren resistencia a, por ejemplo, bleomicina, estreptomicina, tetraciclina, cloranfenicol, ampicilina, gentamicina, geneticina (G418), espectinomicina o blasticidina), a los herbicidas (por ejemplo bar que proporciona resistencia a Basta[®]; aroA o gox que proporciona resistencia contra el glifosato, o los genes que confieren resistencia a, por ejemplo, imidazolinona, fosfinotricina o sulfonilurea) o genes que proporcionan un rasgo metabólico (tal como manA que permite a las plantas utilizar mannosa como única fuente de carbono o xilosa isomerasa para la utilización de xilosa, o marcadores antinutritivos tales como la resistencia a 2-desoxiglucosa). La expresión de genes marcadores

visuales da como resultado la formación de color (por ejemplo β -glucuronidasa, GUS o β -galactosidasa con sus sustratos de color, por ejemplo X-Gal), luminiscencia (tal como el sistema luciferina/lucefarasa) o fluorescencia (Proteína Fluorescente Verde, GFP, y derivados de los mismos). Esta lista solo representa una pequeña cantidad de marcadores posibles. El experto está familiarizado con dichos marcadores. Dependiendo del organismo y del procedimiento de selección se prefieren diferentes marcadores.

Se sabe que, tras la integración estable o transitoria de los ácidos nucleicos en las células de plantas, solo una minoría de las células capta el ADN exógeno y, si se desea, lo integra en su genoma, dependiendo del vector de expresión utilizado y de la técnica de transfección utilizada. Para identificar y seleccionar estos integrantes, normalmente se introduce un gen que codifica un marcador de selección (tal como los descritos anteriormente) en las células huésped junto con el gen de interés. Estos marcadores pueden, por ejemplo, utilizarse en mutantes en los que estos genes no son funcionales mediante, por ejemplo, deleción por procedimientos convencionales. Además, las moléculas de ácido nucleico que codifican un marcador de selección pueden introducirse en una célula huésped en el mismo vector que comprende la secuencia que codifica los polipéptidos como se describe en el presente documento o utilizarse en los procedimientos como se describe en el presente documento, o incluso en un vector distinto. Las células que se han transfectado de manera estable con el ácido nucleico introducido pueden identificarse por ejemplo mediante selección (por ejemplo, células que tienen integrado el marcador de selección sobreviven mientras que las otras células mueren).

Dado que los genes marcadores, particularmente genes que confieren resistencia a antibióticos y herbicidas, ya no requieren o no se desean en la célula huésped transgénica, una vez que los ácidos nucleicos se han introducido satisfactoriamente, el proceso como se describe en el presente documento para introducir los ácidos nucleicos emplea ventajosamente técnicas que permiten la eliminación o escisión de estos genes marcadores. Un procedimiento de este tipo es el conocido como co-transformación. El procedimiento de co-transformación emplea dos vectores simultáneamente para la transformación, un vector que lleva el ácido nucleico como se describe en el presente documento y un segundo vector que lleva el gen (o genes) marcador. Una proporción grande de transformantes recibe o, en el caso de plantas, comprende (hasta 40 % o más de los transformantes), ambos vectores. En el caso de transformación con Agrobacteria, los transformantes normalmente reciben solo una parte del vector, es decir, la secuencia flanqueada por el ADN-T, que normalmente representa el casete de expresión. Los genes marcadores pueden retirarse posteriormente de la planta transformada realizando cruzamientos. En otro procedimiento, se utilizan genes marcadores integrados en un transposón para la transformación junto con ácido nucleico deseado (conocido como tecnología Ac/Ds). Los transformantes pueden cruzarse con una fuente transposasa o los transformantes se transforman con una construcción de ácido nucleico que confiere expresión de una transposasa, de manera transitoria o estable. En algunos casos (aprox. 10 %), el transposón salta del genoma de la célula huésped una vez se ha producido la transformación exitosamente y se pierde. En un número adicional de casos, el transposón salta a una localización diferente. En estos casos el gen marcador debe eliminarse realizando cruzamientos. En microbiología, se desarrollaron técnicas que hacen posible, o facilitan, la detección de dichos acontecimientos. Un procedimiento ventajoso adicional se basa en lo que se conoce como sistemas de recombinación; cuya ventaja es que la eliminación puede dispensarse por cruzamiento. El sistema mejor conocido de este tipo es lo que se conoce como el sistema Cre/lox. Cre1 es una recombinasa que elimina las secuencias localizadas entre las secuencias loxP. Si el gen marcador se integra entre las secuencias loxP, éste se elimina una vez se haya producido la transformación de manera satisfactoria, por expresión de la recombinasa. Otros sistemas de recombinación son el sistema HIN/HIX, FLP/FRT y REP/STB (Tribble y col., J. Biol. Chem., 275, 2000: 22255-22267; Velmurugan y col., J. Cell Biol., 149, 2000: 553-566). Como se describe en el presente documento es posible una integración específica de sitio en el genoma de la planta de la secuencia de ácidos nucleicos. Naturalmente, estos procedimientos también pueden aplicarse a microorganismos tales como levaduras, hongos o bacterias.

45 Transgénico/Transgén/Recombinante

Para el propósito de la invención, "transgénico", "transgéni" o "recombinante" significa con respecto a, por ejemplo, una secuencia de ácidos nucleicos, un casete de expresión, una construcción génica o un vector que comprende la secuencia de ácidos nucleicos o un organismo transformado con las secuencias de ácidos nucleicos, casetes o vectores de expresión, como se describe en el presente documento, todas estas construcciones llevadas a cabo por procedimientos recombinantes en los que

- (a) las secuencias de ácidos nucleicos que codifican las proteínas útiles en los procedimientos como se describe en el presente documento, o
- (b) la secuencia (o secuencias) de control genético que se une operativamente con la secuencia de ácidos nucleicos como se describe en el presente documento, por ejemplo un promotor, o

55 (c) a) y b)

10

15

20

25

30

35

40

50

60

no se localizan en su ambiente genético natural o se han modificado por procedimientos recombinantes, siendo posible que se produzca la modificación de, por ejemplo, una sustitución, adición, deleción, inversión o inserción de uno o más restos de nucleótido. Se entiende que, ambiente genético natural, significa el locus genómico o cromosómico natural en la planta original o la presencia de una biblioteca genómica. En el caso de una biblioteca genómica, el ambiente genético natural de la secuencia de ácidos nucleicos se conserva preferentemente, al menos

en parte. El ambiente flanquea la secuencia de ácidos nucleicos al menos en un lado y tiene una longitud de secuencia de al menos 50 pb, preferentemente al menos 500 pb, especialmente preferentemente al menos 1000 pb, más preferentemente al menos 5000 pb. Un casete de expresión de origen natural — por ejemplo la combinación de origen natural del promotor natural de las secuencias de ácidos nucleicos con la secuencia de ácidos nucleicos correspondiente que codifica un polipéptido útil en los procedimientos como se describe en el presente documento, como se define anteriormente — llega a ser un casete de expresión transgénica cuando este casete de expresión se modifica mediante procedimientos sintéticos no naturales ("artificiales") tal como, por ejemplo, tratamiento mutagénico. Se describen procedimientos adecuados, por ejemplo, en los documentos US 5.565.350 o WO 00/15815.

Por tanto, una planta transgénica, como se describe en el presente documento, se entiende que significa, como se ha indicado anteriormente, que los ácidos nucleicos utilizados en el procedimiento, como se describe en el presente documento, no están en su locus natural en el genoma de dicha planta, siendo posible que los ácidos nucleicos se expresen de manera homóloga o heteróloga. Sin embargo, como se ha mencionado, transgénico también significa que, aunque los ácidos nucleicos, como se describe en el presente documento o se usan en el procedimiento de la invención, están en su posición natural en el genoma de una planta, la secuencia se ha modificado con respecto a la secuencia natural, y/o que las secuencias reguladoras de las secuencias naturales se han modificado. Por transgénico se entiende preferentemente que significa la expresión de los ácidos nucleicos, como se describe en el presente documento, en un locus no natural en el genoma, es decir, se produce la expresión homóloga o, preferentemente, heteróloga de los ácidos nucleicos. En el presente documento se mencionan las plantas transgénicas preferidas.

Transformación

25

30

35

40

45

50

55

60

El término "introducción" o "transformación" como se denomina en el presente documento incluye la transferencia de un polinucleótido exógeno en una célula huésped, independientemente del procedimiento utilizado para la transferencia. El tejido de planta capaz de propagación clonal posterior, mediante organogénesis o embriogénesis, puede transformarse con una construcción genética, como se describe en el presente documento, y a partir del mismo regenerarse una planta completa. El tejido particular seleccionado variará dependiendo de los sistemas de propagación clonales disponibles para, y mejor adaptados a, la especie particular que se va a transformar. Las dianas tisulares ejemplares incluyen, discos foliares, polen, embriones, cotiledones, hipocotiledones, megagametófitos, tejido de callo, tejido meristemático existente (por ejemplo, meristemo apical, brotes axilares y meristemos radiculares) e inducen tejido meristemático (por ejemplo, meristemo de cotiledón y meristemo de hipocotiledón). El polinucleótico puede introducirse transitoria o establemente en una célula huésped y puede mantenerse no integrado, por ejemplo, como un plásmido. Como alternativa, puede integrarse en el genoma huésped. La célula de planta transformada resultante puede después utilizarse para regenerar una planta transformada de una manera conocida por los expertos en la técnica.

La transferencia de genes externos dentro del genoma de una planta se denomina transformación. La transformación de especies de plantas es actualmente una técnica bastante habitual. Ventajosamente, puede usarse cualquiera de los diversos procedimientos de transformación para introducir el gen de interés en una célula antecesora adecuada. Los procedimientos descritos para la transformación y regeneración de plantas de tejidos de plantas o células de plantas pueden utilizarse para la transformación transitoria o estable. Los procedimientos de transformación incluyen el uso de liposomas, electroporación, productos químicos que aumentan la captación de ADN libre, inyección del ADN directamente en la planta, pistola de bombardeo de partículas, transformación utilizando virus o polen y microproyección. Pueden seleccionarse procedimientos entre, el procedimiento de calcio/polietilenglicol para protoplastos (Krens, F.A. y col., (1982) Nature 296, 72-74; Negrutiu I y col. (1987) Plant Mol Biol 8: 363-373); electroporación de protoplastos (Shillito R.D. y col. (1985) Bio/Technol 3, 1099-1102); microinyección en el material de planta (Crossway A y col., (1986) Mol. Gen Genet 202: 179-185); bombardeo de partículas revestido con ADN o ARN (Klein TM y col., (1987) Nature 327: 70) infección con virus (no integrantes) y similares. Las plantas transgénicas, incluyendo plantas de cultivo transgénicas, se producen preferentemente mediante transformación mediada por Agrobacterium. Un procedimiento de transformación ventajoso es la transformación en la planta. Para esta finalidad, es posible, por ejemplo, permitir que las agrobacterias actúen en las semillas de la planta o inocular las agrobacterias en el meristemo de la planta. Se ha demostrado de un modo particularmente conveniente, como se describe en el presente documento, permitir que una suspensión de agrobacterias transformadas actúe en la planta intacta o al menos en los primordios florales. Posteriormente la planta crece hasta que se obtienen las semillas de la planta tratada (Clough y Bent, Plant J. (1998) 16, 735-743). Los procedimientos para la transformación mediada por Agrobacterium de arroz incluyen procedimientos bien conocidos para la transformación del arroz, tales como los descritos en cualquiera de las siguientes referencias bibliográficas: la solicitud de Patente Europea EP 1198985 A1, Aldemita y Hodges (Planta 199: 612-617, 1996); Chan y col. (Plant Mol Biol 22 (3): 491-506, 1993), Hiei y col. (Plant J 6 (2): 271-282, 1994), cuyas descripciones se incorporan por referencia en el presente documento en su totalidad. En el caso de la transformación de maíz, el procedimiento preferido es como se describe en Ishida y col. (Nat. Biotechnol 14(6): 745-50, 1996) o en Frame y col. (Plant Physiol 129(1): 13-22, 2002), cuyas descripciones se incorporan por referencia como si se expusieran en el presente documento. Dichos procedimientos se describen adicionalmente, a modo de ejemplo, en B. Jenes y col., Techniques for Gene Transfer, en: Transgenic Plants, Vol. 1, Engineering and Utilization, eds. S.D. Kung y R. Wu, Academic Press (1993) 128-143 y en Potrykus Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Molec. Biol. 42 (1991) 205-225). Los ácidos nucleicos o la construcción a expresar se clona preferentemente en un vector, que es adecuado para la transformar *Agrobacterium tumefaciens*, por ejemplo, pBin19 (Bevan y col., Nucl. Acids Res. 12 (1984) 8711). La agrobacteria transformada por dicho vector puede después utilizarse de una manera conocida para la transformación de plantas, tales como las plantas utilizadas como un modelo, como *Arabidopsis (Arabidopsis thaliana* no se considera como una planta de cultivo) o plantas de cultivo tales como, por ejemplo, plantas de tabaco, por ejemplo sumergiendo hojas magulladas u hojas picadas en una solución agrobacteriana y después cultivarlas en un medio adecuado. La transformación de plantas mediante *Agrobacterium tumefaciens* la describen, por ejemplo, Höfgen y Willmitzer en Nucl. Acid Res. (1988) 16, 9877 o se conoce, entre otros, de F.F. White, Vectors for Gene Transfer in Higher Plants; en Transgenic Plants, Vol. 1, Engineering and Utilization, eds. S.D. Kung y R. Wu, Academic Press, 1993, págs. 15-

Además de la transformación de células somáticas, que después deben regenerarse en plantas intactas, también es posible transformar las células de meristemos de planta y en particular aquellas células que se desarrollan en gametos. En este caso, los gametos transformados siguen el desarrollo natural de la planta, dando lugar a plantas transgénicas. Por tanto, por ejemplo, semillas de Arabidopsis se tratan con agrobacterias y se obtienen semillas del desarrollo de plantas de las que se transforma una determinada proporción y por tanto transgénicas [Feldman, KA y Marks MD (1987). Mol Gen Genet 208: 274-289; Feldmann K (1992). En: C Koncz, N-H Chua y J Shell, eds, Methods in Arabidopsis Research. Word Scientific, Singapore, págs. 274-289]. Los procedimientos alternativos se basan en la eliminación repetida de las influorescencias y la incubación del sitio de escisión en el centro de la roseta con agrobacterias transformadas, por lo que las semillas transformadas pueden obtenerse de modo similar en un punto final de tiempo (Chang (1994). Plant J. 5: 551-558; Katavic (1994). Mol Gen Genet, 245: 363-370). Sin embargo, un procedimiento especialmente eficaz es el procedimiento de infiltración por vacío con sus modificaciones tal como el procedimiento de "inmersión floral". En el caso de infiltración por vacío de Arabidopsis, las plantas intactas bajo presión reducida se tratan con una suspensión agrobacteriana [Bechthold, N (1993). C R Acad Sci Paris Life Sci, 316: 1194-1199], mientras que en el caso del procedimiento de "inmersión floral" el tejido floral en desarrollo se incuba brevemente con una suspensión agrobacteriana tratada con tensioactivo [Clough, SJ y Bent AF (1998) The Plant J. 16, 735-743]. En ambos casos se recoge una determinada proporción de semillas transgénicas y estas semillas pueden diferenciarse de semillas no transgénicas al cultivar baio las condiciones selectivas descritas anteriormente. Además, la transformación estable de los plástidos es ventajosa ya que estos se heredan por vía materna en la mayor parte de los cultivos reduciendo o eliminando el riesgo de flujo transgénico a través del polen. La transformación del genoma de cloroplasto se realiza generalmente mediante un proceso que han presentado esquemáticamente Klaus y col., 2004 [Nature Biotechnology 22 (2), 225-229]. En resumen las secuencias a transformar se clonan junto con un gen marcador de selección entre las secuencias flanqueantes homólogas al genoma de cloroplasto. Estas secuencias flanqueantes homólogas dirigen la integración específica de sitio en el plastoma. La transformación plastidial se ha descrito para muchas especies de plantas diferentes y se ofrece una revisión en Bock (2001) Transgenic plastids in basic research and plant biotechnology. J Mol Biol. 2001 Sep 21; 312 (3):v425-38 o Maliga, P (2003) Progress towards commercialization of plastid transformation technology. Trends Biotechnol. 21, 20-28. Recientemente se han descrito progresos biotecnológicos adicionales en forma de transformantes plastidiales sin marcador, que pueden producirse mediante un gen marcador co-integrado transitorio (Klaus y col., 2004, Nature Biotechnology 22(2), 225-229).

40 Etiquetado en activación de ADN-T

El etiquetado en activación de ADN-T (Hayashi y col. Science (1992) 1350-1353), implica la inserción de ADN-T, que normalmente contiene un promotor (también puede ser un potenciador de traducción o un intrón), en la región genómica del gen de interés o 10 kb en la dirección 3' o 5' de la región codificante de un gen en una configuración de tal manera que el promotor dirige la expresión del gen diana. Típicamente, la regulación de la expresión del gen diana mediante su promotor natural se interrumpe y el gen cae bajo el control del promotor nuevamente inducido. El promotor se incorpora típicamente en un ADN-T. Este ADN-T se inserta al azar en el genoma de la planta, por ejemplo, a través de infección por *Agrobacterium* y conduce a expresión modificada de genes cerca al ADN-T insertado. Las plantas transgénicas resultantes muestran fenotipos dominantes debido a expresión modificada de los genes cerca al promotor introducido.

50 TILLING

10

15

20

25

30

35

45

55

60

El término "TILLING" es una abreviatura de "Targeted Induced Local Lesions In Genomes" (Inducción Dirigida de Lesiones Locales en el Genoma") y se refiere a una tecnología de mutagénesis que es útil para generar y/o identificar ácidos nucleicos que codifican proteínas con expresión y/o actividad modificada. El TILLING también permite la selección de plantas que llevan dichas variantes mutantes. Estas variantes mutantes pueden presentar expresión modificada, en fuerza o en localización o en tiempo (por ejemplo, si las mutaciones afectan al promotor). Estas variantes mutantes pueden presentar mayor actividad que la mostrada por el gen en su forma natural. El TILLING combina mutagénesis de alta densidad con procedimientos de detección de alto rendimiento. Las etapas que típicamente se siguen en el TILLING son: (a) mutagénesis EMS (Redei GP y Koncz C (1992) En Methods in Arabidopsis Research, Koncz C, Chua NH, Schell J, eds. Singapore, World Scientific Publishing Co, págs. 16-82; Feldmann y col., (1994) En Meyerowitz EM, Somerville CR, eds, Arabidopsis. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, pp 137-172; Lightner J y Caspar T (1998) En J Martinez- Zapater, J Salinas, eds, Methods on Molecular Biology, Vol. 82. Humana Press, Totowa, NJ, págs. 91-104); (b) preparación y agrupamiento de ADN

en individuos; (c) amplificación por PCR de una región de interés; (d) desnaturalización e hibridación para permitir la formación de heteroduplex; (e) DHPLC, donde la presencia de un heteroduplex en un grupo se detecta como un pico extra en el cromatograma; (f) identificación del mutante individual; y (g) secuenciación del producto PCR mutante. En la técnica se conocen bien procedimientos de TILLING (McCallum y col., (2000) Nat Biotechnol 18: 455-457; revisado por Stemple (2004) Nat Rev Genet 5(2): 145-50).

Recombinación homóloga

La recombinación homóloga permite la introducción en un genoma de un ácido nucleico seleccionado en una posición definida seleccionada. La recombinación homóloga es una tecnología convencional utilizada rutinariamente en ciencias biológicas para organismos inferiores tales como levaduras o el musgo *Physcomitrella*. Se han descrito procedimientos para realizar recombinación homóloga en plantas no solo para el modelo de plantas (Offringa y col. (1990) EMBO J 9(10): 3077-84) sino también para plantas de cultivo, por ejemplo arroz (Terada y col. (2002) Nat Biotech 20(10): 1030-4; lida y Terada (2004) Curr Opin Biotech 15(2): 132-8).

Rendimiento

5

10

25

30

35

40

45

50

55

El término "rendimiento" en general significa un producto medible de valor económico, típicamente relacionado con un cultivo, un área y un periodo de tiempo específicos. Las partes de planta individuales contribuyen directamente al rendimiento en base a su número, tamaño y/o peso, o al rendimiento real es el rendimiento por metro cuadrado de un cultivo y año, que se determina dividiendo el rendimiento total (incluyendo la producción cosechada y valorada) por metro cuadrado plantado. El término "rendimiento" de una planta puede relacionarse con biomasa vegetativa (biomasa de raíz y/o brote), con órganos reproductores y/o con propágulos (tal como semillas) de esta planta.

20 Vigor temprano

"Vigor temprano" se refiere a un crecimiento bien equilibrado saludable activo especialmente durante las etapas tempranas del crecimiento de la planta, y puede ser el resultado del aumento de la eficacia biológica de la planta debido a, por ejemplo, plantas que están mejor adaptadas a su ambiente (es decir, optimizando el uso de fuentes de energía y repartiendo entre brotes y raíces). Las plantas que tienen vigor temprano también muestran supervivencia aumentada de plántula y un mejor establecimiento del cultivo, que a menudo produce campos muy uniformes (con el crecimiento de cultivo de una manera uniforme, es decir, alcanzando la mayoría de las plantas las diversas etapas de desarrollo a sustancialmente el mismo tiempo) y a menudo mejor y mayor rendimiento. Por lo tanto, el vigor temprano puede determinarse midiendo diversos factores, tales como, peso de mil granos, porcentaje de germinación, porcentaje de emergencia, crecimiento de plántula, altura de la plántula, longitud de raíz, biomasa de brote y raíz y muchos más.

Aumento/Mejora/Potenciación

Los términos "aumento", "mejora" o "potenciación" son intercambiables y significan en el sentido de la solicitud al menos un 3 %, 4 %, 5 %, 6 %, 7 %, 8 %, 9 % o 10 %, preferentemente al menos 15 % o 20 %, más preferentemente 25 %, 30 %, 35 % o 40 % más rendimiento y/o crecimiento en comparación con plantas de control como se define en el presente documento.

Rendimiento de semilla

El rendimiento de semilla aumentado puede manifestarse por sí misma como uno o más de los siguientes: a) un aumento en biomasa de semilla (peso total de semilla) que puede establecerse sobre una semilla individual y/o por planta y/o por metro cuadrado; b) número de flores por planta aumentado; c) número de semillas (llenas) aumentado; d) índice de llenado de semilla aumentado (que se expresa como la proporción entre el número de semillas llenas dividido entre el número total de semillas); e) índice de cosecha aumentado, que se expresa como una proporción del rendimiento de partes cosechables, tales como semillas, dividido entre la biomasa total; y f) peso de mil granos (PMG) aumentado, que se extrapola a partir del número de semillas llenas contadas y su peso total. Un PMG aumentado puede ser el resultado de un tamaño y/o peso de semilla aumentado, y también puede ser el resultado de un aumento en el tamaño de embriones y/o endospermo.

También puede manifestarse un aumento en el rendimiento de semilla como un aumento del tamaño de la semilla y/o volumen de la semilla. Además, también puede manifestarse un aumento en el rendimiento de semilla en sí mismo como un aumento en el área de semilla y/o longitud de semilla y/o anchura de semilla y/o perímetro de semilla. El rendimiento aumentado puede ser también el resultado de arquitectura modificada o puede ocurrir debido a la arquitectura modificada.

Índice de verdor

El "índice de verdor" como se usa en el presente documento se calcula a partir de imágenes digitales de plantas. Para cada pixel que pertenece al objeto de la planta sobre la imagen, se calcula la proporción del valor verde frente al valor rojo (en el modelo RGB por el que se codifica el color). El índice de verdor se expresa como el porcentaje de pixeles para el que la proporción de verde con respecto a rojo supera un umbral determinado. En condiciones de

crecimiento normales, en condiciones de crecimiento de estrés salino, y en condiciones de crecimiento de disponibilidad de nutrientes reducida, el índice de verdor de las plantas se mide en la última imagen antes de la floración. Por otro lado, en condiciones de crecimiento de estrés por sequía, el índice de verdor de las plantas se mide en la primera imagen después de la sequía.

5 Planta

10

15

20

25

30

35

40

50

El término "planta" como se usa en el presente documento incluye plantas completas, antecesores y progenie de las plantas y partes de las plantas, incluyendo semillas, brotes, tallos, hojas, raíces (incluyendo tubérculos), flores y tejidos y órganos, donde cada uno de los elementos anteriormente mencionados comprende el gen/ácido nucleico de interés. El término "planta" también incluye células de planta, cultivos en suspensión, tejido de callo, embriones, regiones meristemáticas, gametofitos, esporofitos, polen y microesporas, de nuevo donde cada uno de los elementos mencionados anteriormente comprende el gen/ácido nucleico de interés.

Las plantas que son particularmente útiles en los procedimientos de la invención incluyen todas las plantas que pertenecen a la superfamilia Viridiplantae, en particular plantas monocotiledóneas y dicotiledóneas incluyendo forraje o leguminosas forrajeras, plantas ornamentales, cultivos alimenticios, árboles o arbustos seleccionados de la lista que comprende Acer spp., Actinidia spp., Abelmoschus spp., Agave sisalana, Agropyron spp., Agrostis stolonifera, Allium spp., Amaranthus spp., Ammophila arenaria, Ananas comosus, Annona spp., Apium graveolens, Arachis spp, Artocarpus spp., Asparagus officinalis, Avena spp. (por ejemplo, Avena sativa, Avena fatua, Avena byzantina, Avena fatua var. sativa, Avena hybrida), Averrhoa carambola, Bambusa sp., Benincasa hispida, Bertholletia excelsea, Beta vulgaris, Brassica spp. (por ejemplo Brassica napus, Brassica rapa ssp. [canola, colza, nabo]), Cadaba farinosa, Camellia sinensis, Canna indica, Cannabis sativa, Capsicum spp., Carex elata, Carica papaya, Carissa macrocarpa, Carya spp., Carthamus tinctorius, Castanea spp., Ceiba pentandra, Cichorium endivia, Cinnamomum spp., Citrullus lanatus, Citrus spp., Cocos spp., Coffea spp., Colocasia esculenta, Cola spp., Corchorus sp., Coriandrum sativum, Corylus spp., Crataegus spp., Crocus sativus, Cucurbita spp., Cucumis spp., Cynara spp., Daucus carota, Desmodium spp., Dimocarpus longan, Dioscorea spp., Diospyros spp., Echinochloa spp., Elaeis (por ejemplo Elaeis guineensis, Elaeis oleifera), Eleusine coracana, Erianthus sp., Eriobotrya japonica, Eucalyptus sp., Eugenia uniflora, Fagopyrum spp., Fagus spp., Festuca arundinacea, Ficus carica, Fortunella spp., Fragaria spp., Ginkgo biloba, Glycine spp. (por ejemplo Glycine max, Soja hispida o Soja max), Gossypium hirsutum, Helianthus spp. (por ejemplo Helianthus annuus), Hemerocallis fulva, Hibiscus spp., Hordeum spp. (por ejemplo Hordeum vulgare), Ipomoea batatas, Juglans spp., Lactuca sativa, Lathyrus spp., Lens culinaris, Linum usitatissimum, Litchi chinensis, Lotus spp., Luffa acutangula, Lupinus spp., Luzula sylvatica, Lycopersicon spp. (por ejemplo Lycopersicon esculentum, Lycopersicon lycopersicum, Lycopersicon pyriforme), Macrotyloma spp., Malus spp., Malpighia emarginata, Mammea americana, Mangifera indica, Manihot spp., Manilkara zapota, Medicago sativa, Melilotus spp., Mentha spp., Miscanthus sinensis, Momordica spp., Morus nigra, Musa spp., Nicotiana spp., Olea spp., Opuntia spp., Ornithopus spp., Oryza spp. (por ejemplo Oryza sativa, Oryza latifolia), Panicum miliaceum, Panicum virgatum, Passiflora edulis, Pastinaca sativa, Pennisetum sp., Persea spp., Petroselinum crispum, Phalaris arundinacea, Phaseolus spp., Phleum pratense, Phoenix spp., Phragmites australis, Physalis spp., Pinus spp., Pistacia vera, Pisum spp., Poa spp., Populus spp., Prosopis spp., Prunus spp., Psidium spp., Punica granatum, Pyrus communis, Quercus spp., Raphanus sativus, Rheum rhabarbarum, Ribes spp., Ricinus communis, Rubus spp., Saccharum spp., Salix sp., Sambucus spp., Secale cereale, Sesamum spp., Sinapis sp., Solanum spp. (por ejemplo Solanum tuberosum, Solanum integrifolium o Solanum lycopersicum), Sorghum bicolor, Spinacia spp., Syzygium spp., Tagetes spp., Tamarindus indica, Theobroma cacao, Trifolium spp., Triticosecale rimpaui, Triticum spp. (por ejemplo Triticum aestivum, Triticum durum, Triticum turgidum, Triticum hybernum, Triticum macha, Triticum sativum o Triticum vulgare), Tropaeolum minus, Tropaeolum majus, Vaccinium spp., Vicia spp., Vigna spp., Viola odorata, Vitis spp., Zea mays, Zizania palustris, Ziziphus spp., entre otras.

45 **Descripción detallada**

Descripción detalla para el polipéptido de Anquirina – dedo de Zn

Sorprendentemente, la memoria descriptiva describe que la modulación de la expresión en una planta de un ácido nucleico que codifica el polipéptido AZ de *Arabidopsis* (AtAZ) o un homólogo del mismo proporciona plantas que tienen un rendimiento aumentado con respecto a plantas de control. De acuerdo con una realización de la presente invención, la memoria descriptiva describe un procedimiento para aumentar el rendimiento de plantas, que comprende modular la expresión en una planta de un ácido nucleico que codifica el polipéptido AZ o un homólogo del mismo. Ventajosamente, la realización de los procedimientos de acuerdo con la presente memoria descriptiva da como resultado plantas que tienen rendimiento aumentado, particularmente rendimiento de semillas, con respecto a plantas de tipo silvestre correspondientes.

Una "referencia", "planta de referencia", "control", "planta de control", "tipo silvestre" o "planta de tipo silvestre" es en particular una célula, un tejido, un órgano, una planta, o una parte de la misma, que no se produjo de acuerdo con el procedimiento descrito en el presente documento. Por consiguiente, las expresiones "tipo silvestre", "control" o "referencia" son intercambiables y pueden ser una célula o una parte de la planta tal como un orgánulo o tejido, o una planta, que no se ha modificado o tratado de acuerdo con el procedimiento descrito en el presente documento.

Por consiguiente, la célula o una parte de la planta tal como un orgánulo o una planta utilizada como tipo silvestre,

control o referencia corresponde a la célula, planta o parte de la misma tanto como sea posible y es en cualquier otra propiedad aunque en el resultado del proceso como se describe en el presente documento sea idéntica a la materia objeto como se describe en el presente documento tanto como sea posible. Por lo tanto, el tipo silvestre, control o referencia se trata de modo idéntico o tan idéntico como sea posible, diciendo únicamente que las condiciones o propiedades deben ser diferentes, que no influyen en la calidad de la propiedad sometida a ensayo. Esto significa en otras palabras que el tipo silvestre indica (1) una planta, que lleva la forma no alterada o no modulada de un gen o alelo o (2) el material/planta de partida a partir del cual se producen las plantas mediante el proceso o procedimiento descrito en el presente documento.

5

10

40

Preferentemente, cualquier comparación entre las plantas de tipo silvestre y las plantas producidas por el procedimiento de la invención se realiza en condiciones análogas. La expresión "condiciones análogas" significa que todas las condiciones tales como, por ejemplo, cultivo o condiciones de cultivo, condiciones de ensayo (tal como composición del tampón, temperatura, sustratos, cepa patógena, concentración y similar) se mantienen idénticas entre los experimentos a comparar.

La "referencia", "control" o "tipo silvestre" es preferentemente un sujeto, por ejemplo, un orgánulo, una célula, una 15 tejido, una planta, que no se ha modulado, modificado o tratado de acuerdo con el procedimiento descrito en el presente documento como se describe en el presente documento y es en cualquier otra característica tan similar a la materia objeto como se describe en el presente documento como sea posible. La referencia, control o tipo silvestre es en su genoma, transcriptoma, proteoma o metaboloma tan similar como sea posible al sujeto como se describe en el presente documento. Preferentemente, la expresión orgánulo, célula, tejido o planta de "referencia", "control" o 20 "tipo silvestre" se refiere a un orgánulo, célula, tejido o planta, que es casi genéticamente idéntico al orgánulo, célula, tejido o planta, como se describe en el presente documento o una parte de la misma, preferentemente 95 %, más preferentemente 98 %, incluso más preferentemente 99,00 %, en particular 99,10 %, 99,30 %, 99,50 %, 99,70 %, 99,90 %, 99,99 %, 99,999 % o más. Más preferentemente, la "referencia", "control" o "tipo silvestre" es un sujeto, por ejemplo, un orgánulo, una célula, un tejido, una planta, que es genéticamente idéntico a la planta, orgánulo, célula 25 usado de acuerdo con el procedimiento como se describe en el presente documento, excepto que las moléculas de ácido nucleico o el producto génico codificado por las mismas se cambia, modula o modifica de acuerdo con el procedimiento de la invención.

El término "expresión" o "expresión génica" es como se define en el presente documento, preferentemente resulta en la aparición de un rasgo fenotípico como una consecuencia de la transcripción de un gen o genes específicos.

El aumento se refiere a la actividad de las cantidades del polipéptido en una célula, un tejido, un orgánulo, un órgano o un organismo o una parte de los mismos, preferentemente a al menos 5 %, preferentemente al menos 10 % o al menos 15 %, especialmente preferentemente al menos 20 %, 25 %, 30 % o más, muy especialmente preferentemente es al menos 40 %, 50 % o 60 %, más preferentemente es al menos 70 % o más en comparación con el control, referencia o tipo silvestre.

La expresión "rendimiento aumentado" como se define en el presente documento se considera que significa un aumento en biomasa (peso) de una o más partes de una planta, que puede incluir las partes sobre la superficie (cosechables) y/o partes (cosechables) por debajo de la superficie. En una realización preferida, el rendimiento aumentado es rendimiento de semilla aumentado.

Por lo tanto, dichas partes cosechables son preferentemente semillas, y la realización de los procedimientos de la invención da como resultado plantas que tienen rendimiento de semilla aumentado con respecto al rendimiento de semilla de las plantas de control.

Un aumento en el rendimiento de semilla también puede manifestarse como un aumento del tamaño de la semilla y/o del volumen de la semilla, que también puede influir en la composición de las semillas (incluyendo contenido y composición total de aceite, proteína y carbohidrato).

Tomando el maíz como un ejemplo, un aumento en el rendimiento puede manifestarse como uno o más de los siguientes: aumento en el número de plantas por metro cuadrado, un aumento en el número de espigas por planta, un aumento en el número de filas, número de granos por fila, peso de grano, peso de mil granos, longitud/diámetro de espiga, aumento en el índice de llenado de semilla (que es el número de semillas llenas dividido entre el número total de semillas y multiplicado por 100), entre otros. Tomando el arroz como un ejemplo, un aumento en el rendimiento puede manifestarse como un aumento en uno o más de los siguientes: número de plantas por metro cuadrado, número de panículas por planta, número de espiguillas por panícula, número de flores (floretes) por panícula (que se expresa como una proporción del número de semillas llenas dividido entre el número de panículas primarias), aumento en el índice de llenado de semilla (que es el número de semillas llenas dividido entre el número total de semillas y multiplicado por 100), aumento en peso de mil granos, entre otros. Un aumento en el rendimiento también puede ser resultado de arquitectura modificada o puede ocurrir como un resultado de arquitectura modificada.

De acuerdo con la memoria descriptiva, la realización de los procedimientos de la invención puede dar como resultado plantas que tienen un rendimiento aumentado, particularmente producción de la semilla. Por lo tanto, de

acuerdo con la presente memoria descriptiva, se proporciona un procedimiento para aumentar el rendimiento de una planta, cuyo procedimiento comprende modular la expresión en una planta de un ácido nucleico que codifica el polipéptido AZ o un homólogo del mismo.

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

Dado que las plantas transgénicas como se describe en el presente documento tienen rendimiento aumentado, es probable que estas plantas presenten una tasa de crecimiento aumentada (durante al menos parte de su ciclo de vida), con respecto a la tasa de crecimiento de plantas de control en una etapa correspondiente en su ciclo de vida. La tasa de crecimiento aumentada puede ser específica a una o más partes de una planta (incluyendo semillas), o puede ser sustancialmente en toda la planta. Las plantas que tienen una tasa de crecimiento aumentada pueden tener un ciclo de vida más corto. El ciclo de vida de una planta puede significar el tiempo necesario para crecer a partir de una semilla madura seca hasta la etapa en la que la planta ha producido semillas maduras secas, similar al material de partida. Este ciclo de vida puede estar influenciado por factores tales como vigor temprano, tasa de crecimiento, índice de verdor, tiempo de floración y velocidad de la maduración de semilla. El aumento en la tasa de crecimiento puede tener lugar en una o más etapas en el ciclo de vida de una planta o durante sustancialmente el ciclo de vida completo de la planta. Una tasa de crecimiento aumentada durante las etapas tempranas en el ciclo de vida de una planta puede reflejar un vigor potenciado. El aumento en la tasa de crecimiento puede alterar el ciclo de la cosecha de una planta lo que permite que las plantas se siembren más tarde y/o se cosechen más pronto de lo que de otra manera sería posible (puede obtenerse un efecto similar con el tiempo de floración más temprano). Si la tasa de crecimiento se aumenta suficientemente, puede permitir la siembra adicional de semillas de la misma especie de la planta (por ejemplo siembra y cosecha de plantas de arroz seguido de siembra y cosecha de plantas de arroz adicionales todas dentro de un periodo de crecimiento convencional). De manera similar, si la tasa de crecimiento se aumenta suficientemente, puede permitir la siembra adicional de semillas de diferentes especies de plantas (por ejemplo, la siembra y cosecha de plantas de maíz seguido de, por ejemplo, la siembra y cosecha opcional de plantas de soja, patata o cualquier otra planta adecuada). Los tiempos de cosecha adicionales del mismo rizoma en el caso de algunas plantas de cultivo también pueden ser posible. Alterar el ciclo de cosecha de una planta puede conducir a un aumento en producción de biomasa anual por metro cuadrado (debido a un aumento en el número de tiempos (dicho en un año) que se puede cultivar y cosechar cualquier planta particular). Un aumento en la tasa de crecimiento también puede permitir el cultivo de plantas transgénicas en un área geográfica más amplia que sus homólogos de tipo silvestre, debido a las limitaciones territoriales para cosechar un cultivo a menudo se determinan por condiciones ambientales adversas en el momento de plantar (estación temprana) o en el momento de cosechar (estación tardía). Dichas condiciones adversas pueden evitarse si se acorta el ciclo de cosecha. La tasa de crecimiento puede determinarse derivando diversos parámetros de curvas de crecimiento, dichos parámetros pueden ser: T-Medio (el tiempo que tarda una planta en alcanzar el 50 % de su tamaño máximo) y T-90 (el tiempo que tarda una planta en alcanzar el 90 % de su tamaño de máximo), entre otros.

De acuerdo con una característica preferida de la presente memoria descriptiva, la realización de los procedimientos de la invención proporciona plantas que tienen una tasa de crecimiento aumentada o rendimiento aumentado en comparación con plantas de control. Por lo tanto, de acuerdo con la presente memoria descriptiva, se proporciona un procedimiento para aumentar el rendimiento y/o la tasa de crecimiento en plantas, cuyo procedimiento comprende modular la expresión en una planta de un ácido nucleico que codifica el polipéptido AZ o un homólogo del mismo.

Un aumento en el rendimiento y/o tasa de crecimiento se produce cuando la planta está en condiciones de cero estrés o cuando la planta está expuesta a diversos tipos de estrés en comparación con las plantas de control. Típicamente las plantas responden a exposición frente al estrés creciendo más lentamente. En condiciones de estrés intenso, la planta puede incluso detener por completo el crecimiento. Por otro lado, estrés leve se define en el presente documento como cualquier estrés al que se expone una planta que no da como resultado el cese total del crecimiento de la planta sin la capacidad de reanudar el crecimiento. El estrés leve, como se describe en el presente documento, conduce a una reducción en el crecimiento de la planta estresada de menos de 40 %, 35 % o 30 %, preferentemente menos del 25 %, 20 % o 15 %, más preferentemente menos del 14 %, 13 %, 12 %, 11 % o 10% o menos en comparación con la planta de control en condiciones de cero estrés. Debido a los avances en las prácticas agrícolas (riego, fertilización, tratamientos con pesticidas) las formas de estrés intenso no se encuentran frecuentemente en plantas cultivadas. Como una consecuencia, el crecimiento comprometido inducido por estrés leve es a menudo una característica indeseable para la agricultura. El estrés leve es un estrés biótico y/o abiótico (ambiental) al cual está expuesta la planta. El estrés abiótico puede deberse a sequía o a exceso de agua, estrés anaeróbico, estrés salino, toxicidad química, estrés oxidativo y temperaturas altas, frías o heladas. El estrés abiótico puede ser un estrés osmótico provocado por estrés al aqua (particularmente debido a sequía), estrés salino, estrés oxidativo y un estrés iónico. El estrés biótico es típicamente aquel estrés provocado por patógenos, tales como bacterias, virus, hongos e insectos.

En particular, los procedimientos descritos en el presente documento pueden realizarse en condiciones de cero estrés o en condiciones de sequía leve para dar plantas con un rendimiento aumentado con relación a plantas de control. Como describen Wang y col. (Planta (2003) 218: 1-14), el estrés abiótico conduce a una serie de cambios morfológicos, fisiológicos, bioquímicos o moleculares que afectan adversamente al crecimiento de las plantas y a su productividad. Se sabe que la sequía, salinidad, temperaturas extremas y el estrés oxidativo se interconectan y que pueden inducir daño celular y en el crecimiento a través de mecanismos similares. Rabbani y col. (Plant Physiol (2003) 133: 1755-1767) describen un grado particularmente alto de "interferencia" entre estrés por sequía y estrés por alta salinidad. Por ejemplo, la sequía y/o salinización se manifiestan principalmente como estrés osmótico, que

produce la interrupción de homeostasis y distribución de iones en la célula. El estrés oxidativo, que frecuentemente acompañada alta o baja temperatura, estrés por salinidad o sequía, puede producir desnaturalización de las proteínas funcionales y estructurales. Como una consecuencia, este diverso estrés ambiental a menudo activa rutas de señalización celular y respuestas celulares similares, tales como la producción de proteínas de estrés, regulación por aumento de antioxidantes, acumulación de solutos compatibles y paralización del crecimiento. La expresión condiciones de "no estrés", como se usa en el presente documento, son aquellas condiciones ambientales que no imponen estrés a las plantas, tales como diversos tipos de estrés descritos anteriormente. Las condiciones de no estrés permiten el crecimiento óptimo de las plantas. Los expertos en la técnica son conscientes de las condiciones normales en el suelo y de las condiciones climáticas en una localización determinada.

La realización de los procedimientos como se describe en el presente documento da lugar a plantas cultivadas en condiciones de cero estrés o en condiciones de sequía leve de rendimiento aumentado con respecto a plantas de control que crecen en condiciones comparables. Por lo tanto, de acuerdo con la presente memoria descriptiva, se proporciona un procedimiento para aumentar el rendimiento en plantas que crecen en condiciones de cero estrés o en condiciones de sequía leve, cuyo procedimiento comprende aumentar la expresión en una planta de un ácido nucleico que codifica un polipéptido AZ.

Como se describe en el presente documento, el aumento del rendimiento y/o tasa de crecimiento se produce de acuerdo con los procedimientos de la presente memoria descriptiva en condiciones de cero estrés.

La realización de los procedimientos como se describe en el presente documento da lugar a plantas que crecen en condiciones de déficit de nutrientes, particularmente en condiciones de déficit de nitrógeno, rendimiento aumentado con respecto a plantas de control que se cultivan en condiciones comparables. Por lo tanto, de acuerdo con la presente memoria descriptiva, se proporciona un procedimiento para aumentar el rendimiento en plantas que se cultivan en condiciones de déficit de nutrientes, cuyo procedimiento comprende aumentar la expresión en una planta de un ácido nucleico que codifica un polipéptido AZ. El déficit de nutrientes puede resultar de una carencia de nutrientes, tales como nitrógeno, fosfatos y otros compuestos que contienen fósforo, potasio, calcio, cadmio, magnesio, manganeso, hierro y boro, entre otros.

Los procedimientos como se describe en el presente documento son ventajosamente aplicables a cualquier planta. Las características de cultivo mencionadas anteriormente pueden modificarse ventajosamente en cualquier planta. Las plantas que son particularmente útiles en los procedimientos descritos en el presente documento incluyen todas las plantas que pertenecen a la superfamilia *Viridiplantae*, en particular plantas monocotiledóneas y dicotiledóneas que incluyen forraje o leguminosas forrajeras, plantas ornamentales, cultivos alimenticios, árboles o arbustos. Como se describe en el presente documento, la planta es una planta de cultivo. Ejemplos de plantas de cultivo incluyen soja, girasol, canola, alfalfa, colza, algodón, tomate, patata y tabaco. Adicionalmente de modo preferente, la planta es una planta monocotiledónea. Ejemplos de plantas monocotiledóneas incluyen caña de azúcar. Más preferentemente la planta es un cereal. Ejemplos de cereales incluyen arroz, maíz, trigo, cebada, mijo, centeno, triticale, sorgo y avena.

Otras plantas ventajosas se seleccionan del grupo que consiste en Asteraceae, tal como los géneros Helianthus, Tagetes, por el ejemplo las especies Helianthus annuus [girasol], Tagetes lucida, Tagetes erecta o Tagetes tenuifolia [caléndula]; Brassicaceae tal como el género Brassica, por ejemplo las especies Brassica napus, Brassica rapa ssp. [canola, colza, nabo]; Fabaceae tal como el género Glycine por ejemplo las especies Glycine max, Soja hispida o Soja max [soja]; Linaceae tal como el género Linum, por ejemplo las especies Linum usitatissimum, [lino, linaza]; Poaceae tal como los géneros Hordeum, Secale, Avena, Sorghum, Oryza, Zea, Triticum por ejemplo las especies Hordeum vulgare [cebada], Secale cereale [centeno], Avena sativa, Avena fatua, Avena byzantina, Avena fatua var. sativa, Avena hybrida [avena], Sorghum bicolour [sorgo, mijo], Oryza sativa, Oryza latifolia [arroz], Zea mays [mazorca, maíz] Triticum aestivum, Triticum durum, Triticum turgidum, Triticum hybernum, Triticum macha, Triticum sativum o Triticum vulgare [trigo, trigo harinero, trigo común]; Solanaceae tal como los géneros Solanum, Lycopersicon por ejemplo las especies Solanum tuberosum [patata], Lycopersicon esculentum, Lycopersicon lycopersicum, Lycopersicon pyriforme, Solanum integrifolium o Solanum lycopersicum [tomate].

La expresión "polipéptido AtAZ o un homólogo del mismo" como se define en el presente documento se refiere a proteínas que comprenden al menos una repetición de anquirina y al menos un dominio C3H1 de dedo de Cinc, cuya repetición de anquirina se localiza cadena arriba del dominio C3H1. Preferentemente, la proteína AZ comprende dos repeticiones de anquirina y dos dominios C3H1 de dedo de Cinc, tal como en la proteína representada en la SEC ID Nº: 2. Además preferentemente, las dos repeticiones de anquirina se localizan próximas entre sí. Preferentemente de manera adicional, los dominios C3H1 de dedo de Cinc también se localizan próximos entre sí y en el extremo C de las repeticiones de anquirina. En la SEC ID Nº: 2, las repeticiones de anquirina se localizan en las posiciones D90 a R120 y D125 a L157, los dos dominios de dedo de Cn se localizan en las posiciones H301 a V327 y Q336 a P359 (Figura 1).

También preferentemente, la proteína AtAZ comprende al menos una de las siguientes secuencias consenso:

(P/A)CSRAY(S/T)HDWTEC (motivo 1, SEC ID N°: 3) HPGENARRDPR (motivo 2, SEC ID N°: 4)

20

25

30

35

40

45

50

55

HG(V/I)FE(C/S)WLHP(A/S)QY(R/K)TRLCK (motivo 3, SEC ID N°: 5) CFFAH (motivo 4, SEC ID N°: 6)

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

Preferentemente el motivo 1 es PCSRAYSHDWTEC, y el motivo 3 es preferentemente HGVFECWLHPAQYRTRLCK.

5 Más preferentemente, la proteína AtAZ comprende dos de los motivos mencionados anteriormente, especialmente de modo preferente 3 de los motivos mencionados anteriormente, más preferentemente los cuatro motivos.

La repetición de anquirina (SMART SM00248, Interpro IPR002110), como se describe en la base de datos Interpro, es uno de los motivos de interacción proteína-proteína más habituales en la naturaleza. Las repeticiones de anquirina son moléculas repetidas (normalmente en tándem) normalmente de aproximadamente 33 aminoácidos. Se producen en una gran cantidad de proteínas funcionalmente diversas principalmente de eucariotas. Los pocos ejemplos conocidos de procariotas y virus pueden ser el resultado de transferencias génicas horizontales. La repetición se ha encontrado en proteínas de diversa función tales como iniciadores transcripcionales, reguladores del ciclo celular, transportadores citoesqueléticos, iónicos y transductores de señales. El pliegue de anquirina parece definirse por su estructura en lugar de por su función ya que no reconoce universalmente ninguna secuencia o estructura específica. El plegamiento conservado de la unidad de repetición de anquirina se conoce a partir de diversas estructuras cristalinas y en solución. Cada repetición se pliega en una estructura de hélice-bucle-hélice con una región beta-horquilla/bucle que se proyecta fuera de las hélices a un ángulo de 90°. Las repeticiones se apilan a la vez para formar una estructura en forma de L.

Se piensa que el dominio de dedo de Cinc ZnF_C3H1 (también conocido como Znf_CCCH, SMART SM00356; Interpro IPR000571), como se describe en la base de datos Interpro, está implicado en la unión a ADN. Los dedos de Cinc existen como tipos diferentes, dependiendo de las posiciones de los restos de cisteína. Las proteínas que contienen dominios de dedo de Cinc del tipo C-x8-C-x5-C-x3-H (representando x en el presente documento cualquier aminoácido y los dígitos 8, 5 y 3 el número de aminoácidos entre los restos C o H conservados) incluyen proteínas de dedo de cinc de eucariotas implicadas en el ciclo celular o regulación relacionada con la fase de crecimiento, por ejemplo TIS11B humano (factor 1 de respuesta a butirato), una probable proteína reguladora implicada en la regulación de la respuesta a factores de crecimiento, y la proteína nuclear inducible por el factor de crecimiento TTP de ratón, que tiene la misma función. La proteína TTP de ratón está inducida por factores de crecimiento. Otra proteína que contiene este dominio es la subunidad de 35 Kd del factor de corte y empalme humano U2AF, que desempeña una función crítica en el corte y empalme dependiente de potenciador y constitutivo mediando interacciones proteína-proteína esenciales e interacciones proteína-ARN necesarias para la selección en el sitio de corte y empalme 3'. Se ha observado que diferentes proteínas de dedo de Cinc CCCH interaccionan con la región no traducida 3' de diversos ARNm. Es muy frecuente que este tipo de dedo cinc esté presente en dos copias.

La Figura 2 describe las secuencias consenso como se definen en la base de datos SMART para el dominio de anquirina y el dominio de dedo de cinc; sin embargo debe observarse que estas secuencias consenso podrían estar sesgadas hacia secuencias de proteínas animales.

Los términos "domino" y "motivo" se definen en la sección "definiciones" del presente documento. Existen bases de datos especialistas para la identificación de dominios. El dominio C3H1 o de anquirina en una proteína AZ puede identificarse usando, por ejemplo, SMART (Schultz y col. (1998) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95, 5857-5864; Letunic y col. (2002) Nucleic Acids Res 30, 242-244), InterPro (Mulder y col., (2003) Nucl. Acids. Res. 31, 315-318), Prosite (Bucher y Bairoch (1994), A generalized profile syntax for biomolecular sequences motifs and its function in automatic sequence interpretation. (In) ISMB-94; Proceedings 2nd International Conference on Intelligent Systems for Molecular Biology. Altman R., Brutlag D., Karp P., Lathrop R., Searls D., Eds., págs. 53-61, AAAIPress, Menlo Park; Hulo y col., Nucl. Acids. Res. 32: D134-D137, (2004)) or Pfam (Bateman y col., Nucleic Acids Research 30(1): 276-280 (2002)) o Pfam (Bateman y col., Nucleic Acids Research 30(1): 276-280 (2002)) o Pfam (Bateman y col., Nucleic Acids Research 30(1): 276-280 (2002)). En el servidor proteómico ExPASY se encuentra disponible un conjunto de herramientas para análisis por ordenador de las secuencias de proteína (proporcionado por el Swiss Institute of Bioinformatics (Gasteiger y col., ExPASy: the proteomics server for in-depth protein knowledge and analysis, Nucleic Acids Res. 31: 3784-3788(2003)). La secuencia de la proteína AZ se analizó con la herramienta SMART (versión 4.1; Schultz y col. (1998) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95, 5857-5864; Letunic y col. (2002) Nucleic Acids Res 30, 242-244) y se usó para seleccionar la base de datos Pfam (Versión 17.0, marzo de 2005; Bateman y col. (2004) Nucl. Acids Res. 32, D138-141) e InterPro (Release 11.0, 26 de julio de 2005; Mulder y col. (2005) Nucl. Acids. Res. 33, D201-205).

Alineando otras secuencias de proteína con la SEC ID Nº: 2, las secuencias consenso correspondientes, el dominio C3H1, el dominio de anquirina u otros motivos de secuencia pueden identificarse fácilmente. De este modo, los polipéptidos AZ u homólogos de los mismos (que incluyen ortólogos y parálogos) pueden identificarse fácilmente, utilizando técnicas rutinarias bien conocidas en la técnica, tal como mediante alineamiento de secuencias. Los procedimientos para el alineamiento de las secuencias para comparación son bien conocidos en la técnica, dichos procedimientos incluyen GAP, BESTFIT, BLAST, FASTA y TFASTA. GAP utiliza el algoritmo de Needleman y Wunsch ((1970) J Mol Biol 48: 443-453) para encontrar el alineamiento de las dos secuencias que maximizan el número de emparejamientos y minimiza el número de espacios. El algoritmo BLAST (Altschul y col. (1990) J Mol Biol 215: 403-10) calcula el porcentaje de identidad de secuencia y desarrolla un análisis estadístico de la similitud entre

las dos secuencias. El programa informático para realizar el análisis BLAST está públicamente disponible a través del National Centre for Biotechnology Information. Los homólogos pueden identificarse fácilmente utilizando, por ejemplo, el algoritmo de alineamiento de secuencia múltiple ClustalW (versión 1.83), con los parámetros de alineamiento por pares predeterminados, y un procedimiento de clasificación en porcentaje. Los porcentajes globales de similitud e identidad también pueden determinarse utilizando uno de los procedimientos disponibles en el paquete informático MatGAT (Campanella y col., BMC Bioinformatics. 10 de julio, 2003; 4: 29. MatGAT: una aplicación que genera matrices de similitud/identidad utilizando las secuencias de ADN o proteína.). Puede realizarse edición manual menor para optimizar el alineamiento entre los motivos conservados, como sería obvio para un experto en la técnica. Adicionalmente, en lugar de utilizar las secuencias de longitud completa para la identificación de homólogos, también pueden utilizarse dominios específicos (tal como el dominio C3H1 o de anquirina o uno de los motivos definidos anteriormente). Los valores de identidad de secuencia, que se indican adelante como un porcentaje, se determinaron sobre el dominio conservado o sobre la secuencia de ácidos nucleicos o aminoácidos completa utilizando los programas mencionados anteriormente utilizando parámetros predeterminados.

15 En la Tabla 1 del Ejemplo 1 se proporcionan ejemplos de proteínas AZ u homólogos de los mismas.

10

20

25

30

35

40

45

50

55

Las secuencias que se encuentran bajo la definición de "polipéptido AZ u homólogo del mismo" como se define en la reivindicación 1 y preferentemente comprenden también al menos una de las secuencias consenso de las SEC ID Nos: 3, 4, 5 o 6 como se define anteriormente, pueden ser adecuadas para su uso en los procedimientos de la invención. Preferentemente, el polipéptido es un polipéptido de *Arabidopsis thaliana*.

En el término "homólogos" se incluyen las secuencias ortólogas y las secuencias parálogas. Ortólogos y parálogos pueden encontrarse realizando una búsqueda BLAST denominada recíproca. Esta puede realizarse mediante un primer BLAST que implica una secuencia de consulta BLASTing (por ejemplo, SEC ID Nº: 1 o SEC ID Nº: 2) contra cualquier base de datos de secuencia, tal como la base de datos NCBI públicamente disponible. BLASTN o TBLASTX (utilizando valores predeterminados convencionales) pueden utilizarse cuando se parte de una secuencia de nucleótidos, y BLASTP o TBLASTN (usando valores predeterminados convencionales) pueden usarse cuando se parte de una secuencia de proteína. Los resultados BLAST pueden filtrarse opcionalmente. Las secuencias de longitud completa de los resultados filtrados o no filtrados vuelven después a buscarse con BLAST (segundo BLAST) contra las secuencias del organismo del cual deriva la secuencia de consulta (donde la secuencia de consulta es la SEC ID Nº: 1 o SEC ID Nº: 2, por lo que el segundo BLAST se realizaría contra las secuencias de Arabidopsis). Despues se comparan los resultados del primer y segundo BLAST. Se identifica un parálogo si un acierto de alta clasificación del segundo BLAST es de la misma especie de la que deriva la secuencia de consulta; un ortólogo se identifica si un acierto de alta clasificación no es de la misma especie del que deriva la de secuencia de consulta. Los ortólogos preferidos son los ortólogos de la SEC ID Nº: 1 o SEC ID Nº: 2. Los aciertos de alta clasificación son aquellos que tienen un valor E bajo. Cuanto menor es el valor E, más significativa la clasificación (o en otras palabras menor es la probabilidad de que se encuentre el acierto casualmente). El cálculo del valor E es bien conocido en la técnica. Además de los valores E, las comparaciones también se clasifican mediante el porcentaje de identidad. El porcentaje de identidad se refiere al número de nucleótidos (o aminoácidos) idénticos entre las dos secuencias de ácidos nucleicos (o polipéptido) sobre una longitud particular. Preferentemente, la puntuación es mayor de 50, más preferentemente mayor de 100; y preferentemente el valor E es menor de e-5, más preferentemente menor de e-6. En el caso de grandes familias, puede usarse ClustalW, seguido de la generación de un árbol de unión del vecino más próximo para ayudar a visualizar el agrupamiento de los genes relacionados y para identificar los ortólogos y parálogos. Ejemplos de secuencias ortólogas a la SEC ID №: 2 incluyen la SEC ID №: 11, SEC ID Nº: 15 y SEC ID Nº: 17. La SEC ID Nº: 19 es un ejemplo de un parálogo de la SEC ID Nº: 2.

La memoria descriptiva describe proteínas de AZ que tienen, además de al menos una repetición de anquirina y al menos un dominio C3H1, en orden creciente de preferencia, una identidad de secuencia de al menos 26 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % con la proteína de SEC ID Nº: 2. La matriz mostrada en la Figura 3 (Matriz A) muestra similitudes e identidades (en negrita) sobre la longitud completa de diversas proteínas AZ. En caso de comparar solo dominios específicos, la identidad o similitud puede ser mayor entre las proteínas diferentes (Matriz B: comparación de una secuencia con dominio de dedo de Cn).

Puede realizarse un ensayo para determinar la actividad AZ. La actividad de unión a ADN e interacciones proteínaproteína pueden determinarse fácilmente *in vitro* o *in vivo* usando técnicas bien conocidas en el campo. Ejemplos de ensayos *in vitro* para la actividad de unión a ADN incluyen: análisis de retraso en gel o análisis de un híbrido en levadura. Un ejemplo de un ensayo *in vitro* para interacciones proteína-proteína es el análisis de doble híbrido en levadura (Fields y Song (1989) Nature 340: 245-6).

Además, como se describe en el presente documento, la expresión en plantas de la proteína AZ o de un homólogo de la misma, y en particular en arroz, tiene el efecto de aumentar el rendimiento de la planta transgénica cuando se compara con plantas de tipo silvestre correspondientes, donde el rendimiento aumentado comprende al menos uno de: peso total de semillas, número total de semillas y número de semillas llenas.

60 Un polipéptido de AZ u homólogo del mismo, como se define en el presente documento, está codificado por un ácido

nucleico/gen AZ. Por lo tanto, la expresión "ácido nucleico/gen AZ" como se define en el presente documento, es cualquier ácido nucleico/gen que codifica un polipéptido AZ o un homólogo del mismo como se define anteriormente. Los ejemplos de ácidos nucleicos AZ incluyen, pero sin limitación, los representados en la Tabla A del Ejemplo 1. Los ácidos nucleicos/genes AZ y variantes de los mismos pueden ser adecuados en la realización práctica de los procedimientos descritos en el presente documento. Preferentemente, las variantes de un gen AZ originado de *Arabidopsis thaliana*. Los ácidos nucleicos/genes de AZ variantes incluyen partes de un ácido nucleico/gen AZ, variantes de cortes y empalme, variantes alélicas y/o ácidos nucleicos que pueden hibridarse con un ácido nucleico/gen AZ.

En el presente documento la referencia a una "secuencia de ácidos nucleicos" se considera que significa una forma polimérica de un polímero de desoxirribonucleótido o ribonucleótido de cualquier longitud, mono o bicatenario o análogos del mismo, que tiene la característica esencial de un ribonucleótido natural en que puede hibridarse con secuencias de ácidos nucleicos de una manera similar a polinucleótidos de origen natural.

15

20

45

50

El término porción, como se describe en el presente documento, se refiere a un segmento de ADN que codifica un polipéptido que comprende al menos una repetición de anquirina y al menos un dominio de dedo Zn C3H1. Una porción puede prepararse, por ejemplo, realizando una o más deleciones en un ácido nucleico AZ. Las porciones pueden usarse en forma aislada o pueden fusionarse con otras secuencias codificantes (o no codificantes) para, por ejemplo, producir una proteína que combine varias actividades. Cuando se fusiona con otras secuencias codificantes, el polipéptido resultante producido después de la traducción puede ser más grande que el esperado para el fragmento AZ. La porción tiene típicamente al menos 500, 700 o 900 nucleótidos de longitud, preferentemente al menos 1100, 1300 o 1500 nucleótidos de longitud, más preferentemente al menos 1700, 1900 o 2100 nucleótidos de longitud y más preferentemente al menos 2300 o 2400 nucleótidos de longitud. Preferentemente, la porción es una porción de un ácido nucleico como se representa en la Tabla A del Ejemplo 1. Más preferentemente, la porción de un ácido nucleico AZ es como se representa en la SEC ID Nº: 1 o SEC ID Nº: 53.

Las expresiones "fragmento", "fragmento de una secuencia" o "parte de una secuencia", "porción" o "porción de la misma" significa una secuencia truncada de la secuencia original a la que se hace referencia. La secuencia truncada (secuencia de ácidos nucleicos o proteínas) puede variar ampliamente en longitud; siendo el tamaño mínimo una secuencia de suficiente tamaño para proporcionar una secuencia con al menos una función y/o actividad comparable de la secuencia original a la que se hace referencia o que se hibrida, en condiciones rigurosas, con la molécula de ácido nucleico como se describe en el presente documento o se usa en el procedimiento como se describe en el presente documento, aunque que el tamaño máximo no es crítico. En algunas aplicaciones, normalmente el tamaño máximo no es sustancialmente mayor que el necesario para proporcionar la actividad y/o función (o funciones) deseadas de la secuencia original. Una función comparable significa al menos 40 %, 45 % o 50 %, preferentemente al menos 60 %, 70 %, 80 % o 90 % o más de la función de la secuencia original.

Otra variante de un ácido nucleico/gen AZ como se define en el presente documento es un ácido nucleico que puede hibridarse en condiciones de rigurosidad reducida, preferentemente en condiciones rigurosas, con un ácido nucleico/gen AZ como se ha definido en el presente documento anteriormente o con una porción como se ha definido en el presente documento anteriormente. La secuencia de hibridación tiene típicamente al menos 300 nucleótidos de longitud, preferentemente al menos 400 nucleótidos de longitud, más preferentemente al menos 500 nucleótidos de longitud y más preferentemente al menos 600 nucleótidos de longitud.

Preferentemente, la secuencia de hibridación es una que puede hibridarse con un ácido nucleico como se representa por la SEC ID Nº: 1, SEC ID Nº: 10, SEC ID Nº: 12, SEC ID Nº: 14, SEC ID Nº: 16, SEC ID Nº: 18, SEC ID Nº: 20, SEC ID Nº: 22, SEC ID Nº: 24, SEC ID Nº: 26, SEC ID Nº: 28, SEC ID Nº: 30, SEC ID Nº: 32, SEC ID Nº: 34, SEC ID Nº: 36, SEC ID Nº: 38, SEC ID Nº: 40, SEC ID Nº: 42 o SEC ID Nº: 53 o con una porción de cualquiera de las secuencias mencionadas anteriormente, una porción como se ha definido anteriormente. Más preferentemente, la secuencia de hibridación puede hibridarse con la SEC ID Nº: 1, con la SEC ID Nº: 53 o con porciones (o sondas) de las mismas. En la técnica se conocen bien procedimientos para diseñar sondas. Las sondas tienen generalmente una longitud menor de 1000 pb, 900 pb, 800 pb, 700 pb, 600 pb, preferentemente menor de 500 pb, 400 pb, 300 pb 200 pb o 100 pb. Normalmente, las longitudes de sonda para hibridaciones de ADN-ADN, tal como transferencia de Southern, varían entre 100 y 500 pb, mientras que la región de hibridación en sondas para hibridaciones de ADN-ADN, tales como en amplificación por PCR, generalmente son más cortas que 50 pero más largas que 10 nucleótidos, preferentemente tienen una longitud de 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 o 50 pb.

Son también útiles en los procedimientos de la invención, ácidos nucleicos que codifican homólogos (incluyendo ortólogos o parálogos) de la secuencia de aminoácidos representada por la SEC ID Nº: 2 o derivados de la misma.

Otra variante de ácido nucleico útil en los procedimientos descritos en el presente documento es una variante de corte y empalme que codifica un polipéptido AZ como se define anteriormente. Como se describe en el presente documento las variantes de corte y empalme son variantes de corte y empalme del ácido nucleico que codifica un polipéptido que comprende al menos una repetición de anquirina y al menos un dominio C3H1. Preferentemente, el polipéptido AZ o el homólogo del mismo codificado por la variante de corte y empalme tiene una identidad de secuencia al menos 26 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %,

96 %, 97 %, 98 % o 99 % con la SEC ID N°: 2. Adicionalmente, la memoria descriptiva describe variantes de corte y empalme representadas por los ácidos nucleicos representados en la Tabla A del Ejemplo 1. Por ejemplo, la SEC ID N°: 25 y SEC ID N°: 47 están codificadas por variantes de corte y empalme del mismo gen. Por ejemplo la variante de corte y empalme representada por la SEC ID N°: 1 o SEC ID N°: 53.

Otra variante de ácido nucleico útil en los procedimientos descritos en el presente documento es una variante alélica de un ácido nucleico que codifica un polipéptido AZ como se define anteriormente. Preferentemente, el polipéptido codificado por la variante alélica está representado por las secuencias polipeptídicas indicadas en la Tabla A del Ejemplo 1. Más preferentemente, la variante alélica que codifica AZ se representa por la SEC ID Nº: 1.

Una variante de ácido nucleico adicional útil en los procedimientos descritos en el presente documento es una variante de ácido nucleico obtenida por combinación de genes. Además, puede usarse mutagénesis dirigida a sitio para generar variantes de ácidos nucleicos AZ. Se dispone de diversos procedimientos para realizar mutagénesis dirigida a sitio; siendo los más habituales los procedimientos basados en PCR (Current Protocols in Molecular Biology. Wiley Eds.).

Por lo tanto, la memoria descriptiva describe un procedimiento para aumentar el rendimiento y/o la tasa de crecimiento de una planta, que comprende modular la expresión en una planta de una variante de un ácido nucleico AZ seleccionado entre:

(i) una porción de un ácido nucleico AZ;

20

25

30

55

- (ii) un ácido nucleico que se hibrida con un ácido nucleico AZ;
- (iii) una variante de corte y empalme de un ácido nucleico que codifica un polipéptido AZ; y
- (iv) una variante alélica de un ácido nucleico que codifica un polipéptido AZ; y
- (v) una variante de ácido nucleico que codifica un polipéptido AZ obtenida por combinación de genes o mutagénesis dirigida a sitio.

El ácido nucleico AZ o variante del mismo, como se define en el presente documento, puede derivar de cualquier fuente natural o artificial. Este ácido nucleico puede modificarse de su forma nativa en composición y/o en medio genómico a través de manipulación humana deliberada. El ácido nucleico es preferentemente de origen vegetal, adicionalmente preferentemente de una especie dicotiledónea, más preferentemente de la familia Brassicaceae, más preferentemente de *Arabidopsis thaliana*. Más preferentemente, el ácido nucleico AZ es la secuencia de *Arabidopsis thaliana* representada por la SEC ID Nº: 1, y la secuencia de aminoácidos AZ es como se representa en la SEC ID Nº 47. Como alternativa, el ácido nucleico AZ representado por la SEC ID Nº: 53 o la secuencia de aminoácidos AZ como se representa por la SEC ID Nº: 47 también puede ser útil en los procedimientos de la presente invención.

Por lo tanto, cualquier referencia en el presente documento a un polipéptido AZ se entiende que se refiere a una proteína AZ como se define anteriormente. Cualquier ácido nucleico que codifique dicha proteína AZ es adecuado para su uso en los procedimientos como se describe en el presente documento.

De acuerdo con la presente memoria descriptiva, se contempla la expresión modulada, preferentemente aumentada, del ácido nucleico AZ o variante del mismo. Procedimientos para aumentar la expresión de genes o productos génicos están bien documentados en la técnica. La expresión de una secuencia de ácido nucleico que codifica un polipéptido de AZ puede modularse introduciendo una modificación genética, que puede introducirse, por ejemplo, mediante cualquiera de uno (o más) de los siguientes procedimientos: activación de ADN-T, TILLING, mutagénesis dirigida a sitio, evolución dirigida y recombinación homóloga o introduciendo y expresando en una planta un ácido nucleico que codifique un polipéptido AZ o un homólogo del mismo. Después de la introducción de la modificación genética, viene una etapa de selección para la expresión modificada de un ácido nucleico que codifica un polipéptido AZ o un homólogo del mismo, cuya modificación en la expresión da lugar a plantas con rendimiento aumentado. En la técnica también se conocen procedimientos para disminuir la expresión de genes o productos génicos.

La activación de ADN-T se describe anteriormente. En el locus de un gen AZ también puede introducirse una modificación genética usando la técnica de TILLING (Inducción Dirigida de Lesiones Locales en el Genoma). El locus de un gen, como se define en el presente documento, se entiende que se refiere a una región genómica, que incluye el gen de interés y 10 kb cadena arriba o cadena abajo de la región codificante. Puede usarse mutagénesis dirigida a sitio para generar variantes de ácidos nucleicos AZ. Se dispone de diversos procedimientos para realizar mutagénesis dirigida a sitio; siendo los más comunes los procedimientos basados en PCR (Current Protocols in Molecular Biology. Wiley Eds.). De acuerdo con la presente memoria descriptiva puede aplicarse recombinación homóloga.

La memoria descriptiva describe un procedimiento para introducir una modificación genética que consiste en introducir y expresar, en una planta, un ácido nucleico que codifica un polipéptido AZ o un homólogo del mismo como se define anteriormente. El ácido nucleico a introducir en una planta puede ser un ácido nucleico de longitud completa o puede ser una porción o una secuencia de hibridación como se ha definido anteriormente en el presente documento.

Adicionalmente, la memoria descriptiva describe construcciones genéticas y vectores para facilitar la introducción y/o

ES 2 451 669 T3

expresión de las secuencias de nucleótidos útiles en los procedimientos como se describe en el presente documento.

Por lo tanto, se describe una construcción génica que comprende:

5

10

15

20

30

35

40

45

50

55

- (i) un ácido nucleico AZ o variante del mismo como se define anteriormente en el presente documento:
- (ii) una o más secuencias de control unidas operativamente a la secuencia de ácidos nucleicos de (i);

En los procedimientos, como se describe en el presente documento, pueden crearse construcciones útiles utilizando tecnología de ADN recombinante bien conocida por los expertos en la técnica. Las construcciones génicas pueden insertarse en vectores, que pueden adquirirse en el comercio, adecuados para la transformación en plantas y adecuados para la expresión del gen de interés en las células transformadas. Por lo tanto, la memoria descriptiva describe el uso de una construcción génica, como se ha definido anteriormente en el presente documento, en los procedimientos como se describe en el presente documento.

Las plantas se transforman con un vector que comprende la secuencia de interés (es decir, un ácido nucleico que codifica un polipéptido AZ u homólogo del mismo). El experto es consciente de los elementos genéticos que deben estar presentes en el vector para realizar satisfactoriamente la transformación, selección y propagación de células hospedadoras que contienen la secuencia de interés. La secuencia de interés está unida operativamente a una o más secuencias de control (al menos a un promotor). Las expresiones "elemento regulador", "secuencia de control" y "promotor" se han definido anteriormente. Ventajosamente, puede utilizarse cualquier tipo de promotor para dirigir la expresión de la secuencia de ácidos nucleicos.

Generalmente se conocen promotores adecuados, que son funcionales en plantas. Estos pueden tener forma de promotores constitutivos o inducibles. Promotores adecuados pueden permitir la expresión específica de desarrollo y/o tejido en eucariotas multicelulares; por tanto, promotores específicos de hoja, raíz, flor, semilla, estroma, tubérculo o fruta pueden usarse ventajosamente en plantas.

Diferentes promotores de plantas que pueden usarse en plantas son promotores tales como, por ejemplo, el promotor USP, LegB4, CD3 o el promotor de ubiquitina de perejil.

Un promotor "de planta" comprende elementos reguladores, que median la expresión de un segmento de secuencia codificante en células de plantas. Por consiguiente, un promotor de planta no necesariamente es de origen vegetal, sino que puede originarse de virus o microorganismos, en particular, por ejemplo, de virus que atacan a células de plantas.

El promotor "de planta" también puede originarse una célula de planta, por ejemplo, de la planta que se transforma con la secuencia de ácido nucleico a expresar en el proceso de la invención y como se describe en el presente documento. Esto también se aplica a las otras señales reguladores "de plantas", por ejemplo en terminadores "de plantas".

Para la expresión en plantas. la molécula de ácido nucleico debe, como se ha descrito anteriormente, estar unida operativamente a o comprender un promotor adecuado que exprese el gen en el momento temporal correcto y de una manera específica de célula o de tejido. Son promotores útiles los promotores constitutivos (Benfey y col., EMBO J. 8 (1989) 2195-2202), tales como los que se originan de virus de plantas, tal como 35S CAMV (Franck y col., Cell 21 (1980) 285-294), 19S CaMV (véanse también los documentos US 5352605 y WO 84/02913), 34S FMV (Sanger y col., Plant. Mol. Biol., 14, 1990: 433-443), el promotor de ubiquitina de perejil, o promotores de plantas tales como el promotor de la subunidad pequeña de Rubisco descrito en el documento US 4.962.028 o los promotores PRP1 de plantas [Ward y col., Plant. Mol. Biol. 22 (1993)], SSU, PGEL1, OCS [Leisner (1988) Proc Natl Acad Sci USA 85(5): 2553-2557], lib4, usp, mas [Comai (1990) Plant Mol Biol 15 (3): 373-381], STLS1, ScBV (Schenk (1999) Plant Mol Biol 39(6): 1221-1230), B33, SAD1 o SAD2 (promotores de lino, Jain y col., Crop Science, 39 (6), 1999: 1696-1701) o nos [Shaw y col. (1984) Nucleic Acids Res. 12(20): 7831-7846]. Ejemplos adicionales de promotores constitutivos de plantas son los promotores ATPasa-V de la remolacha azucarera (documento WO 01/14572). Ejemplos de promotores constitutivos sintéticos son el promotor Super (documento WO 95/14098) y promotores derivados de cajas G (documento WO 94/12015). Si fuera apropiado, adicionalmente también se usan promotores químicamente inducibles, compárense los documentos EP-A 388186, EP-A 335528, WO 97/06268. La expresión estable, constitutiva de las proteínas como se describe en el presente documento de una planta puede ser ventajosa. Sin embargo, la expresión inducible del polipéptido como se describe en el presente documento es ventajosa, si, por ejemplo, la expresión tardía antes de la cosecha es de ventaja, ya que la manipulación metabólica puede conducir a retrasar el crecimiento de la planta.

La expresión de genes de plantas también puede facilitarse mediante un promotor químicamente inducible. Los promotores químicamente inducibles son particularmente adecuados cuando se desea expresar el gen de una manera específica del tiempo. Son ejemplos de dichos promotores un promotor inducible por ácido salicílico (documento WO 95/19443) y un promotor inducible por ácido abscísico (documento EP 335 528), un promotor inducible por tetraciclina (Gatz y col. (1992) Plant J. 2, 397-404), un promotor inducible por ciclohexanol o etanol (documento WO 93/21334) u otros como se describe en el presente documento.

Otros promotores adecuados son aquellos que reaccionan frente a condiciones de estrés biótico o abiótico, por ejemplo el promotor del gen PRP1 inducido por patógenos (Ward y col., Plant. Mol. Biol. 22 (1993) 361-366), el promotor hsp80 termoinducible del tomate (documento US 5.187.267), el promotor alfa-amilasa inducible por frio de la patata (documento WO 96/12814) o el promotor pinll inducible por daños (documento EP-A-0 375 091) u otros como se describe en el presente documento.

5

10

15

20

25

50

En el presente documento se describen promotores en particular aquellos que efectúan expresión de genes en tejidos y órganos, en células de semilla, tales como células de endospermo y células del embrión en desarrollo. Son promotores adecuados el promotor del gen napina de colza (documento US 5.608.152), el promotor USP de Vicia faba (Baeumlein y col., Mol Gen Genet, 1991, 225 (3): 459-67), el promotor de olesina de Arabidopsis (documento WO 98/45461), el promotor de faseolina de Phaseolus vulgaris (documento US 5.504.200), el promotor Bce4 de Brassica (documento WO 91/13980), el promotor arc5 de alubia, el promotor DcG3 de zanahoria, o el promotor B4 de Legumina (LeB4; Baeumlein y col., 1992, Plant Journal, 2 (2): 233-9) y promotores que efectúan la expresión específica de semilla en plantas monocotiledóneas tales como maíz, cebada, trigo, centeno, arroz y similares. Promotores específicos de semilla ventajosos son el promotor de proteína de unión a sacarosa (documento WO 00/26388), el promotor de faseolina y el promotor de napina. Promotores adecuados que deben tenerse en cuenta son el promotor del gen lpt2 o lpt1 de cebada (documentos WO 95/15389 y WO 95/23230) y los promotores descritos en el documento WO 99/16890 (promotores del gen de hordeína de cebada, del gen de glutelina de arroz, del gen de orizina de arroz, del gen de prolamina de arroz, del gen de gliadina de trigo, del gen de glutelina de trigo, del gen de zeína de maíz, del gen de glutelina de cebada, del gen de kasirina de sorgo y del gen de secalina de centeno). Otros promotores adecuados son Amy32b, Amy 6-6 y Aleuraína [documento US 5.677.474], Bce4 (colza) [documento US 5.530.149], glicinina (soja) [documento EP 571 741], fosfoenolpiruvato carboxilasa (soja) [documento JP 06/62870], ADR12-2 (soja) [documento WO 98/08962], isocitrato liasa (colza) [documento US 5.689.040] ο αamilasa (cebada) [documento EP 781 849]. Otros promotores que estás disponibles para la expresión de genes en plantas son los promotores específicos de hoja tales como los descritos en el documento DE-A 19644478 o promotores regulados por luz tales como, por ejemplo, el promotor petE del guisante.

Otros promotores de plantas adecuados son el promotor de FBPasa citosólico o el promotor de ST-LSI de la patata Stockhaus y col., EMBO J. 8, 1989, 2445), el promotor de fosforribosil pirofosfato aminotransferasa de *Glycine max* (Nº de entrada GenBank U87999) o el promotor específico de nodo descrito en el documento EP-A-0 249 676.

De acuerdo con una característica preferida de la invención, el ácido nucleico AZ o variante del mismo como se define en el presente documento está unido operativamente a un promotor específico de semilla. El promotor específico de semilla puede ser activo durante el desarrollo de la semilla y/o durante la germinación. Los promotores específicos de semilla son bien conocidos en la técnica. Preferentemente, el promotor específico de semilla es un promotor específico de embrión/específico de endospermo/específico de aleurona. Preferentemente además, el promotor específico de semilla conduce la expresión en al menos uno de: embrión, endospermo y aleurona. Más preferentemente, el promotor es un promotor WSI18 o un promotor funcionalmente equivalente. Más preferentemente, la secuencia promotora es como se representa en la SEC ID Nº: 9 o SEC ID Nº: 55. Anteriormente se han proporcionado ejemplos de otros promotores específicos de semilla (promotores específicos de embrión/específicos de endospermo/específicos de aleurona) que también pueden usarse para dirigir la expresión de un ácido nucleico AZ.

De acuerdo con la memoria descriptiva, el ácido nucleico AZ o variante del mismo como se define en el presente documento está unido operativamente a un promotor constitutivo. Un promotor constitutivo es un promotor constitutivo que también se expresa sustancialmente de manera ubicua. Adicionalmente se prefiere que el promotor derive de una planta, más preferentemente de una planta monocotiledónea. Un ejemplo de dicho promotor es el promotor GOS2 del arroz (SEC ID Nº: 54 o SEC ID Nº: 56). Anteriormente se han ofrecido ejemplos de otros promotores constitutivos que también pueden usarse para dirigir la expresión de un ácido nucleico AZ como se define anteriormente.

Opcionalmente, en la construcción introducida en una planta pueden usarse una o más secuencias terminadoras. Los elementos reguladores adicionales pueden incluir potenciadores transcripcionales así como traduccionales. Los expertos en la técnica serán conscientes de que pueden ser adecuadas secuencias terminadoras y potenciadoras. También puede añadirse una secuencia intrónica en la región no traducida (UTR) 5' o en la secuencia codificante para aumentar la cantidad del mensaje maduro que se acumula en el citosol como se describe en la sección de definiciones. Otras secuencias de control (además de las secuencias promotoras, potenciadoras, intrónicas, regiones UTR 3' y/o UTR 5') pueden ser elementos estabilizadores de proteína y/o ARN. Un experto en la materia conocería dichas secuencias o podría obtenerlas fácilmente.

Las construcciones genéticas, como se describe en el presente documento, pueden incluir adicionalmente un origen de secuencia de replicación que es necesario para la conservación y/o replicación en un tipo de célula específico.

Un ejemplo es cuando en una célula bacteriana se requiere conservar una construcción genética como un elemento genético episomal (por ejemplo, una molécula de plásmido o de cósmido). Como orígenes de replicación preferidos se incluyen, pero sin limitación, f1-ori y colE1.

Para la detección de la transferencia satisfactoria de las secuencias de ácidos nucleicos, como se usa en los procedimientos como se describe en el presente documento y/o para la selección de plantas transgénicas que comprenden estos ácidos nucleicos, es ventajoso usar genes marcadores (o genes indicadores). Por lo tanto, la construcción genética puede comprender opcionalmente un gen marcador de selección. Los marcadores de selección se describen con más detalle en la sección de "definiciones" del presente documento. Los genes marcadores pueden retirarse o escindirse de la célula transgénica cuando ya no se necesiten. En la técnica se conocen técnicas para retirar marcadores, técnicas útiles como las descritas anteriormente en la sección de definiciones.

La presente memoria descriptiva también describe plantas, partes de planta o células de planta que pueden obtenerse mediante los procedimientos descritos en el presente documento. Por lo tanto, la presente memoria descriptiva describe plantas que pueden obtenerse mediante el procedimiento como se describe en el presente documento, cuyas plantas tienen en su interior un ácido nucleico AZ o una variante del mismo introducido, como se ha definido anteriormente.

10

15

20

25

35

40

La memoria descriptiva también describe un procedimiento para la producción de plantas transgénicas que tienen rendimiento aumentado, que comprende la introducción y expresión en una planta de un ácido nucleico AZ o una variante del mismo, como se ha definido anteriormente.

Las plantas huésped para los ácidos nucleicos o para el vector utilizado en el procedimiento como se describe en el presente documento, el casete de expresión o construcción o vector son, en principio, ventajosamente todas las plantas, que son capaces de sintetizar los polipéptidos utilizados en el procedimiento como se describe en el presente documento.

Más específicamente, la presente memoria descriptiva describe un procedimiento para la producción de plantas transgénicas que tienen rendimiento aumentado, cuyo procedimiento comprende:

- (i) introducir y expresar en una planta o en una célula de planta un ácido nucleico AZ o una variante del mismo; y
- (ii) cultivar la célula de planta en condiciones que promuevan el crecimiento y desarrollo de la planta.

El ácido nucleico puede introducirse directamente en una célula de planta o en la propia planta (incluyendo la introducción en un tejido, órgano o en cualquier otra parte de una planta). De acuerdo con una característica de la presente memoria descriptiva, el ácido nucleico se introduce en una planta por transformación. Los términos "introducción" o "transformación" se describen con más detalle en la sección definiciones.

Generalmente después de la transformación, las células o grupos de células de planta se seleccionan para detectar la presencia de uno o más marcadores que están codificados por genes que pueden expresarse en plantas cotransferidos con el gen de interés, después de lo cual el material transformado se regenera en una planta completa.

Como se ha mencionado, también puede utilizarse Agrobacteria transformada con un vector de expresión como se describe en el presente documento, de una manera de por sí conocida, para la transformación de plantas tales como plantas utilizadas como un modelo, como *Arabidopsis*, o plantas de cultivo, tales como cereales, maíz, avena, centeno, cebada, trigo, soja, arroz, algodón, remolacha azucarera, canola, girasol, lino, cáñamo, patata, tabaco, tomate, zanahoria, pimientos dulce, colza, tapioca, yuca, arruruz, tagetes, alfalfa, lechuga y las diversas especies de árboles, nueces y vid, en particular plantas de cultivo que contienen aceite, tales como soja, cacahuete, ricino, girasol, maíz, algodón, lino, colza, coco, palma de aceite, cártamo (*Carthamus tinctorius*) o grano de cacao, por ejemplo introduciendo hojas laceradas o segmentos foliares en una solución agrobacteriana y posteriormente cultivándolos en medios adecuados.

Las células de planta modificadas genéticamente pueden regenerarse mediante cualquiera de los procedimientos que son familiares para el experto en la técnica. Procedimientos adecuados pueden encontrarse en las publicaciones anteriormente mencionadas de S.D. Kung y R. Wu, Potrykus o Höfgen y Willmitzer.

Generalmente, después de la transformación, las células o los grupos de células de planta se seleccionan para detectar la presencia de uno o más marcadores que están codificados por genes que pueden expresarse en plantas co-transfectados con el gen de interés, después de lo cual el material transformado se regenera en una planta completa. Para seleccionar plantas transformadas, el material de planta obtenido en la transformación, como norma, se somete a condiciones selectivas de tal manera que las plantas transformadas pueden diferenciarse de las plantas no transformadas. Por ejemplo, las semillas obtenidas de la manera descrita anteriormente pueden plantarse y, después de un periodo de crecimiento inicial, someterse a una selección adecuada por pulverización. Una posibilidad adicional consiste en cultivar las semillas, si fuera apropiado, después de esterilización, en placas de agar usando un agente de selección adecuado de tal manera que solamente las semillas transformadas puedan desarrollarse en plantas. Como alternativa, las plantas transformadas se exploran para determinar la presencia de un marcador de selección tal como el descrito anteriormente.

Después de la transferencia y regeneración de ADN, las plantas supuestamente transformadas pueden evaluarse utilizando, por ejemplo, análisis de Southern, para determinar la presencia del gen de interés, número de copias y/u organización genómica. Como alternativa o adicionalmente, los niveles de expresión del ADN recién introducido

ES 2 451 669 T3

pueden supervisarse usando análisis de Northern y/o Western, ambas técnicas bien conocidas por los expertos habituales en la materia.

Las plantas transformadas generadas pueden propagarse mediante diversos medios, tales como mediante técnicas clásicas de propagación clonal o de reproducción. Por ejemplo, una primera generación (o T1) de planta transformada puede reproducirse asexualmente y puede seleccionarse una segunda generación homocigota (o T2) y después las plantas T2 pueden propagarse adicionalmente a través de técnicas de reproducción clásicas.

5

10

15

20

30

35

40

45

50

55

Los organismos transformados generados pueden adoptar diversas formas. Por ejemplo, pueden ser quimeras de células transformadas y de células no transformadas; transformantes clonales (por ejemplo, todas las células transformadas que contengan el casete de expresión); injertos de tejidos transformados y no transformados (por ejemplo, en plantas, una planta madre transformada injertada a un vástago no transformado).

La presente memoria descriptiva se describe para cualquier célula de planta o planta producida mediante cualquiera de los procedimientos descritos en el presente documento, y todas las partes de plantas y propágulos de las mismas. La presente memoria descriptiva se describe adicionalmente para incluir la progenie de una célula, tejido u órgano primario transformado o transfectado o la planta completa que se ha producido mediante cualquiera de los procedimientos anteriormente mencionados, siendo el único requisito que la progenie presente las mismas características genotípicas y/o fenotípicas que las producidas por el precursor en los procedimientos descritos en el presente documento. Se describen células huésped que contienen un ácido nucleico AZ aislado o variante del mismo. Las células huésped preferidas son células de plantas. También se describen partes cosechables de una planta, tales como, pero sin limitación, semillas, hojas, frutos, flores, tallos, raíces, rizomas, tubérculos y bulbos. Adicionalmente se describen productos directamente derivados de una parte cosechable de dicha planta, tales como gránulos deshidratados o polvos, aceite, grasa y ácidos grasos, almidón o proteínas.

La presente memoria descriptiva describe el uso de ácidos nucleicos AZ o variantes de los mismos y el uso de polipéptidos AZ u homólogos de los mismos.

Un uso de este tipo se refiere a mejorar las características de cultivo de las plantas en particular la mejora del rendimiento, especialmente el rendimiento de semillas. El aumento de rendimiento de semillas comprende preferentemente el aumento del peso de mil granos.

Los ácidos nucleicos que codifican polipéptidos AZ como se define en el presente documento pueden encontrar uso en programas de reproducción en los que se identifica un marcador de ADN que puede estar unido genéticamente a un gen AZ. Los ácidos nucleicos/genes pueden usarse para definir un marcador molecular. Este marcador de ADN o de proteína puede después usarse en programas de reproducción para seleccionar plantas con mayor rendimiento.

Las variantes alélicas de un ácido nucleico/gen de AZ como se define en el presente documento también pueden encontrar uso en programas de reproducción asistida mediante marcador. Dichos programas de reproducción a veces requieren la introducción de variación alélica por tratamiento mutagénico de las plantas, usando, por ejemplo, mutagénesis con EMS; como alternativa, el programa puede comenzar con una colección de variantes alélicas de origen denominado "natural" producida involuntariamente. Después, la identificación de variantes alélicas se realiza, por ejemplo, por PCR. A esto le sigue una etapa de selección de variantes alélicas superiores de la secuencia en cuestión y que dará un rendimiento aumentado. La selección se realiza típicamente supervisando el rendimiento del crecimiento de las plantas que contienen diferentes variantes alélicas de la secuencia en cuestión, por ejemplo, diferentes variantes alélicas de uno cualquiera de los ácidos nucleicos indicados en la Tabla A del Ejemplo 1. El rendimiento del crecimiento puede supervisarse en un invernadero o en el campo. Etapas opcionales adicionales incluyen cruzamiento de plantas, en el que se identifica la variante alélica superior, con otra planta. Esto podría usarse, por ejemplo, para realizar una combinación de características fenotípicas interesantes.

Un ácido nucleico AZ como se define en el presente documento también puede usarse como una sonda para mapear, genética y físicamente, genes que forman parte de, y como marcadores para rasgos ligados a estos genes. Dicha información puede ser útil en reproducción de plantas para desarrollar líneas con fenotipos deseados. Dicho uso de ácidos nucleicos AZ o variantes de los mismos requiere solo una secuencia de ácido nucleico de al menos 15 nucleótidos de longitud. Los ácidos nucleicos AZ o variantes de los mismos pueden usarse como marcadores de polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción (PLFR). Con los ácidos nucleicos AZ pueden explorarse transferencias de Southern (Sambrook J, Fritsch EF y Maniatis T (1989) Molecular Cloning, A Laboratory Manual) de ADN genómico de planta digerido por enzimas de restricción. Los patrones de banda resultantes pueden después someterse a análisis genético usando programas informáticos tales como MapMaker (Lander y col. (1987) Genomics 1: 174-181) para construir un mapa genético. Además, los ácidos nucleicos pueden usarse para explorar transferencias de Southern que contienen ADN genómicos tratados con endonucleasas de restricción de un conjunto de individuos que representan a los padres y a la progenie de un cruce genético definido. La segregación de polimorfismos de ADN se observa y se usa para calcular la posición del ácido nucleico AZ en el mapa genético previamente obtenido usando esta población (Botstein y col. (1980) Am. J. Hum. Genet. 32: 314-331).

La producción y la utilización de sondas derivadas de genes de plantas para su uso en mapeo genético se describe en Bernatzky y Tanksley (1986) Plant Mol. Biol. Reporter 4: 37-41. Numerosas publicaciones describen el mapeo

genético de clones de ADNc específicos utilizando la metodología indicada anteriormente o variaciones de la misma. Por ejemplo, para el mapeo pueden utilizarse poblaciones de intercruzamiento F2, poblaciones de retrocruzamiento, poblaciones apareadas al azar, líneas isogénicas cercanas y otros grupos de individuos. Dichas metodologías son bien conocidas por los expertos en la técnica.

Las sondas de ácido nucleico también pueden usarse para mapeo físico (es decir, colocación de secuencias en mapas físicos; véase Hoheisel y col. En: Non-mammalian Genomic Analysis: A Practical Guide, Academic press 1996, págs. 319-346, y referencias citadas en su interior).

De acuerdo con la memoria descriptiva pueden utilizarse sondas de ácidos nucleicos en mapeo directo de hibridación *in situ* con fluorescencia (HISF) (Trask (1991) Trends Genet. 7: 149-154). Aunque los procedimientos actuales de mapeo HISF favorecen el uso de clones grandes (de varias kb a varios cientos de kb; véase Laan y col. (1995) Genome Res. 5:13-20), mejoras en sensibilidad pueden permitir la realización de mapeo HISF usando sondas más cortas.

Usando los ácidos nucleicos pueden realizarse diversos procedimientos basados en amplificación de ácidos nucleicos para el mapeo genético y físico. Como ejemplos se incluyen amplificación específica de alelo (Kazazian (1989) J. Lab. Clin. Med 11: 95-96), polimorfismo de fragmentos amplificados por PCR (CAPS; Sheffield y col. (1993) Genomics 16: 325-332), ligamiento específico de alelo (Landegren y col. (1988) Science 241: 1077-1080), reacciones de extensión de nucleótidos (Sokolov (1990) Nucleic Acid Res. 18: 3671), Mapeo Híbrido por Radiación (Walter y col. (1997) Nat. Genet. 7: 22-28) y Mapeo Happy (Dear y Cook (1989) Nucleic Acid Res. 17: 6795-6807). Para estos procedimientos, se utiliza la secuencia de un ácido nucleico para diseñar y producir pares de cebadores para su uso en la reacción de amplificación o en reacciones de extensión con cebador. El diseño de dichos cebadores es bien conocido por los expertos en la técnica. En los procedimientos que emplean mapeo genético basado en PCR, puede ser necesario identificar diferencias de secuencias de ADN entre los padres del cruce del mapeo en la región correspondiente a la secuencia de ácido nucleico instantánea. Sin embargo, generalmente esto no es necesario para procedimientos de mapeo.

Los procedimientos de acuerdo con la presente memoria descriptiva dan como resultado plantas que tienen rendimiento aumentado, como se ha descrito anteriormente en el presente documento. Estas características de cultivo ventajosas también pueden combinarse con otros rasgos económicamente ventajosos, tales como rasgos que potencian adicionalmente el rendimiento, tolerancia a diversos estreses, rasgos que modifican diversas características arquitectónicas y/o características bioquímicas y/o fisiológicas.

30 <u>Descripción de las figuras</u>

10

15

20

35

40

45

50

La presente invención se describirá ahora con referencia a las siguientes figuras en las que:

La Figura 1 muestra un ejemplo de la estructura del dominio de un polipéptido AZ. La proteína codificada por la SEC ID N° : 2 comprende dos repeticiones de anquirina (en negrita, subrayadas) y dos dominios C3H1 (en cursiva, subrayados).

La Figura 2 muestra las secuencias consenso de dedo de Cinc de C3H1 (C3H1) y Anquirina (ANQ) de acuerdo con la base datos SMART, los símbolos de los diversos grupos de aminoácidos se indican en la leyenda.

La Figura 3 representa una matriz de identidad/similitud de secuencia preparada por MATGAT (BLOSUM62, penalización por apertura de hueco 11, penalización por extensión de hueco 1). Por encima de la diagonal, en negrita, se muestran las identidades de secuencia, por debajo de la diagonal se muestran las similitudes de secuencia para: A) secuencias de proteína de longitud completa, B) secuencias de proteína parcial que comprenden el supuesto dominio de dedo de Cinc que está más en el extremo C.

La Figura 4 muestra el vector binario p056, para la expresión en *Oryza sativa* de una secuencia codificante AZ de *Arabidopsis thaliana* bajo el control de un promotor WSI18 (referencia interna PRO0151).

Ejemplos

La presente invención se describirá ahora con referencia a los siguientes ejemplos.

Manipulación de ADN: a menos que se indique otra cosa, se realizaron técnicas de ADN recombinante de acuerdo con los protocolos convencionales descritos en (Sambrook (2001) Molecular Cloning: a laboratory manual, 3ª edición Cold Spring Harbor Laboratory Press, CSH, Nueva York) o en los Volúmenes 1 y 2 de Ausubel y col. (1994), Current Protocols in Molecular Biology, Current Protocols. Materiales y procedimientos convencionales de trabajos moleculares en plantas se describen en Plant Molecular Biology Labfax (1993) por R.D.D. Croy, publicado por BIOS Scientific Publications Ltd (RU) y Blackwell Scientific Publications (RU).

Ejemplo 1: Identificación de secuencias relacionadas con la secuencia de ácidos nucleicos usado en los procedimientos descritos en el presente documento

5

10

15

20

Las secuencias (ADNc de longitud completa, EST o genómicas) relacionadas con la secuencia de ácidos nucleicos utilizadas en los procedimientos como se describe en el presente documento se identificaron entre las conservadas en la base de datos de Nucleótidos Entrez en el National Center for Biotechnology Information (NCBI) utilizando las herramientas de búsqueda de secuencia de bases de datos, tal como la Herramienta de Alineamiento Local Básica (BLAST) (Altschul y col. (1990) J. Mol. Biol. 215:403-410; y Altschul y col. (1997) Nucleic Acids Res. 25: 3389-3402). El programa se utiliza para encontrar regiones de similitud local entre las secuencias comparando las secuencias de ácidos nucleicos o polipéptidos con las bases de datos de secuencia y calculando el significado estadístico de los emparejamientos. Por ejemplo, el polipéptido codificado por el ácido nucleico como se define en el presente documento se utilizó para el algoritmo TBLASTN, con configuraciones predeterminadas y el filtro para ignorar las secuencias de baja complejidad desencadenadas. El resultado de los análisis se observó por comparación en forma de pares, y se clasificó de acuerdo con la clasificación de probabilidad (valor E), en el que la clasificación refleja la probabilidad de que se produzca un alineamiento particular por casualidad (cuanto menor sea el valor E, más significativo el acierto). Además de valores E, también se clasificaron comparaciones por porcentaje de entidad. Porcentaje de identidad se refiere al número de nucleótidos (o aminoácidos) idénticos entre las dos secuencias de ácidos nucleicos (o polipéptido) comparadas sobre una longitud particular. En algunos casos, los parámetros predeterminados pueden ajustarse para modificar la exigencia de la búsqueda. Por ejemplo, el valor E puede aumentarse para mostrar menos emparejamientos exigentes. De esta manera, pueden identificarse emparejamientos cortos casi exactos.

La Tabla A proporciona una lista de secuencias de ácidos nucleicos relacionadas con la secuencia de ácidos nucleicos utilizada en los procedimientos como se describe en el presente documento.

Tabla A: Ejemplos de polipéptidos AZ:

Fuente de planta	Ácido nucleico SEC ID Nº:	Proteína SEC ID Nº: Proteína
Arabidopsis thaliana	1	2
Eucalyptus grandis	10	11
Oryza sativa	12	13
Medicago truncatula	14	15
Oryza sativa	16	17
Arabidopsis thaliana	18	9
Oryza sativa	20	21
Arabidopsis thaliana	22	23
Arabidopsis thaliana	24	25
Eucalyptus grandis	26	27
Eucalyptus grandis	28	29
Glycine max	30	31
Eucalyptus grandis	32	33
Arabidopsis thaliana	34	35
Oryza sativa	36	37
Hordeum_vulgare	38	39
Pinus radiata	40	41
Pinus radiata	42	43
Glycine max		44
Glycine max		45

(continuación)

Fuente de planta	Ácido nucleico SEC ID Nº:	Proteína SEC ID Nº: Proteína
Glycine max		46
Arabidopsis thaliana		47
Arabidopsis thaliana		48
Arabidopsis thaliana		49
Arabidopsis thaliana		50
Arabidopsis thaliana		51
Arabidopsis thaliana		52
Arabidopsis thaliana	53	

En algunos casos, las secuencias relacionadas se han ensamblado provisionalmente y descrito públicamente por instituciones de investigación, tal como el Instituto para la Investigación Genómica (TIGR). La base de datos de Ortólogos de Gen Eucariota (EGO) puede utilizarse para identificar dichas secuencias relacionadas, mediante búsqueda de palabra clave o utilizando el algoritmo BLAST con la secuencia de ácidos nucleicos o polipéptidos de interés.

Ejemplo 2: Clonación de genes AZ

5

10

15

20

25

30

35

40

El gen que codifica *AZ* de *Arabidopsis* (CDS3104) se amplificó por PCR usando como molde una biblioteca de ADNc de plántulas de *Arabidopsis thaliana* (Invitrogen, Paisley, RU). Después de transcripción inversa de ARN extraído de las plántulas, los ADNc se clonaron en pCMV Sport 6.0. El tamaño medio del inserto del banco fue de 1,5 kb, y el número original de clones fue de 1,59x10⁷ ufc. El título original se determinó que era de 9,6x10⁵ ufc/ml, después de una primera amplificación de 6x10¹¹ ufc/ml. Después de la extracción del plásmido, se utilizaron 200 ng de molde en una mezcla PCR de 50 μl. Se utilizaron los cebadores ceb06717 (sitio AttB1, directo, en cursiva, codón de inicio en negrita: 5'-ggggacaagtttgtacaaaaaagcaggcttaaacaatgtgctgtggatcagacc-3') (SEC ID Nº: 7) y ceb06718 (sitio AttB2, inverso, complementario, en cursiva: 5'-185 ggggaccactttgtacaagaaagctgggtggttaggtctctcaattctgc-3') (SEC ID Nº: 8), que incluían los sitios AttB para la recombinación Gateway, para la amplificación por PCR. La PCR se realizó usando Taq ADN polimerasa Hifi en condiciones convencionales. Se amplificó un fragmento de PCR del tamaño esperado y se purificó también utilizando procedimientos convencionales. Después, se realizó la primera etapa del procedimiento Gateway, la reacción BP, durante la cual el fragmento de PCR se combina *in vivo* con el plásmido pDONR201 para producir, de acuerdo con la terminología Gateway, un "clon de entrada", p07. El plásmido pDONR201 se adquirió en Invitrogen, como parte de la tecnología Gateway.

Ejemplo 3: Construcción de vectores

El clon de entrada p07 se usó posteriormente en una reacción LR con p02417, un vector destinatario utilizado para transformación de plantas (*Oryza sativa*). Este vector contiene, como elementos funcionales dentro de los límites de ADN-T: un marcador de selección de plantas; un casete de expresión marcador detectable; y un casete Gateway diseñado para recombinación LR *in vivo* con la secuencia de interés ya clonada en el clon de entrada. Un promotor WSI18 de arroz (SEC ID Nº: 9) para expresión específica de semilla (PRO0151) se localizaba cadena arriba de este casete Gateway (p056, Figura 4).

Se han descrito muchos sistemas vectoriales binarios diferentes (y súper binarios) para la transformación de plantas (por ejemplo, An, G. en Agrobacterium Protocols. Methods in Molecular Biology vol 44, págs. 47-62, Gartland KMA y MR Davey eds. Humana Press, Totowa, New Jersey). Muchos se basan en el vector pBIN19 descrito por Bevan (Nucleic Acid Research. 1984. 12: 8711-8721) que incluye un casete de expresión de genes de plantas flanqueado por las secuencias límite izquierda y derecha del plásmido Ti de *Agrobacterium tumefaciens*. Un casete de expresión de genes de plantas consiste en al menos dos genes – un gen marcador de selección y un promotor de planta que regula la transcripción del ADNc o ADN genómico del gen atributo. Pueden utilizarse diversos genes marcadores de selección incluyendo el gen de *Arabidopsis* que codifica una enzima ácido acetohidroxisintasa (AHAS) (Patentes de Estados Unidos 57673666 y 6225105). De manera similar, pueden utilizarse varios promotores para regular el gen atributo para proporcionar regulación constitutiva, evolutiva, tisular o ambiental de la transcripción génica.

Después de la etapa de recombinación LR, el vector de expresión resultante, p056 (Figura 4) se transformó en la cepa de *Agrobacterium* LBA4044 usando protocolos de choque térmico o electroporación. Las colonias transformadas se cultivaron en medio YEP y se seleccionaron mediante antibióticos respectivos durante dos días a 28 °C. Estos cultivos de *Agrobacterium* se utilizaron para la transformación de plantas.

Pueden usarse otras cepas de *Agrobacterium tumefaciens* para la transformación de plantas y son bien conocidas en la técnica. Son ejemplos de dichas cepas C58C1 o EHA105.

Ejemplo 4. Transformación de plantas

Transformación de arroz

5 El *Agrobacterium* que contenía el vector de expresión se usó para transformar plantas de *Oryza sativa*. Semillas secas maduras de la variedad de cultivo japonesa de arroz Nipponbare se descascarillaron. La esterilización se realizó incubando durante un minuto en etanol al 70 %, seguido de 30 minutos en HgCl₂ al 0,2 %, seguido de un lavado de 6 veces durante 15 minutos con agua destilada estéril. Las semillas estériles germinaron después en un medio que contenía 2,4-D (medio de inducción de callo). Después de la incubación en la oscuridad durante cuatro semanas, los callos embriogénicos derivados de escutelo se cortaron y se propagaron en el mismo medio. Después de dos semanas, los callos se multiplicaron o se propagaron mediante subcultivo en el mismo medio durante otras 2 semanas. Piezas de callos embriogénico se subcultivaron en medio reciente 3 días antes de co-cultivo (para reforzar la actividad de la división celular).

La cepa LBA4404 de *Agrobacterium* que contenía el vector de expresión se utilizó para el co-cultivo. Se inoculó *Agrobacterium* en medio AB con los antibióticos apropiados y se cultivó durante 3 días a 28 °C. Después las bacterias se recogieron y se suspendieron en medio de co-cultivo líquido a una densidad (DO600) de aproximadamente 1. Después, la suspensión se transfirió a una placa de Petri y los callos se sumergieron en la suspensión durante 15 minutos. Después los tejidos de callo se secaron por transferencia a un papel de filtro y se transfirieron a medio co-cultivo solidificado y se incubaron durante 3 días en la oscuridad a 25 °C. Los callos co-cultivados crecieron sobre un medio que contenía 2,4-D durante 4 semanas en la oscuridad a 28 °C en presencia de un agente de selección. Durante este periodo, rápidamente se desarrollaron islas de callos resistentes a crecimiento. Después de la transferencia de este material a un medio de regeneración e incubación a la luz, el potencial embriogénico se liberó y se desarrollaron brotes las siguientes cuatro a cinco semanas. Los brotes se extirparon de los callos y se incubaron durante 2 a 3 semanas en un medio que contenía auxina desde el cual se transfirieron al suelo. Los brotes endurecidos se cultivaron a alta humedad y días cortos en un invernadero.

Se generaron aproximadamente 35 transformantes de arroz T0 independientes para una construcción. Los transformantes primarios se transfirieron desde una cámara de cultivo tisular a un invernadero. Después de un análisis PCR cuantitativo para verificar el número de copias del inserto de ADN-T, solo una única copia de plantas transgénicas que presentaban tolerancia al agente de selección se mantuvieron para cosecha de la semilla T1. Después las semillas se cosecharon de tres a cinco meses después del trasplante. El procedimiento produjo transformantes de sitio único a una tasa de alrededor de 50 % (Aldemita y Hodges 1996, Chan y col. 1993, Hiei y col. 1994).

Transformación de maíz

30

35

40

45

La transformación de maíz (*Zea mays*) se realizó con una modificación del procedimiento descrito por Ishida y col. (1996) Nature Biotech 14(6): 745-50. La transformación es dependiente del genotipo en maíz y solo son genotipos específicos susceptibles a transformación y regeneración. Como progenitores, la línea endogámica A188 (Universidad de Minnesota) o híbridos con A188, son buenas fuentes de material donante para la transformación, pero también pueden usarse otros genotipos satisfactoriamente. Se cosecharon espigas de plantas de maíz aproximadamente 11 días después de la polinización (DDP) cuando la longitud del embrión inmaduro era de aproximadamente 1 a 1,2 mm. Los embriones inmaduros se co-cultivaron con *Agrobacterium tumefaciens* que contenía el vector de expresión y las plantas transgénicas se recuperaron a través organogénesis. Los embriones cortados se cultivaron en medio de inducción de callo y después en medio de regeneración de maíz que contenía el agente de selección (por ejemplo imidazolinona, pero pueden usarse diversos marcadores de selección). Las placas de Petri se incubaron a la luz a 25 °C durante 2-3 semanas, o hasta que se desarrollasen los brotes. Los brotes verdes se transfirieron desde cada embrión al medio de enraizamiento de maíz y se incubaron a 25 °C durante 2-3 semanas, hasta el desarrollo de las raíces. Los brotes enraizados se trasplantaron al suelo en el invernadero. Se produjeron semillas T1 de plantas que presentaban tolerancia al agente de selección y que contenían una sola copia del inserto de ADN-T.

Transformación de trigo

La transformación de trigo se realizó con el procedimiento descrito por Ishida y col. (1996) Nature Biotech 14(6): 745-50. La variedad de cultivo Bobwhite (disponible de CIMMYT, México) se utiliza normalmente para transformación. Embriones inmaduros se co-cultivaron con *Agrobacterium tumefaciens* que contenía el vector de expresión y las plantas transgénicas se recuperaron a través de organogénesis. Después de la incubación con Agrobacterium, los embriones se cultivaron *in vitro* en medio de inducción de callo, después el medio de regeneración que contenía el agente de selección (por ejemplo imidazolinona, aunque pueden utilizarse diversos marcadores de selección). Las placas de Petri se incubaron a la luz a 25 °C durante 2-3 semanas o hasta que se desarrollasen los brotes. Los brotes verdes se transfirieron desde cada embrión al medio de enraizamiento y se incubaron a 25 °C durante 2-3 semanas, hasta el desarrollo de las raíces. Los brotes enraizados se trasplantaron al

suelo en el invernadero. Se produjeron semillas T1 de las plantas que presentaban tolerancia al agente de selección y que contenían una sola copia del inserto de ADN-T.

Transformación de soja

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

La transformación de soja se realizó de acuerdo con una modificación del procedimiento descrito en el Texas A&M patente de Estados Unidos 5.164.310. Diversas variedades comerciales de soja se encuentran son susceptibles a transformación mediante este procedimiento. La variedad de cultivo Jack (disponible de la fundación Illinois Seed) se utiliza normalmente para transformación. Semillas de soja se esterilizaron para siembra *in vitro*. El hipocotiledóneo, el radículo y un cotiledón se extirparon de plántulas jóvenes de siete días de vida. El epicótilo y el cotiledón restante se cultivaron adicionalmente para desarrollar nodos axilares. Estos nodos axilares se extirparon y se incubaron con *Agrobacterium tumefaciens* que contenía el vector de expresión. Después de tratamiento de co-cultivo, los explantes se lavaron y se transfirieron al medio de selección. Los brotes regenerados se extirparon y se colocaron en un medio de elongación de brote. Los brotes no mayores de 1 cm se colocaron se colocaron en medio de enraizamiento hasta que se desarrollaron raíces. Los brotes enraizados se trasplantaron al suelo en el invernadero. Se produjeron semillas T1 de plantas que presentaban tolerancia al agente de selección y que contenían una sola copia del inserto de ADN-T.

Transformación colza/canola

Peciolos cotiledonarios e hipocotiledóneos de plántulas jóvenes de 5-6 días de vida se utilizaron como explantes para el cultivo tisular y transformaron de acuerdo con Babic y col. (1998, Plant Cell Rep 17: 183-188). La variedad de cultivo comercial Westar (Agriculture Canada) es la variedad convencional usada para la transformación, pero también pueden usarse otras variedades. Semillas de canola se esterilizaron en la superficie para la siembra *in vitro*. Explantes de peciolos cotiledonarios con el cotiledón unido se extirparon de plántulas *in vitro* y se inocularon con *Agrobacterium* (que contenía el vector de expresión) sumergiendo el extremo cortado del explante del peciolo en la suspensión bacteriana. Después los explantes se cultivaron durante 2 días en medio MSBAP-3 que contenía BAP 3 mg/l, sacarosa al 3 %, Fitagar al 0,7 % a 23 °C, 16 h de luz. Después de dos días de co-cultivo con *Agrobacterium*, los explantes de peciolo se transfirieron a medio MSBAP-3 que contenía BAP 3 mg/l, cefotaxima, carbenicilina o timentina (300 mg/l) durante 7 días y después se cultivaron en medio MSBAP-3 con cefotaxime, carbenicilina o timentina y agente de selección hasta la regeneración del brote. Cuando los brotes tenían una longitud de 5-10 mm, se cortaron y se transfirieron al medio de elongación de brote (MSBAP-0,5 que contenía BAP 0,5 mg/l). Los brotes de aproximadamente 2 cm de longitud se transfirieron al medio de enraizamiento (MSO) para la inducción de raíces. Los brotes enraizados se trasplantaron al suelo en el invernadero. Se produjeron semillas T1 de plantas que presentaban tolerancia al agente de selección y que contenían una sola copia de inserto de ADN-T.

Transformación de alfalfa

Utilizando el procedimiento de (McKersie y col., 1999 Plant Physiol 119: 839-847) se transformó un clon de regeneración de alfalfa (Medicago sativa). La regeneración y transformación de la alfalfa es dependiente del genotipo y por lo tanto se requiere una planta regenerada. Se han descrito procedimientos para obtener plantas regeneradas. Por ejemplo, éstas pueden seleccionarse de variedades de cultivo Rangelander (Agriculture Canada) o de cualquier otra variedad comercial de alfalfa como describen Brown DCW y A Atanassov (1985. Plant Cell Tissue Organ Culture 4: 111-112). Como alternativa, la variedad RA3 (Universidad de Wisconsin) se ha seleccionado para su uso en cultivo tisular (Walker y col., 1978 Am J Bot 65: 654-659). Explantes de peciolo se co-cultivaron con un cultivo durante una noche de Agrobacterium tumefaciens C58C1 pMP90 (McKersie y col., 1999 Plant Physiol 119: 839-847) o LBA4404 que contiene el vector de expresión. Los explantes se co-cultivaron durante 3 d en la oscuridad en un medio de inducción SH que contenía Pro 288 mg/l, tioprolina 53 mg/l, K₂SO₄ 4,35 g/l y acetosiringinona 100 μm. Los explantes se lavaron en medio Murashige-Skoog de fuerza media (Murashige y Skoog, 1962) y se sembraron en placas en el mismo medio de inducción SH con acetosiringinona pero con un agente de selección adecuado y un antibiótico adecuado para inhibir el crecimiento de Agrobacterium. Después de varias semanas, los embriones somáticos se transfirieron al medio de desarrollo BOi2Y que no contenía reguladores de crecimiento, sin antibióticos, y sacarosa 50 g/l. Posteriormente, los embriones somáticos germinaron en medio Murashige-Skoog de fuerza media. Las plántulas enraizadas se trasplantaron en macetas y se cultivaron en un invernadero. Se produjeron semillas T1 las plantas que presentaban tolerancia al agente de selección y que contenían una sola copia de inserto de ADN-T.

Ejemplo 5: Configuración de evaluación de expresión de AZ en arroz bajo el control del promotor de arroz WSI18

Se generaron aproximadamente de 15 a 20 transformantes de arroz T0 independientes. Los transformantes primarios se transfirieron desde una cámara de cultivo tisular a un invernadero para siembra y cosecha de la semilla T1. Se conservaron siete acontecimientos, de los que la progenie T1 segregó 3:1 para la presencia/ausencia del transgén. Para cada uno de estos acontecimientos, aproximadamente 10 plántulas T1 que contenían el transgén (hetero- y homo-zigotos) y aproximadamente 10 plántulas T1 que carecían del transgén (nulicigotos) se seleccionaron supervisando la expresión visual del marcador. Las plantas T1 seleccionadas se transfirieron a un invernadero. Cada planta recibió una sola etiqueta de código de barras para relacionar con claridad los datos de

fenotipado con la planta correspondiente. Las plantas T1 seleccionadas se cultivaron en suelo en macetas especialmente diseñadas de un diámetro de 10 cm con fondo transparente para permitir la visualización de las raíces, con la siguiente configuración ambiental: fotoperiodo = 11,5 h, intensidad de luz diurna = 30.000 lux o más, temperatura diurna = 28 °C, temperatura nocturna = 22 °C, humedad relativa = 60-70 %. Las plantas transgénicas y los correspondientes nulicigotos se cultivaron a cada lado en posiciones aleatorias. Se tomaron medidas para que las plantas no tuviesen ningún estrés. Desde la etapa de siembra hasta la etapa de madurez las plantas pasaron varias veces a través de una cabina de formación de imágenes digital. En cada punto de tiempo se tomaron imágenes digitales (2048x1536 pixeles, 16 millones de colores) de cada planta desde al menos 6 ángulos diferentes. Una cámara digital también registró imágenes desde el fondo de la maceta durante el crecimiento de la planta.

10 Detección de seguía

15

30

35

40

45

50

55

Se cultivaron plantas de semillas T2 en suelo de maceta en condiciones normales hasta que alcanzaron la etapa de partida. Después se transfirieron a una sección "seca" donde se mantiene el riego. Sondas de humedad se insertaron en macetas seleccionadas al azar para supervisar el contenido de agua en el suelo (CAS). Cuando el CAS está por debajo de determinados umbrales, las plantas vuelven a regarse automáticamente de manera continua hasta que de nuevo se alcanza un nivel normal. Después, las plantas se vuelven a transferir a condiciones normales. El resto del cultivo (maduración de planta, cosecha de semilla) es igual para las plantas que no se cultivan en condiciones de estrés abiótico. Los parámetros de cultivo y rendimiento se registraron como se detalla para el cultivo en condiciones normales.

Detección de la eficiencia del uso de nitrógeno

Se cultivaron plantas de arroz de semillas T2 en suelo de maceta en condiciones normales excepto para la solución nutrientes. Las macetas se regaron desde el trasplante hasta la maduración con una solución de nutrientes específica que contenía un contenido de nitrógeno N reducido (N), normalmente entre 7 a 8 veces menos. El resto del cultivo (maduración de planta, cosecha de semilla) es igual para las plantas que no se cultivan bajo estrés abiótico. Los parámetros de cultivo y rendimiento se registraron como se detalla para el cultivo en condiciones normales.

El área por encima de la superficie de la planta (o biomasa foliar) se determinó contando el número total de pixeles en las imágenes digitales a partir de las partes de la planta por encima de la superficie discriminadas del fondo. Este valor se promedió para las imágenes tomadas en el mismo momento de los diferentes ángulos y se convirtió a un valor de superficie físico expresado en mm al cuadrado por calibración. Los experimentos mostraron que el área de la planta por encima de la superficie medida de esta forma se correlacionaba con la biomasa de las partes de la planta por encima de la superficie. El área por encima de la superficie es el momento en el que la planta ha alcanzado su máxima biomasa foliar. Las características radiculares tales como el área total proyectada (que puede correlacionarse con volumen radicular total), diámetro promedio y longitud de las raíces por encima de un determinado umbral de espesor (longitud de raíces gruesas, o longitud de raíces finas) se dedujo a partir de la imagen generada usando un programa informático apropiado.

Las panículas primarias maduras se cosecharon, se embolsaron, se etiquetaron con códigos de barra y después se secaron durante tres días en el horno a 37 °C. Después las panículas se trillaron y se recogieron todas las semillas. Las cáscaras llenas se separaron de las vacías usando un dispositivo de soplado con aire. Después de la separación, ambos lotes de semillas se contaron usando una contadora disponible en el comercio. Las cáscaras vacías se descartaron. Las cáscaras llenas se pesaron en una balanza analítica y el área transversal de las semillas se midió usando formación de imágenes digitales. Este procedimiento da lugar al conjunto de los siguientes parámetros relacionados con las semillas:

El número de semillas llenas se determinó contando el número de cáscaras llenas que quedó después de la etapa de separación. El rendimiento de semilla total (peso de semilla total) se midió pesando todas las cáscaras llenas cosechadas de una planta. El número total de semillas por planta se midió contando el número de cáscaras cosechadas de una planta. El índice de cosecha (IC) en la presente invención se define como la proporción entre el rendimiento de semilla total y el área por encima de la superficie (mm²), multiplicado por un factor de 10⁶. El Peso de Mil Granos (PMG) se extrapoló a partir del número de semillas llenas contadas y su peso total. El índice de carga de semilla, como se define en la presente invención, es la proporción (expresada como un %) del número de semillas llenas sobre el número total de semillas (o flósculos). Estos parámetros derivaron de una forma automática de las imágenes digitales usando un programa informático de análisis de formación de imágenes y se analizaron estadísticamente. Los parámetros de semilla individuales (incluyendo anchura, longitud, área, peso) se midieron usando un dispositivo fabricado a medida que consistía en dos componentes principales, un dispositivo de pesaje y de formación de imágenes, acoplado a un programa informático para análisis de imágenes.

Se utilizó un ANOVA (análisis de varianza) de dos factores corregido para el diseño desequilibrado como un modelo estadístico para la evaluación global de las características fenotípicas de la planta. Se realizó un ensayo F en todos los parámetros medidos de todas las plantas en todos los acontecimientos transformados con ese gen. El ensayo F se realizó para verificar un efecto del gen sobre todos acontecimientos de transformación y para verificar un efecto

global del gen, denominado también en el presente documento "efecto génico global". Si el valor del ensayo F muestra que los datos son significativos, es decir se llega a la conclusión de que es un efecto "génico", significa que no solo la presencia o la posición del gen ocasionan el efecto. El umbral de significado de un efecto génico global verdadero se establece al 5 % del nivel de probabilidad para el ensayo F.

Para verificar un efecto sobre los genes dentro de un acontecimiento, es decir, un efecto específico de línea, se realizó un ensayo T dentro de cada acontecimiento utilizando conjuntos de datos de las plantas transgénicas y de plantas nulas correspondientes. "Plantas nulas" o "segregantes nulos" o "nulicigotos" son las plantas tratadas de la misma manera que la planta transgénica, pero a partir de las cuales se ha segregado el transgén. Las plantas nulas también pueden describirse como plantas transformadas negativas homocigotas. El umbral de significado del ensayo T se establece a un nivel de probabilidad del 10 %. Los resultados de algunos acontecimientos pueden estar por encima o por debajo de este umbral. Esto se basa en la hipótesis de que un gen podría tener solo un efecto en determinadas posiciones en el genoma y de que la aparición de este efecto dependiente de posición no es atípico. Este tipo de efecto génico también se denomina en el presente documento un "efecto de línea del gen". El valor p se obtiene comparando el valor t con la distribución t o como alternativa, comparando el valor F con la distribución F. El valor p entonces proporciona la probabilidad de que la hipótesis nula (es decir, que no haya efecto del transgén) sea correcta

Los datos obtenidos para AZ en el primer experimento se confirmaron en un segundo experimento con plantas T2. Se seleccionaron cuatro líneas que tenían el patrón de expresión correcto para análisis posterior. Se exploraron lotes de semillas de las plantas positivas (tanto hetero como homocigotas) en T1, verificando la expresión de marcadores. Para cada acontecimiento seleccionado, los lotes de semillas heterocigotas se conservaron después para evaluación T2. Dentro de cada lote de semillas se cultivó el mismo número de plantas positivas y negativas en el invernadero para la evaluación.

Se evaluó un número total de 120 plantas AZ transformadas en la generación T2, es decir 30 plantas por acontecimiento de las cuales 15 fueron positivas del transgén y 15 negativas.

Dado que se habían realizado dos experimentos con acontecimientos solapantes, se realizó un análisis combinado. Esto es útil para verificar la coherencia de los efectos sobre los dos experimentos, y si fuera éste el caso, acumular pruebas de ambos experimentos para aumentar la confianza en la conclusión. El procedimiento utilizado fue una estrategia de modelo mixta que considera la estructura multinivel de los datos (es decir, experimento – acontecimiento – segregantes). Los valores P se obtuvieron comparando el ensayo de relación de probabilidad con distribuciones de chi cuadrado.

Ejemplo 6: Evaluación de transformantes AZ: medición de parámetros relacionados con el rendimiento

Después del análisis de las semillas, como se ha descrito anteriormente, los autores de la invención descubrieron que las plantas transformadas con la construcción génica AZ tenían una mayor rendimiento de semillas, expresada como peso de mil granos, en comparación con plantas que carecían del transgén AZ. Además, se observó vigor de emergencia aumentado e índice de verdor aumentado en plantas que llevaban el transgén en comparación con las plantas de control.

En una de las construcciones, en la generación T1 aumentó el peso de mil granos 2,7 %. Estos resultados positivos se obtuvieron de nuevo en la generación T2 (aumento del 2,1 %). Los datos T2 volvieron a evaluarse en un análisis combinado con los resultados de la generación T1, y los valores de p obtenidos mostraron que los efectos observados eran muy significativos.

LISTADO DE SECUENCIAS

<213> Arabidopsis thaliana

20

35

40

45	<110> CropDesign N.V.									
	<120> Plantas que tienen rendimiento aumentado y procedimiento para producirlas									
	<130> PF58401-prio									
50	<160> 347									
	<170> PatentIn versión 3.3									
55	<210> 1 <211> 2151 <212> ADN									

<400> 1

```
atgtgctgtg gatcagaccg attaaaccag atcgtgtcat caagatcttc gttgccaatt
                                                                       60
                                                                      120
tetttegagg aagataacaa tettgttace aacacagaca tgaatcaett aacagtegaa
                                                                      180
acagaggata cgtttgcgag cttgcttgag cttgcagcta acaacgatgt tgaaggtgta
aggetateta tegagagaga ecettettgt gtagacgaag etggtetetg gtaeggtegt
                                                                      240
caaaaaggtt ctaaagctat ggtcaacgat tacaggactc cgttgatggt tgctgctact
                                                                      300
tacggaagca ttgatgtgat caagcttatt gtttctttga ctgatgctga cgtgaaccgt
                                                                      360
gcttgcggga atgatcagac cactgcgtta cactgcgctg cttctggagg agctgtgaat
                                                                      420
                                                                      480
gctatccaag ttgttaagct gcttcttgca gctggagctg atttgaatct gttggatgct
                                                                      540
gaaggtcaac gagctggtga tgttattgtt gttcctccta agcttgaagg cgtgaagctg
atgcttcagg agcttctttc tgctgatgga tcatctactg cggagcggaa tctacgggtt
                                                                      600
gtgacaaatg ttccgaatag aagctcatct ccgtgtcatt ctcctactgg agagaatggt
                                                                      660
ggatcagggt ctggttcacc gctcggctct ccttttaagc tgaaatctac tgaattcaag
                                                                      720
aaagagtato oggttgatoo gtotttgooa gatatoaaga acagtatota ogogactgat
                                                                      780
gagtttagaa tgtattcctt caaggtccgg ccttgctctc gtgcttattc acatgattgg
                                                                      840
                                                                      900
actgagtgtc cttttgttca cccgggtgaa aacgcgagga ggagagaccc gaggaagttc
cattacagct gcgttccttg cccggatttt aggaaaggag cttgtaggag aggagatatg
                                                                      960
tgtgagtatg cgcacggtgt gtttgaatgc tggcttcatc cggctcagta caggacccgt
                                                                     1020
ctttgcaaag atggaacagg ctgtgctcgg cgggtttgtt tctttgcgca tacacccgag
                                                                     1080
gagettegae etttgtaege ateaactggt teageggtte ettegeetag ategaatget
                                                                     1140
gattatgcag ctgctttgag tctccttcct ggttctccat caggagtctc tgtcatgtcc
                                                                     1200
ccgctttccc catcagcagc ggggaacgga atgtctcatt cgaatatggc ttggccacaa
                                                                     1260
ccaaatgtcc ctgcgttgca cttaccagga agcaatctac agtcaagcag gctaaggtct
                                                                     1320
tototoaatg caagggatat cocgacggat gagttcaata tgttagegga ttacgageag
                                                                     1380
cagcaactcc tcaacgagta ttccaatgct ctgagccgtt ctggtcggat gaaatcaatg
                                                                     1440
cotcottoga atottgaaga tottttotoa goagaaggot ottoatotoo coggttoact
                                                                     1500
gattccgctt tagcttccgc ggtgttctcg cctacacaca agtcagctgt cttcaaccag
                                                                     1560
ttccaacaac agcaacagca gcagcagagc atgttgtctc caatcaacac aagcttttct
                                                                     1620
tcaccaaaga gcgttgacca ctcattgttt tcaggtggag gaagaatgtc tcctcggaat
                                                                     1680
gttgttgaac caatatcacc catgagtgct cgggtttcca tgttggctca gtgcgtgaag
                                                                     1740
caacaacaac agcaacagca gcagcagcag cagcaacatc agttccgtag ccttagctcc
                                                                     1800
agagagetea gaacaaacte tageecaate gttggtteae eggtaaacaa caacacatgg
                                                                     1860
tcatcaaaat ggggatcttc aaatggtcaa ccggattggg gaatgagctc agaagcactt
                                                                     1920
ggtaagttga gatcttcgtc atcgtttgat ggtgatgagc ctgatgtgtc atgggtccag
                                                                     1980
tcactggtga aggagactcc agcagaagcc aaaqagaaag cagcaacatc ttcctcaggg
                                                                     2040
qaacacqtqa tgaaqcagcc aaatccqqtt qaaccqqtaa tqqatcatqc tqqqctaqaa
                                                                     2100
gcttggattg agcaaatgca gctcgatcag cttgtggctc agcagaattg a
                                                                     2151
```

5 <210> 2 <211> 716 <212> PRT

<213> Arabidopsis thaliana

```
Met Cys Cys Gly Ser Asp Arg Leu Asn Gln Ile Val Ser Ser Arg Ser
Ser Leu Pro Ile Ser Phe Glu Glu Asp Asn Asn Leu Val Thr Asn Thr
                                25
Asp Met Asn His Leu Thr Val Glu Thr Glu Asp Thr Phe Ala Ser Leu
                            40
Leu Glu Leu Ala Ala Asn Asn Asp Val Glu Gly Val Arg Leu Ser Ile
                        55
Glu Arg Asp Pro Ser Cys Val Asp Glu Ala Gly Leu Trp Tyr Gly Arg
                    70
                                        75
Gln Lys Gly Ser Lys Ala Met Val Asn Asp Tyr Arg Thr Pro Leu Met
                85
                                    90
Val Ala Ala Thr Tyr Gly Ser Ile Asp Val Ile Lys Leu Ile Val Ser
                                105
                                                    110
Leu Thr Asp Ala Asp Val Asn Arg Ala Cys Gly Asn Asp Gln Thr Thr
                           120
                                                125
Ala Leu His Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ala Val Asn Ala Ile Gln Val
                        135
Val Lys Leu Leu Ala Ala Gly Ala Asp Leu Asn Leu Leu Asp Ala
                                        155
Glu Gly Gln Arg Ala Gly Asp Val Ile Val Val Pro Pro Lys Leu Glu
                                    170
Gly Val Lys Leu Met Leu Gln Glu Leu Leu Ser Ala Asp Gly Ser Ser
                                185
Thr Ala Glu Arg Asn Leu Arg Val Val Thr Asn Val Pro Asn Arg Ser
                            200
Ser Ser Pro Cys His Ser Pro Thr Gly Glu Asn Gly Gly Ser Gly Ser
                        215
Gly Ser Pro Leu Gly Ser Pro Phe Lys Leu Lys Ser Thr Glu Phe Lys
                    230
                                        235
Lys Glu Tyr Pro Val Asp Pro Ser Leu Pro Asp Ile Lys Asn Ser Ile
                245
                                    250
Tyr Ala Thr Asp Glu Phe Arg Met Tyr Ser Phe Lys Val Arg Pro Cys
                                265
Ser Arg Ala Tyr Ser His Asp Trp Thr Glu Cys Pro Phe Val His Pro
                            280
                                                285
Gly Glu Asn Ala Arg Arg Arg Asp Pro Arg Lys Phe His Tyr Ser Cys
                        295
                                            300
Val Pro Cys Pro Asp Phe Arg Lys Gly Ala Cys Arg Arg Gly Asp Met
                    310
                                        315
Cys Glu Tyr Ala His Gly Val Phe Glu Cys Trp Leu His Pro Ala Gln
                325
                                    330
Tyr Arg Thr Arg Leu Cys Lys Asp Gly Thr Gly Cys Ala Arg Arg Val
            340
                                345
Cys Phe Phe Ala His Thr Pro Glu Glu Leu Arg Pro Leu Tyr Ala Ser
        355
                            360
                                                365
Thr Gly Ser Ala Val Pro Ser Pro Arg Ser Asn Ala Asp Tyr Ala Ala
                        375
                                            380
Ala Leu Ser Leu Leu Pro Gly Ser Pro Ser Gly Val Ser Val Met Ser
                    390
                                        395
Pro Leu Ser Pro Ser Ala Ala Gly Asn Gly Met Ser His Ser Asn Met
               405
                                    410
Ala Trp Pro Gln Pro Asn Val Pro Ala Leu His Leu Pro Gly Ser Asn
            420
                               425
Leu Gln Ser Ser Arg Leu Arg Ser Ser Leu Asn Ala Arg Asp Ile Pro
                            440
                                                445
Thr Asp Glu Phe Asn Met Leu Ala Asp Tyr Glu Gln Gln Gln Leu Leu
```

460

455

450

```
Asn Glu Tyr Ser Asn Ala Leu Ser Arg Ser Gly Arg Met Lys Ser Met
                                  470
                                                      475
             Pro Pro Ser Asn Leu Glu Asp Leu Phe Ser Ala Glu Gly Ser Ser Ser
                              485
                                                  490
             Pro Arg Phe Thr Asp Ser Ala Leu Ala Ser Ala Val Phe Ser Pro Thr
                                              505
             His Lys Ser Ala Val Phe Asn Gln Phe Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln
                                          520
             Gln Ser Met Leu Ser Pro Ile Asn Thr Ser Phe Ser Ser Pro Lys Ser
                                      535
                                                          540
             Val Asp His Ser Leu Phe Ser Gly Gly Gly Arg Met Ser Pro Arg Asn
                                  550
                                                      555
             Val Val Glu Pro Ile Ser Pro Met Ser Ala Arg Val Ser Met Leu Ala
                              565
                                                  570
             580
                                              585
             His Gln Phe Arg Ser Leu Ser Ser Arg Glu Leu Arg Thr Asn Ser Ser
                                          600
                                                              605
             Pro Ile Val Gly Ser Pro Val Asn Asn Asn Thr Trp Ser Ser Lys Trp
                                      615
                                                          620
             Gly Ser Ser Asn Gly Gln Pro Asp Trp Gly Met Ser Ser Glu Ala Leu
                                  630
                                                      635
             Gly Lys Leu Arg Ser Ser Ser Phe Asp Gly Asp Glu Pro Asp Val
                              645
                                                  650
             Ser Trp Val Gln Ser Leu Val Lys Glu Thr Pro Ala Glu Ala Lys Glu
                         660
                                              665
                                                                  670
             Lys Ala Ala Thr Ser Ser Gly Glu His Val Met Lys Gln Pro Asn
                                         680
                                                              685
             Pro Val Glu Pro Val Met Asp His Ala Gly Leu Glu Ala Trp Ile Glu
                                     695
                                                          700
             Gln Met Gln Leu Asp Gln Leu Val Ala Gln Gln Asn
                                  710
         210>3
         <211> 13
5
         <212> PRT
         <213> Secuencia artificial
         <220>
         <223> motivo 1
10
         <220>
         <221> VARIANTE
         <222> (1) .. (1)
         <223> \reemplazo= "Ala"
15
         <220>
         <221> VARIANTE
         <222> (7) .. (7)
         <223> \reemplazo= "Thr"
20
         <400>3
                    Pro Cys Ser Arg Ala Tyr Ser His Asp Trp Thr Glu Cys
                                                        10
25
         <210>4
         <211> 12
         <212> PRT
         <213> Secuencia artificial
```

```
<220>
           <223> motivo 2
           <400> 4
 5
                            His Pro Gly Glu Asn Ala Arg Arg Arg Asp Pro Arg
           <210> 5
           <211> 19
10
           <212> PRT
           <213> Secuencia artificial
           <220>
           <223> motivo 3
15
           <220>
           <221> VARIANTE
           <222> (3) .. (3)
           <223> \reemplazo= "Ile"
20
           <220>
           <221> VARIANTE
           <222> (6)..(6)
           <223> \reemplazo= "Ser"
25
           <220>
           <221> VARIANTE
           <222> (11)..(11)
           <223> \reemplazo= "Ser"
30
           <220>
           <221> VARIANTE
           <222> (14)..(14)
           <223> \reemplazo= "Lys"
35
           <400> 5
                 His Gly Val Phe Glu Cys Trp Leu His Pro Ala Gln Tyr Arg Thr Arg
                                                               10
                 Leu Cys Lys
40
           <210>6
           <211>5
           <212> PRT
           <213> Secuencia artificial
           <220>
45
           <223> motivo 4
           <400>6
                                             Cys Phe Phe Ala His
                                                                  5
50
           <210> 7
           <211> 54
           <212> ADN
55
           <213> Secuencia artificial
           <220>
           <223> cebador: prm06717
           <400> 7
60
```

```
ggggacaagt ttgtacaaaa aagcaggctt aaacaatgtg ctgtggatca gacc 54
          <210>8
          <211> 50
 5
          <212> ADN
          <213> Secuencia artificial
          <220>
          <223> cebador: prm06718
10
          ggggaccact ttgtacaaga aagctgggtg gttaggtctc tcaattctgc
                                                         50
15
          <211> 981
          <212> ADN
          <213> Oryza sativa
          <400>9
20
            aagaggcaag agcatccgta ttaaccagcc ttttgagact tgagagtgtg tgtgactcga
                                                                                        60
            tocagogtag tttcagttcg tgtgttggtg agtgattcca gccaagtttg cgatggcttc
                                                                                      120
                                                                                      180
            teageaggaa egggetaget accaegeegg egagaceaag geeegegeeg aggagaagae
            ggggcgcatg atgggcacgg cgcaggagaa ggcgcgggag gccaaggaca cggcgtccga
                                                                                      240
            cgccgcgggg cgcgcgatgg gcaggggaca cggcgccaag gaggcgacca aggagaaggc
                                                                                      300
            gtacgagacc aaggacgcga ccaaggagaa ggcgtacgag gcaaaggacg cggcctccga
                                                                                      360
            egecacegge egegecatgg acaagggeeg eggegeegeg ggegecaega gggacaagge
                                                                                      420
            gtacqatgcc aaggacaggg cggctgacac ggcgcagtcc gccgccgacc gcgcccgcga
                                                                                      480
            cggcgccggg cagaccggga gctacattgg acagaccgcc gaggccgcca agcagaaagc
                                                                                      540
                                                                                      600
            ggccggcgcc gcgcagtacg ccaaggagac cgcgatcgcc ggcaaggaca agaccggcgc
            cqtqctccaq caggcaqqqq aqcaqqtqaa qaqcqtqqcq qtqqqqqcqa aggacqcqqt
                                                                                      660
                                                                                      720
            gatgtacacg ctcgggatgt caggcgataa caagaacaac gccgctgccg gcaaggacac
                                                                                      780
            cagcacctac aagcctggaa ctgggagtga ctaccagtaa tacggtagaa gaagcatgtg
                                                                                      840
            togtotttgg cactgatgcc aaagtgtacg tgttgtatcc tottttttaa gtttcagotc
            gacttcgacg tgttcggtgt cacactttgg tttttcagtt gtgctcaact gttcatgttt
                                                                                      900
            ctggttccat ggagggccag tgtggaggtc aatgtttaag ctttcgtttt aaaatctgat
                                                                                      960
                                                                                      981
            aataaagttg gttaagacct g
          <210> 10
          <211> 3372
25
          <212> ADN
          <213> Eucalyptus grandis
```

```
qqaagacqaa gagcaacaaa ataggtotca ctccctcctc totcctctct cototctctt
                                                                      60
ctttctctct cttctgcttc taacaaagtc tcttccttga gagacagggc tgcgtcgtcg
                                                                     120
totttototo tootogotgo gagottotga gaaagttoaa ttotttttot ottgttotot
                                                                     180
                                                                     240
ctctctaccc ttctgggtac cactgtgaag ctccggtctt ttctattttt tttttttttg
ggctatctgg gtctgggcaa atccatcgcg cgctctgctc tggactgaga ggccgtcagt
                                                                     300
ggotttagat ctgcgacgcc tcttgcttgc tcagtgagct gggctagttc aaatcgacga
                                                                     360
agaaagcatg cgctagtgat tggtgtgggt aatacactgc attcgatctc tactaagtat
                                                                     420
                                                                     480
ccccaagtat actaagatcc cgttctcagc catgagtcaa ctgaccattc agactgagga
cacttttgcc agettgcttg agettgctgc taacaacgac acagaatett teggaeggtg
                                                                     540
tgtggaacgt gatcettega geatagatga aattggatat tggtatggte gecaaaaggg
                                                                     600
ttogaagoag gtggtcaata tgcaaagaac tootottatg gtggotgota catatggtag
                                                                     660
tgttgatgta atgagactca ttctttgcct atctgatgct gatgtgaatc gaacctgcag
                                                                     720
cacagacaag agcacageee tteactgtge tgeetetggt ggtgetgtga atgetgtaga
                                                                     780
                                                                     840
tgctgtgagg ctactcctgt cagctggtgc tgacccaagt ttagcagatg ctaacggtca
gcggcctgtg gatgttattg ttgttcctcc aaagctcctt tcaataaagt ttgctcttga
                                                                     900
agagetettg tegacegaag gatetgtaaa tgaacacaat etgagagtgt eegtageeac
                                                                     960
ttccaattca acctctcccc cactttcatc ttccccggat aatggttccc cagcatctgc
                                                                    1020
taattgttct tcccccaaga actcaaagtt aagtgatgcc cctgttcttt atgcatcaga
                                                                    1080
aaagaaggaa tacccggtgg atccatctct tccagatatc aagaatagca tttactcaac
                                                                    1140
agatgaattc cgaatgtatt cttttaaagt gcggccttgt tcacgagcgt actcgcatga
                                                                    1200
ttggacggag tgcccttttg ttcatccagg ggagaatgcc cgtagaaggg atccaaggaa
                                                                    1260
gttccactac agetgtgtcc ettgccetga tttccggaaq gqtqcttgta qacqtgqaga
                                                                    1320
tatgtgtgaa tatgctcatg gtgtttttga gtgctggctc catcctgctc agtatcggac
                                                                    1380
togattatgc aaggatggta caagttgtgc toggagagtg tgcttctttg cccacacgga
                                                                    1440
gcaagagetg egtecattgt aegteteeac tggttetget gtteegtete etegetegag
                                                                    1500
tacctctgga gctgctgcca tggattttgc tgcagccatg agcctcttac ctggttcccc
                                                                    1560
atcatcagta tocatcatgt cocottcacc ottcactcot cocatgtoto catotgotaa
                                                                    1620
tggtatttet cacccatetg ttgcctggcc ccagcaaaat gtaccaactt tgcatettec
                                                                    1680
cggaagcaat cttcagtcca gccgcttgag atcttctctt aatgcaagag atattcctca
                                                                    1740
ggaggatttt gacttgctgt cagattatga tgtgcaacag cagcagctcc taaatgagtt
                                                                   1800
ttccatcctt tcacaacaat cgatgggtgc taatteettg aaccgttetg gteggetgaa
                                                                   1860
aactttgacc coctcaaacc ttgatgatct cttctctgct gagagetcat cccctcgcta
                                                                   1920
cgctgatcaa gccctggctt ctgctgtttt ttcaccaacg cacaaatctg cagtaatcaa
                                                                   1980
tcaatttcag cagcagcagc agagcatgtt atcacccatc aacacaacct tctctcctaa
                                                                   2040
gagtgtcgac caccetttgt tgcaagcgtc tttcggtgtt caatctgggc gaatgtcccc
                                                                   2100
togtaacatg gatoccatot otootataag ttotogtgtg togatgttgg cocaacgaga
                                                                   2160
gaaacagcaa cagcaattac gcagcctaag ctctcgtgaa ctcggttcca attcagccgc
                                                                   2220
cattgtgggt tcccccgtgg gttcttggtc gaaatgggga gctacaaatg ggaaaccaga
                                                                   2280
ctgggctgtt agtgcagatg aactaggtaa gcttcgcagg tctaattcat ttgagcttqg
                                                                   2340
gaacaatggt gaggagccag atctttcatg ggttcaatcc ctcgttaaag aatctcctac
                                                                   2400
cgagatgaaa gaaaagcttt cgtcaactct ctctggtgtt ccagcccccg ctacatccag
                                                                   2460
tgaggttccg agtatcagct cgcagatgga atcggttgat cacqaagtgc taggagcatg
                                                                   2520
gctccagcag atgcagctcg atccgctcgt ggctcagcaa aactaggttg ttttttttcc
                                                                   2580
tacatggcct tgaggaagta gacagcggaa agtttttttt ggtaaatact atgttttttc
                                                                   2640
tggaaatttt tgatgctggg ggtggggtct ggaagaagat aacaaggcag gaaaggggtc
                                                                   2700
agtgaagtca ctggagaaaa ggaattcatt tttaaccatt ttatcattct attacaacag
                                                                   2760
aaagtaggga aaaaaaagga agaccctctg ggttatgaag agaaattaaa cccaggctag
                                                                   2820
gcgttctcct ttctaatatt tccaatttta ggtccatatt actgtcattt cctttttgcc
                                                                   2880
gtottatoat atttoatoaa aatggaactg gggactaatg tttgttocat totttogoto
                                                                   2940
ttctgattta tttgcaccct tggggtaaga tcaaaagaga aattatgatc attttctttt
                                                                   3000
gaggatattt ttttttccca atatttgtga gaatgaaagt taagagggga tatgatgtgt
                                                                   3060
ctggtgttgt agtatgaaaa accaataacc gagttcacct gttgctgctg gtggtagaag
                                                                   3120
aagtggagaa gaagctatga tootttgatg taacaqtcaa toaaacattt taatacottt
                                                                   3180
attittigtt teeteatgta atceateett tgtgattgte etetetete etetetete
                                                                   3240
ctctctctcc ctccccgtgt tctttcttca taagcgtctt gcttgtcgat ctgtaaatta
                                                                   3300
3360
aaaaaaaaa aa
                                                                   3372
```

<210> 11 <211> 704

<212> PRT

<213> Eucalyptus grandis

<400> 11

```
Lys Gly Ser Lys Gln Val Val Asn Met Gln Arg Thr Pro Leu Met Val
Ala Ala Thr Tyr Gly Ser Val Asp Val Met Arg Leu Ile Leu Cys Leu
                    70
                                         75
Ser Asp Ala Asp Val Asn Arg Thr Cys Ser Thr Asp Lys Ser Thr Ala
                                    90
Leu His Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ala Val Asn Ala Val Asp Ala Val
                                105
Arg Leu Leu Ser Ala Gly Ala Asp Pro Ser Leu Ala Asp Ala Asn
                            120
                                                 125
Gly Gln Arg Pro Val Asp Val Ile Val Val Pro Pro Lys Leu Leu Ser
                        135
                                             140
Ile Lys Phe Ala Leu Glu Glu Leu Leu Ser Thr Glu Gly Ser Val Asn
                                        155
                    150
Glu His Asn Leu Arg Val Ser Val Ala Thr Ser Asn Ser Thr Ser Pro
                                    170
                165
                                                         175
Pro Leu Ser Ser Ser Pro Asp Asn Gly Ser Pro Ala Ser Ala Asn Cys
                                185
            180
Ser Ser Pro Lys Asn Ser Lys Leu Ser Asp Ala Pro Val Leu Tyr Ala
                            200
                                                205
Ser Glu Lys Lys Glu Tyr Pro Val Asp Pro Ser Leu Pro Asp Ile Lys
                        215
                                            220
Asn Ser Ile Tyr Ser Thr Asp Glu Phe Arg Met Tyr Ser Phe Lys Val
                    230
                                        235
Arg Pro Cys Ser Arg Ala Tyr Ser His Asp Trp Thr Glu Cys Pro Phe
                245
                                    250
Val His Pro Gly Glu Asn Ala Arg Arg Arg Asp Pro Arg Lys Phe His
            260
                                265
                                                    270
Tyr Ser Cys Val Pro Cys Pro Asp Phe Arg Lys Gly Ala Cys Arg Arg
        275
                            280
                                                285
Gly Asp Met Cys Glu Tyr Ala His Gly Val Phe Glu Cys Trp Leu His
                        295
Pro Ala Gln Tyr Arg Thr Arg Leu Cys Lys Asp Gly Thr Ser Cys Ala
                    310
                                        315
Arg Arg Val Cys Phe Phe Ala His Thr Glu Gln Glu Leu Arg Pro Leu
                                    330
Tyr Val Ser Thr Gly Ser Ala Val Pro Ser Pro Arg Ser Ser Thr Ser
                                345
Gly Ala Ala Met Asp Phe Ala Ala Met Ser Leu Leu Pro Gly
                            360
Ser Pro Ser Ser Val Ser Ile Met Ser Pro Ser Pro Phe Thr Pro Pro
                        375
                                            380
Met Ser Pro Ser Ala Asn Gly Ile Ser His Pro Ser Val Ala Trp Pro
                    390
                                        395
Gln Gln Asn Val Pro Thr Leu His Leu Pro Gly Ser Asn Leu Gln Ser
                405
                                    410
Ser Arg Leu Arg Ser Ser Leu Asn Ala Arg Asp Ile Pro Gln Glu Asp
                                425
Phe Asp Leu Leu Ser Asp Tyr Asp Val Gln Gln Gln Leu Leu Asn
                            440
Glu Phe Ser Ile Leu Ser Gln Gln Ser Met Gly Ala Asn Ser Leu Asn
                        455
Arg Ser Gly Arg Leu Lys Thr Leu Thr Pro Ser Asn Leu Asp Asp Leu
                    470
                                        475
Phe Ser Ala Glu Ser Ser Pro Arg Tyr Ala Asp Gln Ala Leu Ala
                                    490
Ser Ala Val Phe Ser Pro Thr His Lys Ser Ala Val Ile Asn Gln Phe
                                505
Gln Gln Gln Gln Ser Met Leu Ser Pro Ile Asn Thr Thr Phe Ser
```

		515					520					525			
Pro	Lys 530	Ser	Val	Asp	His	Pro 535	Leu	Leu	Gln	Ala	Ser 540	Phe	Gly	Val	Gln
Ser 545	Gly	Arg	Met	Ser	Pro 550	Arg	Asn	Met	Asp	Pro 555	Ile	Ser	Pro	Ile	Ser 560
Ser	Arg	Val	Ser	Met 565	Leu	Ala	Gln	Arg	Glu 570	Lys	Gln	Gln	Gln	Gln 575	Leu
Arg	Ser	Leu	Ser 580	Ser	Arg	Glu	Leu	Gly 585	Ser	Asn	Ser	Ala	Ala 590	Ile	Val
Gly	Ser	Pro 595	Val	Gly	Ser	Trp	Ser 600	Lys	Trp	Gly	Ala	Thr 605	Asn	Gly	Lys
Pro	Asp 610	Trp	Ala	Val	Ser	Ala 615	Asp	Glu	Leu	Gly	Lys 620	Leu	Arg	Arg	Ser
Asn 625	Ser	Phe	Glu	Leu	Gly 630	Asn	Asn	Gly	Glu	Glu 635	Pro	Asp	Leu	Ser	Trp 640
Val	Gln	Ser	Leu	Val 645	Lys	Glu	Ser	Pro	Thr 650	Glu	Met	Lys	Glu	Lys 655	Leu
Ser	Ser	Thr	Leu 660	Ser	Gly	Val	Pro	Ala 665	Pro	Ala	Thr	Ser	Ser 670	Glu	Val
Pro	Ser	Ile 675	Ser	Ser	Gln	Met	Glu 680	Ser	Val	Asp	His	G1u 685	Val	Leu	Gly
Ala	Trp 690	Leu	Gln	Gln	Met	Gln 695	Leu	Asp	Pro	Leu	Val 700	Ala	Gln	Gln	Asn

<210> 12

<211> 1860

5

<212> ADN <213> *Oryza sativa*

```
60
atgggggage etgggggege egaggeggee gteteegega ggetgetega getggeggee
gacgacaacg cggcggggct cggggagctc ctcgcggcgt ggccctccct cgccgacgag
                                                                      120
ccegcgccgt ggtacacccc ggcgcggggc gcggagccgc tgaccccgct catggtcgcc
                                                                      180
qeeqtqtaeq qeteqqtqqq etqeeteqae qeqetectet eqeeqceeta ceteqtqqae
                                                                      240
cccaaccgcg cctcggcgtc gtcgctctcc accccgctcc acctcgccgc cgcqggggg
                                                                      300
tecgecteeq ecceegegge ggtetecege etcetegeeq eeggegeega eccqqecete
                                                                      360
ctcgaccacc tccagcgccg ggcgtccgac ctcgtcgcqc tcccqcccaa ctcqctcccq
                                                                      420
ctcaagaacc acctcctctc cctcctcggc gcccgcaagg agtggcctcc cgaccctcc
                                                                      480
ctccccgaca tcaagaacgg cgcctacgcc tccgacgact tcaggatgta ctcgttcaag
                                                                     540
                                                                      600
gtgcgcgct gctcgcgggc ctactcccat gactggacgg agtgcccctt cgtccacccc
ggcgagaacg cgcggcggcg cgacccgagg aagtaccact acagctgcgt gccgtgcccg
                                                                     660
gagttcaaga agggggccgg gtgcaggaga ggggacatgt gcgagtacgc gcacggggtg
                                                                     720
ttcgagaget ggetecacce ggegeagtae eggaegegee tetgeaagga eggegtegge
                                                                     780
tgcgcccgcc gcgtctgctt cttcgcccac acgcccgacg agctccgccc gctctacgtc
                                                                      840
tocacgggot cogcogtgec gtogcogogc ggggcgttgg agatggcggc ggcggcgc
                                                                      900
qegatgggga tggggetgte gtegeegggg tegtegtegt teaegeegge getategeeg
                                                                      960
teggeeggeg ggggeggggg egggggeggg ggeageggeg geggeggege gtggeegeag
                                                                     1020
cageogageg tgccggcgct ctgcctgccc gggagcgccg ggaacctcca cctgagccgg
                                                                    1080
etgegeaegt egetgagege gegegaeatg geegtegaeg agetgetege egeggeggeg
                                                                    1140
geggeggegg actacgaegg cetegtegee tecceegeet ceateeggte egegaggggg
                                                                    1200
aaggegettg tgeegteaaa tetegaegag etetteteeg etgagetege egeegeeg
                                                                    1260
gegtegeget egeogegeta egeogaceaa ggeggegeeg egtteteece gaecegeaag
                                                                    1320
gccaccgtgc tcaaccaatt ccagctgcag cagcagcata gcttgctctc gccqcgqqcq
                                                                    1380
geogeggtga caccagagee ggtetececa atgagetece geotectege egegetggeg
                                                                    1440
cagogggaga aqatqoaqoa qoaqaoqotg oggaqoatqa gotcaoqqqa cotoqqoaac
                                                                    1500
qccqcqtcqc tqctqqtcqq ctcqccqqtq aqctcqaqca tqtccaaatq qqqqttcccc
                                                                    1560
tecqqcaacc cqqactqqqq cqccqacqac qaqqaqctcq qccqcctcaa qcqttqctec
                                                                    1620
togttogage toeggtoogg ageogecaat ggcaaccatg ageotgacet etcatgggto
                                                                    1680
aacaccctag tgaaggagcc gacaccqgag aagatgatga cgacgacatc ggcaatggat
                                                                    1740
                                                                     1800
tccattggca tcttgggaca gaacacaagc cgtgatcaca tcgtcggagg cgaggatgac
                                                                     1860
actgccggag tcatcagcag ctggcttgaa cagctccagc tcgatgagat ggttgtctag
```

<210> 13 <211> 619 <212> PRT <213> Oryza sativa

<400> 13

5

```
Met Gly Glu Pro Gly Gly Ala Glu Ala Ala Val Ser Ala Arg Leu Leu
Glu Leu Ala Ala Asp Asp Asn Ala Ala Gly Leu Gly Glu Leu Leu Ala
                                25
Ala Trp Pro Ser Leu Ala Asp Glu Pro Ala Pro Trp Tyr Thr Pro Ala
                           40
Arg Gly Ala Glu Pro Leu Thr Pro Leu Met Val Ala Ala Val Tyr Gly
                        55
Ser Val Gly Cys Leu Asp Ala Leu Leu Ser Pro Pro Tyr Leu Val Asp
                   70
                                        75
Pro Asn Arg Ala Ser Ala Ser Ser Leu Ser Thr Pro Leu His Leu Ala
                85
                                    90
Ala Ala Gly Gly Ser Ala Ser Ala Pro Ala Ala Val Ser Arg Leu Leu
            100
                                105
Ala Ala Gly Ala Asp Pro Ala Leu Leu Asp His Leu Gln Arg Arg Ala
                            120
Ser Asp Leu Val Ala Leu Pro Pro Asn Ser Leu Pro Leu Lys Asn His
                        135
Leu Leu Ser Leu Leu Gly Ala Arg Lys Glu Trp Pro Pro Asp Pro Ser
                    150
                                        155
Leu Pro Asp Ile Lys Asn Gly Ala Tyr Ala Ser Asp Asp Phe Arg Met
                165
                                    170
Tyr Ser Phe Lys Val Arg Ala Cys Ser Arg Ala Tyr Ser His Asp Trp
            180
                                185
Thr Glu Cys Pro Phe Val His Pro Gly Glu Asn Ala Arg Arg Asp
                            200
Pro Arg Lys Tyr His Tyr Ser Cys Val Pro Cys Pro Glu Phe Lys Lys
                        215
Gly Ala Gly Cys Arg Arg Gly Asp Met Cys Glu Tyr Ala His Gly Val
                    230
                                        235
Phe Glu Ser Trp Leu His Pro Ala Gln Tyr Arg Thr Arg Leu Cys Lys
               245
                                    250
Asp Gly Val Gly Cys Ala Arg Arg Val Cys Phe Phe Ala His Thr Pro
           260
                               265
                                                    270
Asp Glu Leu Arg Pro Leu Tyr Val Ser Thr Gly Ser Ala Val Pro Ser
                            280
Pro Arg Gly Ala Leu Glu Met Ala Ala Ala Ala Ala Met Gly Met
                       295
                                           300
Gly Leu Ser Ser Pro Gly Ser Ser Ser Phe Thr Pro Pro Leu Ser Pro
                   310
                                        315
Ser Ala Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
                325
                                   330
Ala Trp Pro Gln Gln Pro Ser Val Pro Ala Leu Cys Leu Pro Gly Ser
           340
                               345
Ala Gly Asn Leu His Leu Ser Arg Leu Arg Thr Ser Leu Ser Ala Arg
                           360
                                               365
Asp Met Ala Val Asp Glu Leu Leu Ala Ala Ala Ala Ala Ala Asp
                       375
                                           380
Tyr Asp Gly Leu Val Ala Ser Pro Ala Ser Ile Arg Ser Ala Arg Gly
                   390
                                        395
```

```
Lys Ala Leu Val Pro Ser Asn Leu Asp Glu Leu Phe Ser Ala Glu Leu
              405 410
Ala Ala Ala Ala Ser Arg Ser Pro Arg Tyr Ala Asp Gln Gly Gly
           420
                              425
Ala Ala Phe Ser Pro Thr Arg Lys Ala Thr Val Leu Asn Gln Phe Gln
                          440
                                             445
Leu Gln Gln His Ser Leu Leu Ser Pro Arg Ala Ala Ala Val Thr
                   455
                                         460
Pro Glu Pro Val Ser Pro Met Ser Ser Arg Leu Leu Ala Ala Leu Ala
                                     475
               470
Gln Arg Glu Lys Met Gln Gln Gln Thr Leu Arg Ser Met Ser Ser Arg
               485
                                  490
Asp Leu Gly Asn Ala Ala Ser Leu Leu Val Gly Ser Pro Val Ser Ser
           500
                              505
Ser Met Ser Lys Trp Gly Phe Pro Ser Gly Asn Pro Asp Trp Gly Ala
                          520
                                             525
Asp Asp Glu Glu Leu Gly Arg Leu Lys Arg Cys Ser Ser Phe Glu Leu
                      535
                                         540
Arg Ser Gly Ala Ala Asn Gly Asn His Glu Pro Asp Leu Ser Trp Val
                   550
                                      555
Asn Thr Leu Val Lys Glu Pro Thr Pro Glu Lys Met Met Thr Thr Thr
               565
                                  570
Ser Ala Met Asp Ser Ile Gly Ile Leu Gly Gln Asn Thr Ser Arg Asp
           580
                              585
                                                 590
His Ile Val Gly Gly Glu Asp Asp Thr Ala Gly Val Ile Ser Ser Trp
       595
                          600
Leu Glu Gln Leu Gln Leu Asp Glu Met Val Val
                      615
```

<210> 14

<211> 2106

<212> ADN

5

<213> Medicago truncatula

```
atgaaaaatc taactgttcg tactgatgat totttttcca gottacttga acatgcttct
                                                                       60
aacaatgatt ttgaagattt caaggtagct ctagatagtg atgcttcact tattaatgaa
                                                                     120
gttggcttct ggtatgtccg tcaaaaggga tctaaccaaa ttgttcttga gcaccgaacc
                                                                     180
cctttaatgg tggctgcttc ctatgggagt attgatattc taaagcttat actctcatat
                                                                     240
cccgaggctg atgttaattt ctcctgtgga actgataaaa gcactgctct tcactgtgct
                                                                     300
gcctcaagtg gttcagttaa tgctgttgat gctataaaat tgcttttatc agctgqtgct
                                                                     360
gatatcaatt ctgtggatgc taatgggaaa cqccctgtgg atgttatcgt tgttcctatt
                                                                     420
gttgttcctc ataagctcga aggtgttaaa acaattcttg aagaacttct ctcagacagt
                                                                     480
gettetgaag gatetgtgga tgattgetet etteceetgt etettattte ategagteet
                                                                     540
ggttcatctg cccctttatc atctgctgaa aatggatctc catcctctcc tgtggctccc
                                                                     600
aagtttacag atacagctgt taattctaca tcagaaaaga aagagtatcc agttgaccca
                                                                     660
totottoctg acataaaaaa cagcatgtat gccacagatg aattocgcat gtattoatto
                                                                     720
aaggttcgtc cttgttctcg tgcatactct catgattgga ctgagtgtcc ttttgtgcat
                                                                     780
cctggagaga atgctcgaag gagagaccct agaaagtttc actacagctg tgtgccatgc
                                                                     840
cctgatttta ggaaaggggc ttgccgacgt tcggatatgt gtgaatatgc tcatggagta
                                                                     900
ttcgagtgct ggctacaccc agctcagtat cggacaaggc tgtgcaaaga cggtatgggt
                                                                     960
tgłaaccgaa gggtgtgctt cttcgctcac tcacctgaag agctgcgtcc gctgtatgtg
                                                                    1020
tecactggtt etgetgttee tteacecega teagetgett etactgetaa tgteatggae
                                                                    1080
atggctgctg ctatgagcct tttccctggt tcaccatcat caatctcttt gatgtctcaa
                                                                    1140
teaccettig cacageetee tetateteea tetgeaaatg geaataatge tiggeeacag
                                                                    1200
cccaatgtgc cagctettca tttaccagga agcattaatc aaactagtcg tttgagatct
                                                                    1260
totottagtg cocgtgatat gccacacgac gacttcaaca atatgttgca agactttgat
                                                                    1320
gggcagcagc agatactaaa tgacttgagc tgtttctcac agccccqtcc tggtgctatt
                                                                    1380
tcaqttggtc gatctggccg ccctaaaaca ctaactccct caaatctgga tgatcttttt
                                                                    1440
tgtgctgaga ttgcttcatc tcctaggtat tccgaccccg ctgcggcttc tgtattttcc
                                                                    1500
ccaacacaca aatotgotgt ottoaaccag tttoaacago ttoaaagoto ottatoacco
                                                                    1560
atcaacacaa atgtcatgtc tectacaaac gtagagcatc ceetgtteca ecaggettea
                                                                    1620
tatggtetet etteteetgg aaggatgtea ceaagaagta tggaageeet ateteeaatg
                                                                    1680
agttetegge tgteagettt tgeteagegt gagaaacaae ageageagea geaacagetg
                                                                    1740
                                                                    1800
cgtagcetca getcaagaga acteggtget aacaateete tetcagetgt tgggteceet
gttaactcct ggtccaagtg gggatcatcc cctattggaa aagctgattg gtcggtaaat
                                                                    1860
ccaaatgact toggtcaaac acagagatca acttottttg agcatggaaa caatggagaa
                                                                    1920
                                                                    1980
gagcctgatg taggttgggt ccattccctt gtcaaggatc ccacacctga gaagaaagag
aagettgeag gtteeggeee aatteeatee gttgaaaaga ateecaatee teaageggae
                                                                    2040
                                                                    2100
ggcattgatc actctgtttt gggagcttgg ctcgagcaac tgcagctgga tcaacttgta
gtctag
                                                                    2106
```

<210> 15

5

<211> 701

<212> PRT

<213> Medicago truncatula

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

```
Cys Asn Arg Arg Val Cys Phe Phe Ala His Ser Pro Glu Glu Leu Arg
                325
                                    330
Pro Leu Tyr Val Ser Thr Gly Ser Ala Val Pro Ser Pro Arg Ser Ala
            340
                                345
                                                     350
Ala Ser Thr Ala Asn Val Met Asp Met Ala Ala Ala Met Ser Leu Phe
                             360
Pro Gly Ser Pro Ser Ser Ile Ser Leu Met Ser Gln Ser Pro Phe Ala
                        375
Gln Pro Pro Leu Ser Pro Ser Ala Asn Gly Asn Asn Ala Trp Pro Gln
                    390
                                        395
Pro Asn Val Pro Ala Leu His Leu Pro Gly Ser Ile Asn Gln Thr Ser
                                    410
Arg Leu Arg Ser Ser Leu Ser Ala Arg Asp Met Pro His Asp Asp Phe
            420
                                425
                                                    430
Asn Asn Met Leu Gln Asp Phe Asp Gly Gln Gln Gln Ile Leu Asn Asp
                            440
Leu Ser Cys Phe Ser Gln Pro Arg Pro Gly Ala Ile Ser Val Gly Arg
                        455
Ser Gly Arg Pro Lys Thr Leu Thr Pro Ser Asn Leu Asp Asp Leu Phe
                    470
                                        475
Cys Ala Glu Ile Ala Ser Ser Pro Arg Tyr Ser Asp Pro Ala Ala Ala
                485
                                    490
Ser Val Phe Ser Pro Thr His Lys Ser Ala Val Phe Asn Gln Phe Gln
            500
                                505
Gln Leu Gln Ser Ser Leu Ser Pro Ile Asn Thr Asn Val Met Ser Pro
        515
                            520
                                                525
Thr Asn Val Glu His Pro Leu Phe His Gln Ala Ser Tyr Gly Leu Ser
                        535
Ser Pro Gly Arg Met Ser Pro Arg Ser Met Glu Ala Leu Ser Pro Met
                    550
                                        555
Ser Ser Arg Leu Ser Ala Phe Ala Gln Arg Glu Lys Gln Gln Gln Gln
               565
                                    570
Gin Gin Gin Leu Arg Ser Leu Ser Ser Arg Glu Leu Gly Ala Asn Asn
                                585
Pro Leu Ser Ala Val Gly Ser Pro Val Asn Ser Trp Ser Lys Trp Gly
                            600
Ser Ser Pro Ile Gly Lys Ala Asp Trp Ser Val Asn Pro Asn Asp Phe
                        615
Gly Gln Thr Gln Arg Ser Thr Ser Phe Glu His Gly Asn Asn Gly Glu
                    630
                                        635
Glu Pro Asp Val Gly Trp Val His Ser Leu Val Lys Asp Pro Thr Pro
                                    650
Glu Lys Lys Glu Lys Leu Ala Gly Ser Gly Pro Ile Pro Ser Val Glu
                                665
Lys Asn Pro Asn Pro Gln Ala Asp Gly Ile Asp His Ser Val Leu Gly
                            680
Ala Trp Leu Glu Gln Leu Gln Leu Asp Gln Leu Val Val
                        695
```

<210> 16 <211> 2841

<212> ADN

<213> Oryza sativa

```
atgaacggca cgccgatctc cgcgtccgcc gcggccggcg tcgacggagt cggcgcgcg
                                                                       60
gtggcgctgg cggccgcgac caagaagagt gccgccgcgg cggccgccgt cgccgagatg
                                                                      120
gcgaaaaccc tcaccgtcga cacggacgac gccttcgcgg ggctcctcga gctcgccgcg
                                                                      180
gacgacgacg cggagggcct gcgccgcgcg ctggagcgcg ccccgcccgc cgccgcggac
                                                                      240
                                                                      300
gaggegggee tetggtaegg cegeegeaag gteetegage acegeaegee getgatggte
                                                                      360
geggeeacct atggeagect egeggtgett egeetgetge tgteeeteee gteegtegat
                                                                      420
gtcaatcgcc gctgtggctc cgacggcacc accgccctcc actgtgcggc gtctggtggc
                                                                      480
togoogtott gtgtggaggo ogtoaagotg otgottgotg otggggotga tgotgatgoo
                                                                      540
acggatgett ceggatateg tecagetgat gtgatetetg tteetecaaa gatgtttgae
gccaagattg ccctccaaga tettettgga tgcccaaagg ctgggcatgg cgttctccgg
                                                                      600
                                                                      660
gtggtgacaa gggccgcaaa ctctatgttg tcacctgtat catcccctac agcagaagat
                                                                      720
gcacgatete cateagetge tgtgatgatg acgacaaagt ttgcagatet tecaagggtt
                                                                      780
gtgacatcgg aaaagaaaga atatccagtg gatccgtccc ttcccgatat caagaacagc
                                                                      840
atctatgctt ccgatgagtt ccgcatgtac tcatttaaga tcaggccatg ctcgcgggcg
                                                                      900
tactcacatg attggactga gtgcccgttt gttcacccag gggagaacgc acggcgtcgg
                                                                      960
gaccctcgca agtatcacta cagctgtgtg ccatgccccg actttagaaa gggagtttgc
                                                                     1020
eggegtggtg acatgtgtga atatgeteat ggegtgtteg agtgttgget ceatecagea
cagtaccgta ctcgcctttg caaggatggc acaagctgta atcgccgtgt ctgtttcttt
                                                                     1080
gegeatacaa etgatgaget eegaceaeta tatgttteea etggatetge agtaceatee
                                                                     1140
ccaagageet eggeaacage tacaatggag atggetgeag caatgggett gatgeetggt
                                                                     1200
totocatcat cagtiticago agicatgico coatitação caccaatgio cooticaggo
                                                                     1260
aatgggatge eccetteatt gggetggeag cageeaaatg tteegaeact acacetteea
                                                                     1320
ggcagcagcc ttcagtcgag ccggctccgt acctcactta gtgcaaggga tatgcctgct
                                                                     1380
                                                                     1440
gatgattact ccctgatgca ggatattgat tcacagctta taaatgattt gtgctattca
                                                                     1500
cgtattggtt catcaacagg aaaccacacg totcggacca agtccctaaa tccgtcaaac
ttggatgatc tcttctctgc tgagatggtc tcttccccga ggtatagtaa tgctgatcag
                                                                     1560
ggtggtatgt tttcaccatc tcacaagget gctttcctta atcagttcca gcaacagcag
                                                                     1620
caggcactte ttteaccaat caacacagte tteteceega agtetgtgga caaccageag
                                                                     1680
ttgccttcac actcatctct gttgcaagca tcacttggta tatcctcccc tggccgcatg
                                                                     1740
totoctogat gtgttgaato tgggtcocct atgaactoto atottgctgc tgctcttgct
                                                                     1800
cagogtgaga agcaacagca gacaatgaga agtotcagtt otogtgatot tgggcogagt
                                                                     1860
gctgcaagag catcaggtgt tgttggctcc cctctaagct catcatggtc aaaqtgggga
                                                                     1920
tcaccttcag ggacacctga ctggggtgtt aatggtgaag aattgggcaa gcttcgccgg
                                                                     1980
                                                                     2040
tcatcatcgt ttgagctgag atctggtggt gatgatccag atctctcttg ggtacacaca
ctggttaagg aatctccacc agagaagcaa gtcactactg ctgaatccat aaactctgtt
                                                                     2100
ggaccttcac cactgatgcc tcccagtgta agcaacggtg aaggtcctag tctgaatgcc
                                                                     2160
cogotggatg ggcatgacca agotgotgtt attggagcat tgcttgaaca gatgcagott
                                                                     2220
gatcagcata ttggtagtct agcaacataa gcgctgaatg agcctggaaa gtgcaaggag
                                                                     2280
ttattattot tagttaatga atttggagta attttttcc tgttcattaa gatggtcagc
                                                                     2340
aagcaaaagg atggatagct gatggtggtg attcagagat tggttttctt tactttattg
                                                                     2400
aggtaaatca tatacattat tgaggttcca gtaggttgaa agattgaagt accttgattg
                                                                     2460
gggtcgtttc aagaccgacc caggtagaat cgcaccccgg cagcttcaat tcatcggtca
                                                                     2520
aaaatattto cotgttttgt taattaacco ogttaaaaaa gaagactogt ttggtgttto
                                                                     2580
ggaattettt tetttacett ageggtgttt attttgttta ttatgatatt gataettgat
                                                                     2640
gtactgatgg gtataaggtt ggttaccagg catgctatag tggtatatca agtcccaaag
                                                                     2700
tattettttt etecetttea ceattigteg aggateatae tatggeettg tittggteag
                                                                     2760
atcttgaggc ctgtataatc cttggatttg taataatgta atattgtcat tgaacttaca
                                                                     2820
ttgctattgt tttgcaatcg c
                                                                     2841
```

<210> 17 <211> 749 5 <212> PRT <213> *Oryza sativa*

 Met
 Asn
 Gly
 Thr
 Pro
 Ile
 Ser
 Ala
 Ser
 Ala
 Ala
 Ala
 Gly
 Val
 Asp
 Gly

 Val
 Gly
 Ala
 Val
 Ala
 Leu
 Ala
 Ala
 Ala
 Thr
 Lys
 Lys
 Ser
 Ala
 A

```
Glu Gly Leu Arg Arg Ala Leu Glu Arg Ala Pro Pro Ala Ala Ala Asp
Glu Ala Gly Leu Trp Tyr Gly Arg Arg Lys Val Leu Glu His Arg Thr
                                     90
Pro Leu Met Val Ala Ala Thr Tyr Gly Ser Leu Ala Val Leu Arg Leu
                                 105
Leu Leu Ser Leu Pro Ser Val Asp Val Asn Arg Arg Cys Gly Ser Asp
                             120
Gly Thr Thr Ala Leu His Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ser Pro Ser Cys
                         135
                                             140
Val Glu Ala Val Lys Leu Leu Ala Ala Gly Ala Asp Ala Asp Ala
                    150
                                         155
Thr Asp Ala Ser Gly Tyr Arg Pro Ala Asp Val Ile Ser Val Pro Pro
                                     170
                165
Lys Met Phe Asp Ala Lys Ile Ala Leu Gln Asp Leu Leu Gly Cys Pro
                                 185
                                                     190
Lys Ala Gly His Gly Val Leu Arg Val Val Thr Arg Ala Ala Asn Ser
        195
                            200
Met Leu Ser Pro Val Ser Ser Pro Thr Ala Glu Asp Ala Arg Ser Pro
                         215
                                             220
Ser Ala Ala Val Met Met Thr Thr Lys Phe Ala Asp Leu Pro Arg Val
                    230
                                         235
Val Thr Ser Glu Lys Lys Glu Tyr Pro Val Asp Pro Ser Leu Pro Asp
                245
                                     250
Ile Lys Asn Ser Ile Tyr Ala Ser Asp Glu Phe Arg Met Tyr Ser Phe
                                 265
Lys Ile Arg Pro Cys Ser Arg Ala Tyr Ser His Asp Trp Thr Glu Cys
                            280
                                                 285
Pro Phe Val His Pro Gly Glu Asn Ala Arg Arg Arg Asp Pro Arg Lys
                        295
Tyr His Tyr Ser Cys Val Pro Cys Pro Asp Phe Arg Lys Gly Val Cys
                    310
                                         315
Arg Arg Gly Asp Met Cys Glu Tyr Ala His Gly Val Phe Glu Cys Trp
                325
                                     330
Leu His Pro Ala Gln Tyr Arg Thr Arg Leu Cys Lys Asp Gly Thr Ser
                                 345
                                                     350
Cys Asn Arg Arg Val Cys Phe Phe Ala His Thr Thr Asp Glu Leu Arg
        355
                            360
                                                 365
Pro Leu Tyr Val Ser Thr Gly Ser Ala Val Pro Ser Pro Arg Ala Ser
                        375
                                             380
Ala Thr Ala Thr Met Glu Met Ala Ala Ala Met Gly Leu Met Pro Gly
                    390
                                         395
                                                             400
Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Val Met Ser Pro Phe Thr Pro Pro Met
                                     410
Ser Pro Ser Gly Asn Gly Met Pro Pro Ser Leu Gly Trp Gln Gln Pro
            420
                                 425
                                                     430
Asn Val Pro Thr Leu His Leu Pro Gly Ser Ser Leu Gln Ser Ser Arg
                            440
                                                 445
Leu Arg Thr Ser Leu Ser Ala Arg Asp Met Pro Ala Asp Asp Tyr Ser
                        455
                                             460
Leu Met Gln Asp Ile Asp Ser Gln Leu Ile Asn Asp Leu Cys Tyr Ser
                    470
                                         475
                                                             480
Arg Ile Gly Ser Ser Thr Gly Asn His Thr Ser Arg Thr Lys Ser Leu
                485
                                     490
                                                         495
Asn Pro Ser Asn Leu Asp Asp Leu Phe Ser Ala Glu Met Val Ser Ser
                                505
            500
Pro Arg Tyr Ser Asn Ala Asp Gln Gly Gly Met Phe Ser Pro Ser His
        515
                            520
                                                 525
Lys Ala Ala Phe Leu Asn Gln Phe Gln Gln Gln Gln Ala Leu Leu
```

	530					535					540				
Ser 545	Pro	Ile	Asn	Thr	Val 550	Phe	Ser	Pro	Lys	Ser 555	Val	Asp	Asn	Gln	Gln 560
Leu	Pro	Ser	His	Ser 565	Ser	Leu	Leu	Gln	Ala 570	Ser	Leu	Gly	Ile	Ser 575	Ser
Pro	Gly	Arg	Met 580	Ser	Pro	Arg	Суз	Val 585	Glu	Ser	Gly	Ser	Pro 590	Met	Asn
Ser	His	Leu 595	Ala	Ala	Ala	Leu	Ala 600	Gln	Arg	Glu	Lys	Gln 605	Gln	Gln	Thr
Met	Arg 610	Ser	Leu	Ser	Ser	Arg 615	Asp	Leu	Gly	Pro	Ser 620	Ala	Ala	Arg	Ala
Ser 625	Gly	Val	Val	Gly	Ser 630	Pro	Leu	Ser	Ser	Ser 635	Trp	Ser	Lys	Trp	Gly 640
Ser	Pro	Ser	Gly	Thr 645	Pro	Asp	Trp	Gly	Val 650	Asn	Gly	Glu	Glu	Leu 655	Gly
Lys	Leu	Arg	Arg 660	Ser	Ser	Ser	Phe	Glu 665	Leu	Arg	Ser	Gly	Gly 670	Asp	Asp
Pro	Asp	Leu 675	Ser	Trp	Val	His	Thr 680	Leu	Val	Lys	Glu	Ser 685	Pro	Pro	Glu
Lys	Gln 690	Val	Thr	Thr	Ala	G1u 695	Ser	Ile	Asn	Ser	Val 700	Gly	Pro	Ser	Pro
Leu 705	Met	Pro	Pro	Ser	Val 710	Ser	Asn	Gly	Glu	Gly 715	Pro	Ser	Leu	Asn	Ala 720
	Leu	•	_	725	_				730		_		Leu	Leu 735	Glu
Gln	Met	Gln	Leu 740	Asp	Gln	His	Ile	Gly 745	Ser	Leu	Ala	Thr			

<210> 18

5

<211> 2769 <212> ADN <213> Arabidopsis thaliana

```
acaccagtta coctotoato cgttttcgtt ttttttttct ctctttcaaa aatototoag
                                                                        60
 ctgaggttga tcgatcttct tcttcttctt cctcactctt tagatttgtt ccttttgcat
                                                                       120
 tttacacttt tggatctgaa aatgtggttc tctgtttcgc ccgttaccgt ttagattcag
                                                                       180
 ttetgttttt ttettaeceg ategettgat teggaetgtg atetttgate ttttttette
                                                                       240
 tccagtgccg tgaaggatgt gtggtcttgc taagaagctg gatatagagg atactttgac
                                                                       300
 atcactgtca gaccaagaga atgaatcttt ggccaaaccc atgaatgatg ctgctgaatg
                                                                       360
 ggaacattcg ttttctgcct tgcttgagtt tgctgcagac aacgatgtgg aggggtttag
                                                                       420
                                                                       480
 geggeaacte tetgatgtgt ettgtateaa eeagatgggt etttggtaea gaeggeagag
                                                                       540
 gtttgttaga agaatggttc ttgagcaaag aaccccgctg atggttgctt cgttatatgg
 gagtttagat gttgtgaagt ttattctttc tttcccggaa gcggagttga atctgtcttg
                                                                       600
 tggtcctgat aaaagtactg ctcttcattg cgctgcttct ggtgcttctg tgaattcctt
                                                                       660
 ggatgttgtc aagttgcttt tgagtgtagg agcagatcct aatatccctg atgctcatgg
                                                                       720
 aaatogtoot gttgatgtto ttgttgtgtc tocacacgot cotggtttga gaaccatoot
                                                                       780
                                                                       840
 tgaagagate ttgaagaaag acgagattat atetgaagat etgeatgeet egteatetag
                                                                       900
 cttgggatca agtttccggt ctctctcatc atcccctgat aatggttcct cgttactctc
 cttagattca gtatcctctc cgactaagcc acacggtact gatgtaactt tcgcatcaga
                                                                       960
 gaagaaagag tacccaattg atccatcatt gcctgatatc aaaagcggga tttattcaac
                                                                      1020
 cqatqaqttt cqtatqttct cqttcaaqat ccqcccatqt tctcqaqcat attcccatqa
                                                                      1080
 ctggactgaa tgtccatttg cacacccagg tgagaatgca aggagaagag acccgaggaa
                                                                      1140
 gtttcactat acgtgtgttc catgcccgga ttttaagaaa ggatcctgta agcaaggtga
                                                                      1200
 tatgtgtgaa tatgctcatg gggtttttga atgctggcta caccctgctc agtacagaac
                                                                      1260
 acgattgtgc aaggacggaa tgggttgcaa ccgaagggtt tgcttctttg ctcacgcaaa
                                                                      1320
 tgaggagttg cgtcccttgt acccttccac aggatctgga ttgccatctc ctcgggcttc
                                                                      1380
 gtctgctgtt tccgcctcta ctatggacat ggcgtcagtt ttgaacatgt taccaggctc
                                                                      1440
 accatotgot gotcaacatt ogttoaccoo accaatatot cottotggaa atggtagtat
                                                                      1500
 geoccattea tegatgggtt ggeoteagea gaacataceg gegttgaate tteetggaag
                                                                      1560
 caatatccag ttgagtcgtc tgagatcttc tcttaacgct agagatattc cttctgagca
                                                                      1620
 gettageatg etgeatgagt ttgaaatgea aegteagett getggegata tgeaeagtee
                                                                      1680
                                                                      1740
 acgetttatg aatcattccg ctcgtcctaa gacactgaac cettcaaate tggaggaact
                                                                      1800
 cttctcagct gaggttgcat ctcctcgttt ctctgatcaa cttgctgttt catctgttct
 ategeettee cacaagteeg egettettaa teagetgeag aataataage agageatget
                                                                      1860
 ttotoctato aagacaaato taatgtotto tocaaagaat gtggagcaac attotottot
                                                                      1920
 gcagcaagec tegtcacece gaggeggaga gectatttee ceaatgaatg etegaatgaa
                                                                      1980
 acagcageta catteaegea geetaagete eegtgatttt ggatetagte tgeeeegtga
                                                                      2040
 tttaatgccg actgattctg gttcgccatt aagtccatgg tcaagttggg accagaccca
                                                                      2100
                                                                      2160
 tggaagcaag gtggattggt cagtccaatc agatgagtta ggtcggttga gaaaatctca
 ttccttggct aataacccaa acagggaagc agatgtttca tgggctcagc agatgttaaa
                                                                      2220
 agactettea teacetagga aeggaaaeeg tgttgtgaae atgaatggtg caaggeeatt
                                                                      2280
 gactcaaggt ggttcgagtg tgaatcctca caacagtgac actcgtgaga gcgacattct
                                                                      2340
 tgatgcgtgg cttgaacagc tgcacctaga tcgctgagcc tcagctgcga gagagaggtt
                                                                      2400
 cacatttctg tgaagctgtg aaactgatga ttcgtttatt tattattcaa gaaagcaaac
                                                                      2460
 ggaaacaaaa gcaaactccg ggtaagcttt tttcgattct aataacccta aaaggctcag
                                                                      2520
 ttttttcagg cttctttctg aaatttcttt actttcttat ttttatcacc tcattaaatt
                                                                      2580
 aattattgta tcatctctgt tgtaacaatg gccaaagtgc gcctctatta cttcccggat
                                                                      2640
 ttctgattta cattttttgt atcctctcag tttgtcaatt gtttctaata tctccttcat
                                                                      2700
 atttgtcaaa gaacactgta tgagaaataa taacatattg tttcagctaa taagattcat
                                                                      2760
 tcatttcct
                                                                      2769
<210> 19
<211> 706
<212> PRT
```

<400> 19

<213> Arabidopsis thaliana

5

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

```
Ile Asp Pro Ser Leu Pro Asp Ile Lys Ser Gly Ile Tyr Ser Thr Asp
               245
                                   250
Glu Phe Arg Met Phe Ser Phe Lys Ile Arg Pro Cys Ser Arg Ala Tyr
            260
                                265
Ser His Asp Trp Thr Glu Cys Pro Phe Ala His Pro Gly Glu Asn Ala
        275
                           280
                                               285
Arg Arg Asp Pro Arg Lys Phe His Tyr Thr Cys Val Pro Cys Pro
                       295
Asp Phe Lys Lys Gly Ser Cys Lys Gln Gly Asp Met Cys Glu Tyr Ala
305
                   310
                                       315
His Gly Val Phe Glu Cys Trp Leu His Pro Ala Gln Tyr Arg Thr Arg
               325
                                   330
Leu Cys Lys Asp Gly Met Gly Cys Asn Arg Arg Val Cys Phe Phe Ala
           340
                               345
His Ala Asn Glu Glu Leu Arg Pro Leu Tyr Pro Ser Thr Gly Ser Gly
                           360
Leu Pro Ser Pro Arg Ala Ser Ser Ala Val Ser Ala Ser Thr Met Asp
                       375
Met Ala Ser Val Leu Asn Met Leu Pro Gly Ser Pro Ser Ala Ala Gln
                   390
                                        395
His Ser Phe Thr Pro Pro Ile Ser Pro Ser Gly Asn Gly Ser Met Pro
                405
                                    410
His Ser Ser Met Gly Trp Pro Gln Gln Asn Ile Pro Ala Leu Asn Leu
                                425
Pro Gly Ser Asn Ile Gln Leu Ser Arg Leu Arg Ser Ser Leu Asn Ala
        435
                            440
Arg Asp Ile Pro Ser Glu Gln Leu Ser Met Leu His Glu Phe Glu Met
                       455
                                           460
Gln Arg Gln Leu Ala Gly Asp Met His Ser Pro Arg Phe Met Asn His
                   470
                                       475
Ser Ala Arg Pro Lys Thr Leu Asn Pro Ser Asn Leu Glu Glu Leu Phe
               485
                                   490
Ser Ala Glu Val Ala Ser Pro Arg Phe Ser Asp Gln Leu Ala Val Ser
                               505
Ser Val Leu Ser Pro Ser His Lys Ser Ala Leu Leu Asn Gln Leu Gln
                           520
       515
                                               525
Asn Asn Lys Gln Ser Met Leu Ser Pro Ile Lys Thr Asn Leu Met Ser
                       535
Ser Pro Lys Asn Val Glu Gln His Ser Leu Leu Gln Gln Ala Ser Ser
                   550
                                       555
Pro Arg Gly Glu Pro Ile Ser Pro Met Asn Ala Arg Met Lys Gln
                                   570
                565
Gln Leu His Ser Arg Ser Leu Ser Ser Arg Asp Phe Gly Ser Ser Leu
                               585
Pro Arg Asp Leu Met Pro Thr Asp Ser Gly Ser Pro Leu Ser Pro Trp
                           600
                                               605
Ser Ser Trp Asp Gln Thr His Gly Ser Lys Val Asp Trp Ser Val Gln
                       615
                                           620
Ser Asp Glu Leu Gly Arg Leu Arg Lys Ser His Ser Leu Ala Asn Asn
                                       635
                   630
Pro Asn Arg Glu Ala Asp Val Ser Trp Ala Gln Gln Met Leu Lys Asp
                                  650
Ser Ser Ser Pro Arg Asn Gly Asn Arg Val Val Asn Met Asn Gly Ala
                               665
Arg Pro Leu Thr Gln Gly Gly Ser Ser Val Asn Pro His Asn Ser Asp
                           б80
                                               685
Thr Arg Glu Ser Asp Ile Leu Asp Ala Trp Leu Glu Gln Leu His Leu
                       695
Asp Arg
```

705

```
<210> 20
<211> 2674
<212> ADN
<213> Oryza sativa
```

<400> 20

5

```
60
tgcgagtcct cctcctcttc tcgtcgccgt gctactctcg ctttctctct ctctctct
                                                                   120
180
240
caaccccgga gggcgggagc ggttgctaca gatgcgttga gctttggtta atctatccgg
                                                                   300
egagagataa tgggegaget tgetgatete gttgtegtge egtegeagee geegetegee
ggcggccggc gggacaggct ggcggcgctg ctggagctcg cggcggcgga tgatgttgat
                                                                   360
gggctcaggg gggcgctcgc ggagggaggc gaggaggcgg cggagttggc tgatggggtc
                                                                   420
gggctgtggt atggtcggag caaggcgtac gaggcgcgca cgccgctgat ggtggcggcg
                                                                   480
acqtacqqca qcqccqqqqt qqtctcqctq ctqqtqqqcc tcqqcqqttq cqtcqacqtc
                                                                   540
                                                                   600
aaccgtcgcc ctggagccga cggcgccacc gcgctccact gcgccgcctc cggtggctcg
cgcaacgccg tcgctgttgt caagctgctt ttggccgctg gcgccgatcc ggccaccccc
                                                                   660
                                                                   720
gattecqueq geogettece egeogaegte atectagete etceggette geoagatgee
ettggegate tegaggtget eeteggeege egeegageae tegeegtgge gaeeteggtg
                                                                   780
getteaggtt egteateece teegeteteg teeteaceag atgagggeaa caggtegeee
                                                                   840
                                                                   900
togtogogtt cgtcgtcgct gtctcccatc actgtggatc gtgggaagaa ggagtatccg
gtggatccaa ctctgccgga catcaagagc agcgtgtatg cttcggatga gttccgcatg
                                                                   960
tttgcgttca aggtccggcc ctgctcccgt gcctactcac acgactggac tgagtgcccg
                                                                  1020
tttgtgcacc ceggegagaa egecegeege egtgateeee geaageacee atacaetget
                                                                  1080
gtgccttgcc ccaactttcg ccggcctggt ggctgcccta gcggcgatag ctgtgagttc
                                                                  1140
                                                                  1200
tegeatggeg tgtttgagag etggetaeac ceateaeagt ategeaeaag getetgeaag
                                                                  1260
gagggagcag cttgcgcccg tcgcatttgc ttctttgccc atgatgagga tgagctccgc
catgtgcctc acaacagtgg tgccggcctg ctgtctcccc gcgcttcttc atccattgat
                                                                  1320
atgactgetg cagetgeget egggettett ceaggttete etaceagaea etttgeaeeg
                                                                  1380
ccgcctgtgt caccatctgc tgggagcaat ggaggagctg ctgctgcgca ttggctccaa
                                                                  1440
ggcagtaggc tgcgttcttc tttcaatgca agggatgctg ctgttgatga ccttggcatg
                                                                  1500
ctcctcgaat gggaatcaca ataccttggg gcactctgcc tgccacccag cagccgcccc
                                                                  1560
caaccacgcc tttcagctgg tctgagtatc aggccaacaa ttgctccatc caatcttgaa
                                                                  1620
gacatgtatg cttcagacat ggcaatgtct ccgaggttcc ctaatgacca aggtcactca
                                                                  1680
gtotactcac cagoccacaa atcagoccto otcaacaago ttoatcaaca gaagggooto
                                                                  1740
ttatcacctg ttaacaccaa cagaatgtac tccccaaggg ctcttgatcc gtcatctttg
                                                                  1800
gcacattete cattiggigg catgitetece eggiceecee giaccatgga acetacatea
cccctaagtg ctcgtgtagg agcccctgcc acacagcggc cttctgttgg ttcaccacgg
                                                                  1920
aattocagtg cttggggcac cgtggggtcc ccgatgggta aggttgactg gggtgtcgat
                                                                  1980
agegaggage tagteegett gagaegeeet geacaaceag ggtttggaga agatgagaea
                                                                  2040
gatgtatcat gggtgcagtc actggtaagc aatgctgagc ttaatggcaa gaggggcgaa
                                                                  2100
gtacaaggca tgcctggtac ttctgcattg atgaacaggc ctgacctgaa caatcagggt
                                                                  2160
gacttgttgg accagacggt gatcggtgct tggcttgagc agatgcacct ggatcagaag
                                                                  2220
tgatttccaa gggaagccat gaagtcccaa agtggatgaa gcctttattt tgccaaggtt
                                                                  2280
atttaccaaa gaatagttgt tggtcctagt aaataataat ttattctttt taattcttga
                                                                  2340
aatttttggt gggcaaagtc agagatggtg gtcaagttca acaaaacatt tggtcacaga
                                                                  2400
ttggtagctg aaatcagttc cagagattgg taaacaacct cattacttgg ggtcctaact
                                                                  2460
agtattettt tgattagete agatgagtet ttattttagt gggttaaaat teatatgtte
                                                                  2520
cccatggtta ttatgtccat gatctcttcc taacaaaaga gagattataa ttgtccattt
                                                                  2580
ttcatttatc aatgaatgat tttgttaaaa caatgtaagt tacattctta attttttctc
                                                                  2640
tgttcaatgg aattacette ettggttagt eete
                                                                  2674
```

10

```
<210> 21
<211> 657
<212> PRT
<213> Oryza sativa
```

15

```
Met Gly Glu Leu Ala Asp Leu Val Val Val Pro Ser Gln Pro Pro Leu
                                    10
Ala Gly Gly Arg Arg Asp Arg Leu Ala Ala Leu Leu Glu Leu Ala Ala
                                25
Ala Asp Asp Val Asp Gly Leu Arg Gly Ala Leu Ala Glu Gly Gly Glu
                            40
Glu Ala Ala Glu Leu Ala Asp Gly Val Gly Leu Trp Tyr Gly Arg Ser
                        55
Lys Ala Tyr Glu Ala Arg Thr Pro Leu Met Val Ala Ala Thr Tyr Gly
                                        75
                    70
Ser Ala Gly Val Val Ser Leu Leu Val Gly Leu Gly Gly Cys Val Asp
                                    90
Val Asn Arg Arg Pro Gly Ala Asp Gly Ala Thr Ala Leu His Cys Ala
                                105
Ala Ser Gly Gly Ser Arg Asn Ala Val Ala Val Val Lys Leu Leu Leu
                                                125
                            120
Ala Ala Gly Ala Asp Pro Ala Thr Pro Asp Ser Ala Gly Arg Phe Pro
                        135
Ala Asp Val Ile Leu Ala Pro Pro Ala Ser Pro Asp Ala Leu Gly Asp
                    150
                                        155
Leu Glu Val Leu Leu Gly Arg Arg Ala Leu Ala Val Ala Thr Ser
                                    170
                165
Val Ala Ser Gly Ser Ser Pro Pro Leu Ser Ser Pro Asp Glu
                                185
Gly Asn Arg Ser Pro Ser Ser Arg Ser Ser Ser Leu Ser Pro Ile Thr
                            200
Val Asp Arg Gly Lys Lys Glu Tyr Pro Val Asp Pro Thr Leu Pro Asp
                                            220
                        215
Ile Lys Ser Ser Val Tyr Ala Ser Asp Glu Phe Arg Met Phe Ala Phe
                    230
                                        235
Lys Val Arg Pro Cys Ser Arg Ala Tyr Ser His Asp Trp Thr Glu Cys
                245
                                    250
Pro Phe Val His Pro Gly Glu Asn Ala Arg Arg Asp Pro Arg Lys
                                265
His Pro Tyr Thr Ala Val Pro Cys Pro Asn Phe Arg Arg Pro Gly Gly
        275
                            280
                                                285
Cys Pro Ser Gly Asp Ser Cys Glu Phe Ser His Gly Val Phe Glu Ser
                        295
                                            300
Trp Leu His Pro Ser Gln Tyr Arg Thr Arg Leu Cys Lys Glu Gly Ala
                    310
                                        315
Ala Cys Ala Arg Arg Ile Cys Phe Phe Ala His Asp Glu Asp Glu Leu
                                    330
                325
Arg His Val Pro His Asn Ser Gly Ala Gly Leu Leu Ser Pro Arg Ala
            340
                                345
                                                    350
Ser Ser Ser Ile Asp Met Thr Ala Ala Ala Ala Leu Gly Leu Leu Pro
                            360
                                                365
Gly Ser Pro Thr Arg His Phe Ala Pro Pro Pro Val Ser Pro Ser Ala
    370
                        375
                                            380
Gly Ser Asn Gly Gly Ala Ala Ala Ala His Trp Leu Gln Gly Ser Arg
                    390
                                        395
Leu Arg Ser Ser Phe Asn Ala Arg Asp Ala Ala Val Asp Asp Leu Gly
                405
                                    410
Met Leu Leu Glu Trp Glu Ser Gln Tyr Leu Gly Ala Leu Cys Leu Pro
                                425
Pro Ser Ser Arg Pro Gln Pro Arg Leu Ser Ala Gly Leu Ser Ile Arg
                            440
                                                445
Pro Thr Ile Ala Pro Ser Asn Leu Glu Asp Met Tyr Ala Ser Asp Met
    450
                        455
```

```
Ala Met Ser Pro Arg Phe Pro Asn Asp Gln Gly His Ser Val Tyr Ser
                   470
                                       475
Pro Ala His Lys Ser Ala Leu Leu Asn Lys Leu His Gln Gln Lys Gly
               485
                                    490
Leu Leu Ser Pro Val Asn Thr Asn Arg Met Tyr Ser Pro Arg Ala Leu
            500
                                505
                                                   510
Asp Pro Ser Ser Leu Ala His Ser Pro Phe Gly Gly Met Ser Pro Arg
                            520
                                                525
Ser Pro Arg Thr Met Glu Pro Thr Ser Pro Leu Ser Ala Arg Val Gly
                        535
                                            540
Ala Pro Ala Thr Gln Arg Pro Ser Val Gly Ser Pro Arg Asn Ser Ser
                    550
                                        555
Ala Trp Gly Thr Val Gly Ser Pro Met Gly Lys Val Asp Trp Gly Val
                                    570
Asp Ser Glu Glu Leu Val Arg Leu Arg Arg Pro Ala Gln Pro Gly Phe
                                585
Gly Glu Asp Glu Thr Asp Val Ser Trp Val Gln Ser Leu Val Ser Asn
                            600
                                                605
Ala Glu Leu Asn Gly Lys Arg Gly Glu Val Gln Gly Met Pro Gly Thr
                        615
                                            620
Ser Ala Leu Met Asn Arg Pro Asp Leu Asn Asn Gln Gly Asp Leu Leu
                    630
                                        635
Asp Gln Thr Val Ile Gly Ala Trp Leu Glu Gln Met His Leu Asp Gln
                645
                                    650
                                                        655
Lys
```

<210> 22

<211> 2223

<212> ADN

5

<213> Arabidopsis thaliana

```
ttottcaaaa accccaacca cttottotoo ccaaaaacct ccaaagttto aatotttact
                                                                       60
totototttt totocaagtt atottotttt otaggaagag atatgtgogg tgcaaagago
                                                                      120
aacctttgct catctaaaac cctaacagaa gtcgaattca tgaggcagaa atcagaagac
                                                                      180
ggagetteeg ecaegtgtet ectequatte geegeetgtg atgatettte ateqtttaaq
                                                                      240
agagagatcg aagagaatcc atcggtggag attgatgagt cagggttttg gtattgcaga
                                                                      300
cgggtcgggt ctaagaagat gggttttgaa gaaagaacac cacttatggt tgctgctatg
                                                                      360
tatggaagca tggaagtgtt qaattacata attgccacag qaaqatccqa tqtgaacaqa
                                                                      420
gtttgcagtg acgagaaagt cactgctctt cactgtgcag tttctggctg ttctgtttct
                                                                      480
atogttgaga toatoaagat ottgottgat gottotgott cacctaattg tgttgacgot
                                                                      540
aatgggaaca aaccggttga tttgttggct aaagattctc ggtttgttcc taaccagagt
                                                                      600
agaaaggcgg ttgaggtttt actgaccggg attcatggtt cggttatgga agaagaggag
                                                                      660
gaggaactga agagtgttgt gactaagtat ccagctgatg catcacttcc tgatattaac
                                                                      720
qaaqqtqttt atggaactga tgattttagg atgtttagct ttaaggttaa gccatgttct
                                                                      780
agggettatt cacatgattg gaetgaatgt cettttgtte atectggtga gaatgeaagg
                                                                      840
aggagagate ctaggaagta teettacaet tgtgtgeett gteeegagtt tegtaaaggg
                                                                      900
tettgteeta aaggagatte gtgtgagtae gegeaeggtg ttttegagte ttggetteae
                                                                      960
ccggcgcagt ataggacacg gctttgcaaa gatgagactg gttgtgctag gagagtttgt
                                                                    1020
ttetttgete atagaeggga tgagttaaga ceggttaatg ettetaetgg ttetgeaatg
                                                                    1080
gtttcaccaa ggtcgtctaa tcagtctcct gagatgtctg ttatgtctcc tttgacqctq
                                                                    1140
ggatcatcgc caatgaactc tectatgget aatggtgtte etttgtetee aagaaatggt
                                                                    1200
ggtttatggc agaacagagt taatagcett acaccaccac cgttgcaget taatggtage
                                                                    1260
agattgaagt cgactttgag tgctagagat atggatatgg agatggaact taggtttcgc
                                                                    1320
ggtttggata accggagact tggtgatctc aagccatcca acctcgaaga gactttcgga
                                                                    1380
tcatatgact cagcttctgt gatgcaactt caatcaccaa gcaggcattc tcagatgaac
                                                                    1440
cactatecgt etteacetgt gaggeageet ceteeteatg gattegaate tteageagee
                                                                    1500
atggcagctg cagtgatgaa tgcaagatcc tcagcgtttg cgaaacgcag cttgagtttc
                                                                    1560
aaaccagete cagtagette taatgtetee gattggggat caccaaatgg gaagettgag
                                                                     1620
tggggaatgc aaagagatga gctgaacaag ttgaggagaa gtgcctcctt cggcattcat
                                                                     1680
ggaaacaaca acaacagtgt gtcacgccct gctagagact acagtgacga gccagatgtg
                                                                     1740
tegtgggtga acteaetggt gaaagagaat geaceagaga gagtgaatga gagggttggg
                                                                     1800
aatacggtga atggtgcagc gagtagagac aagtttaagc tgccgtcgtg ggcagagcaa
                                                                     1860
                                                                     1920
atgtatatag accatgagca gcagattgtg gcataagaag cagaaagaaa gatgtgggat
                                                                     1980
ttatattgct tttgtcttct gggcctctct acacagaatc taacaaatct ggcaataatt
                                                                    2040
ctttgatttg tgtttgaccc atagtttggt tactagtata tgttttttta tgttcttttt
ttetttgtca ttetettgte ettegtgaca etatgtaatg attaaaagca aataattgat
                                                                     2100
gcatgagttc aaatgttctt tgaaggatcc atcttattag ctttgtaatt gttgtgatat
                                                                    2160
cttaatctta ttggttacgt atttcaagtg ctttagaaaa aatgggccta agagattttg
                                                                    2220
ggg
                                                                    2223
```

<210> 23

<211> 597

<212> PRT

5

<213> Arabidopsis thaliana

Met Cys Gly Ala Lys Ser Asn Leu Cys Ser Ser Lys Thr Leu Thr Glu Val Glu Phe Met Arg Gln Lys Ser Glu Asp Gly Ala Ser Ala Thr Cys Leu Leu Glu Phe Ala Ala Cys Asp Asp Leu Ser Ser Phe Lys Arg Glu Ile Glu Glu Asn Pro Ser Val Glu Ile Asp Glu Ser Gly Phe Trp Tyr Cys Arg Arg Val Gly Ser Lys Lys Met Gly Phe Glu Glu Arg Thr Pro Leu Met Val Ala Ala Met Tyr Gly Ser Met Glu Val Leu Asn Tyr Ile Ile Ala Thr Gly Arg Ser Asp Val Asn Arg Val Cys Ser Asp Glu Lys Val Thr Ala Leu His Cys Ala Val Ser Gly Cys Ser Val Ser Ile Val Glu Ile Ile Lys Ile Leu Leu Asp Ala Ser Ala Ser Pro Asn Cys Val Asp Ala Asn Gly Asn Lys Pro Val Asp Leu Leu Ala Lys Asp Ser Arg Phe Val Pro Asn Gln Ser Arg Lys Ala Val Glu Val Leu Leu Thr Gly Ile His Gly Ser Val Met Glu Glu Glu Glu Glu Glu Leu Lys Ser Val Val Thr Lys Tyr Pro Ala Asp Ala Ser Leu Pro Asp Ile Asn Glu Gly Val Tyr Gly Thr Asp Asp Phe Arg Met Phe Ser Phe Lys Val Lys Pro Cys Ser Arg Ala Tyr Ser His Asp Trp Thr Glu Cys Pro Phe Val His Pro Gly Glu Asn Ala Arg Arg Arg Asp Pro Arg Lys Tyr Pro Tyr Thr Cys Val Pro Cys Pro Glu Phe Arg Lys Gly Ser Cys Pro Lys Gly Asp Ser Cys Glu Tyr Ala His Gly Val Phe Glu Ser Trp Leu His Pro Ala Gln Tyr Arg Thr Arg Leu Cys Lys Asp Glu Thr Gly Cys Ala Arg Arg Val Cys Phe Phe Ala His Arg Arg Asp Glu Leu Arg Pro Val Asn Ala

```
Ser Thr Gly Ser Ala Met Val Ser Pro Arg Ser Ser Asn Gln Ser Pro
                                    330
                325
Glu Met Ser Val Met Ser Pro Leu Thr Leu Gly Ser Ser Pro Met Asn
                                345
Ser Pro Met Ala Asn Gly Val Pro Leu Ser Pro Arg Asn Gly Gly Leu
                            360
Trp Gln Asn Arg Val Asn Ser Leu Thr Pro Pro Pro Leu Gln Leu Asn
                        375
                                            380
Gly Ser Arg Leu Lys Ser Thr Leu Ser Ala Arg Asp Met Asp Met Glu
                   390
                                       395
Met Glu Leu Arg Phe Arg Gly Leu Asp Asn Arg Arg Leu Gly Asp Leu
                405
                                   410
Lys Pro Ser Asn Leu Glu Glu Thr Phe Gly Ser Tyr Asp Ser Ala Ser
            420
                                425
                                                    430
Val Met Gln Leu Gln Ser Pro Ser Arg His Ser Gln Met Asn His Tyr
                            440
Pro Ser Ser Pro Val Arg Gln Pro Pro Pro His Gly Phe Glu Ser Ser
                        455
Ala Ala Met Ala Ala Ala Val Met Asn Ala Arg Ser Ser Ala Phe Ala
                    470
                                        475
Lys Arg Ser Leu Ser Phe Lys Pro Ala Pro Val Ala Ser Asn Val Ser
                                   490
Asp Trp Gly Ser Pro Asn Gly Lys Leu Glu Trp Gly Met Gln Arg Asp
                               505
Glu Leu Asn Lys Leu Arg Arg Ser Ala Ser Phe Gly Ile His Gly Asn
                            520
Asn Asn Asn Ser Val Ser Arg Pro Ala Arg Asp Tyr Ser Asp Glu Pro
                        535
                                           540
Asp Val Ser Trp Val Asn Ser Leu Val Lys Glu Asn Ala Pro Glu Arg
                    550
                                        555
Val Asn Glu Arg Val Gly Asn Thr Val Asn Gly Ala Ala Ser Arg Asp
                565
                                   570
Lys Phe Lys Leu Pro Ser Trp Ala Glu Gln Met Tyr Ile Asp His Glu
           580
                                585
Gln Gln Ile Val Ala
        595
```

<210> 24

<211> 1761

<212> ADN

5

<213> Arabidopsis thaliana

```
atggaaaaag atagtattat gtgcagtgga ccaaagagca atctctgctc ttcaagaacc
                                                                      60
ttaacagaaa tegaateaag geaaaaggaa gaagaaacaa tgetteteet egaatteget
                                                                     120
                                                                     180
gcttgtgatg atcttgactc gttcaagaga gaggttgaag agaaagggct tgatttggat
gagtcagggt tatggtattg cagacgtgtc ggttctaaga agatgggtct tgaagaaaga
                                                                     240
acacctttaa tggttgcagc tatgtatgga agcataaagg ttttgacttt catcgtttcc
                                                                     300
actggaaaat ctgatgtgaa cagagcttgt ggtgaagaga gagttactcc gcttcactgt
                                                                     360
getgttgctg getgttetgt gaatatgatt gaagteatea atgtettget tgatgettet
                                                                     420
gctttggtta actctgttga tgctaatggg aatcaacctt tggatgtgtt tgttcgagtt
                                                                     480
togaggtttg tggctagtcc gaggaggaaa gcggttqagt tgttgctgag aggaggaggt
                                                                     540
gttggaggat tgatcgatga ggcggttgaa gaagagatca agattgtctc taagtatcca
                                                                     600
gctgatgctt ctttaccgga tataaacgaa ggggtttatg gaagtgatga gtttaggatg
                                                                     660
tatagettta aggttaagee atgttetagg gettattete atgattggae egagtgtget
                                                                     720
tttgttcatc cgggagaaaa tgcgaggagg agagatccga ggaagtatcc ttacacttgt
                                                                     780
gtcccctgtc ccgagttccg taaaggatca tgcccgaaag gagattcttg cgagtatgct
                                                                     840
cacggggttt tcgagtcgtg gcttcacccc gcgcagtata aaacccggct ttgtaaagat
                                                                     900
gaaacgggtt gtgcaaggaa agtttgtttc tttgctcata aacgcgaaga gatgagacct
                                                                     960
gttaatgett caactggete tgeegtgget cagteteegt ttageagett ggagatgatg
                                                                    1020
ccagggttgt ctcctcttgc ttattcttca ggagtttcga ctcctccggt ttctccaatg
                                                                    1080
gctaatggtg ttccttcctc tccaagaaac ggcggatcat ggcagaacag agtcaatacc
                                                                    1140
cttactccac cggctttgca gctcaatggt ggaagcagat tgaagtccac actgagcgct
                                                                    1200
agagatatog atatggagat ggagatggaa ttgagactoc goggttttgg caacaatgtg
                                                                    1260
gaagagacgt tegggtetta tgttteetet ceaagtagga atteteaaat gggteaaaac
                                                                    1320
atgaaccaac attatccatc ttccccggtg agacaaccgc catctcaaca cgggttcgaa
                                                                    1380
tetteageag etgeageggt tgeagtgatg aaagegagat caacegeett tgegaaaegt
                                                                    1440
agcttgagct tcaaaccagc tactcaagca gcaccacagt cgaatctctc ggattgggga
                                                                    1500
totocaaacg ggaagotgga atggggaatg aaaggagaag agotgaataa gatgagaaga
                                                                    1560
agtgtttcct ttggaatcca tggaaacaac aacaataacg cagctagaga ctacagggac
                                                                    1620
gagocagatg tgtcatgggt taactottta gttaaagaca gtactgtggt gtctgagaga
                                                                    1680
agctttggaa tgaatgagag ggttcggata atgtcgtggg ctgagcaaat gtacagagag
                                                                    1740
                                                                    1761
aaggagcaga ctgtggtgta a
```

<210> 25 <211> 586

<212> PRT

5

<213> Arabidopsis thaliana

Met Glu Lys Asp Ser Ile Met Cys Ser Gly Pro Lys Ser Asn Leu Cys Ser Ser Arg Thr Leu Thr Glu Ile Glu Ser Arg Gln Lys Glu Glu Glu Thr Met Leu Leu Glu Phe Ala Ala Cys Asp Asp Leu Asp Ser Phe Lys Arg Glu Val Glu Glu Lys Gly Leu Asp Leu Asp Glu Ser Gly Leu Trp Tyr Cys Arg Arg Val Gly Ser Lys Lys Met Gly Leu Glu Glu Arg Thr Pro Leu Met Val Ala Ala Met Tyr Gly Ser Ile Lys Val Leu Thr Phe Ile Val Ser Thr Gly Lys Ser Asp Val Asn Arg Ala Cys Gly Glu Glu Arg Val Thr Pro Leu His Cys Ala Val Ala Gly Cys Ser Val Asn Met Ile Glu Val Ile Asn Val Leu Leu Asp Ala Ser Ala Leu Val Asn Ser Val Asp Ala Asn Gly Asn Gln Pro Leu Asp Val Phe Val Arg Val Ser Arg Phe Val Ala Ser Pro Arg Arg Lys Ala Val Glu Leu Leu Arg Gly Gly Val Gly Gly Leu Ile Asp Glu Ala Val Glu Glu Ile Lys Ile Val Ser Lys Tyr Pro Ala Asp Ala Ser Leu Pro Asp Ile Asn Glu Gly Val Tyr Gly Ser Asp Glu Phe Arg Met Tyr Ser Phe Lys Val Lys Pro Cys Ser Arg Ala Tyr Ser His Asp Trp Thr Glu Cys Ala Phe Val His Pro Gly Glu Asn Ala Arg Arg Arg Asp Pro Arg Lys Tyr Pro Tyr Thr Cys Val Pro Cys Pro Glu Phe Arg Lys Gly Ser Cys Pro Lys Gly Asp Ser Cys Glu Tyr Ala His Gly Val Phe Glu Ser Trp Leu His Pro Ala Gln Tyr Lys Thr Arg Leu Cys Lys Asp Glu Thr Gly Cys

```
Ala Arg Lys Val Cys Phe Phe Ala His Lys Arg Glu Glu Met Arg Pro
                    310
                                        315
Val Asn Ala Ser Thr Gly Ser Ala Val Ala Gln Ser Pro Phe Ser Ser
                325
                                    330
Leu Glu Met Met Pro Gly Leu Ser Pro Leu Ala Tyr Ser Ser Gly Val
                                345
Ser Thr Pro Pro Val Ser Pro Met Ala Asn Gly Val Pro Ser Ser Pro
                            360
Arg Asn Gly Gly Ser Trp Gln Asn Arg Val Asn Thr Leu Thr Pro Pro
                        375
                                           380
Ala Leu Gln Leu Asn Gly Gly Ser Arg Leu Lys Ser Thr Leu Ser Ala
                   390
                                       395
Arg Asp Ile Asp Met Glu Met Glu Leu Arg Leu Arg Gly Phe
               405
                                   410
Gly Asn Asn Val Glu Glu Thr Phe Gly Ser Tyr Val Ser Ser Pro Ser
           420
                               425
Arg Asn Ser Gln Met Gly Gln Asn Met Asn Gln His Tyr Pro Ser Ser
                           440
                                               445
Pro Val Arg Gln Pro Pro Ser Gln His Gly Phe Glu Ser Ser Ala Ala
                       455
Ala Ala Val Ala Val Met Lys Ala Arg Ser Thr Ala Phe Ala Lys Arg
                   470
                                       475
Ser Leu Ser Phe Lys Pro Ala Thr Gln Ala Ala Pro Gln Ser Asn Leu
               485
                                   490
Ser Asp Trp Gly Ser Pro Asn Gly Lys Leu Glu Trp Gly Met Lys Gly
          500
                               505
Glu Glu Leu Asn Lys Met Arg Arg Ser Val Ser Phe Gly Ile His Gly
                           520
Asn Asn Asn Asn Ala Ala Arg Asp Tyr Arg Asp Glu Pro Asp Val
                       535
Ser Trp Val Asn Ser Leu Val Lys Asp Ser Thr Val Val Ser Glu Arg
                   550
                                       555
Ser Phe Gly Met Asn Glu Arg Val Arg Ile Met Ser Trp Ala Glu Gln
                                   570
               565
Met Tyr Arg Glu Lys Glu Gln Thr Val Val
```

<210> 26

<211> 2709

<212> ADN

5

<213> Eucalyptus grandis

```
cttctgaaag ctttttgact taagacgaga gagaaggaga gaaggtcccc ctcctcqtcc
                                                                       60
tegtecece gtggattttg aagaagaaaa gtegeaeett cetteteett teceaeteet
                                                                     120
coctetgete gaagetttte tetteegeag aattacataa aaacetegae tttgegeate
                                                                     180
attecgatte accteacace tteactttee caetegaggt etececeete tttteetage
                                                                     240
tettteeett teecteete tetetegaga ategeegeat ttggaggage teeaatetge
                                                                     300
tttgctttgc tttgctctct tcttgctcgg ttccccctca taaggagtcg attatgtqca
                                                                     360
acggttcttc gaagggtaaa cttttcccct cgagtatggg catggagggc gaattccaca
                                                                     420
acaaggatgg cgaagcaccc cgtaaatgct ctgccttgct tgaattggca gcctcggacg
                                                                     480
atototogto gitcaaaagi gaagiggaag agaagggoig cgacgiigat gaggocagoi
                                                                     540
tittggtatgg taggagaatc gggtcgaaga agatgggttt tgaagagagg actccattga
                                                                     600
tgatctctgc tttgtttgga agcaccaagg tcttgaaata cataatcgag accgccaqaq
                                                                     660
ctgatgtcaa caggtcttgt gggtccgaca aggtggccgc cctccattgc gcagccgcgg
                                                                     720
gtgggtccag ttcttcactt gaaattgtga agctcttgat tgaggcctca gcggatatta
                                                                     780
attotgtaga tggcaatgga aataggcoca togacgtgot tgccccggca gggaagtoto
                                                                     840
gctgcaattc cagaaataag tttgttagat cgttgctgaa aggtgaaaac tatgtcgtgg
                                                                     900
aaggtgacca atcctttgac atagaaggag aggagaagct agtcgctctt ccaaaggagg
                                                                     960
gaggcgagaa gaaagagtat cctgttgatg tctctctacc tgacataaac aatgggttct
                                                                    1020
acagtaccga tgagttccgg atgtatgctt tcaaggtgaa gccttgctcg agggcttact
                                                                    1080
cccacgactg gaccgagtgc ccgtttgtgc accctgggga gaacgcgagg aggagggacc
                                                                    1140
cacqcaaqta cccttacaqc tqtqtccctt qtcctqaqtt tcqcaaqqqt tcqtqcqtaa
                                                                    1200
ggggggatgc ttgtgagtat gctcatggag tctttgagtc gtggcttcac ccagcgcaat
                                                                    1260
accgaacccg gctgtgcaag gatgaaactg gttgtactcg caaagtttgc ttctttgctc
                                                                    1320
acaagteega agaattgegt coegtgtatg ettecacagg ttetgetatg coeteaceca
                                                                    1380
                                                                    1440
agtectttte agetaatgee etagacatga caaccetgag cecettatee ettaatteae
                                                                    1500
catchetgee thisectget acticeaege ecceeatgic accititget geoteatett
cacccaaggg catgaacttg tggcataaca aaattaacct gaccccacca agcctgcagc
                                                                    1560
                                                                    1620
ttcctggcag ccggctgaag acggctatga gtgcgcggga cttcgatttt gagttggaat
ttcttgggct ggaaaagcaa gcttctcagc ggcaqcaact gatagaagag atttctcgtc
                                                                    1680
totcatogoc ototcatatg tggaactogg aatttggcag aaccgcagag otgaagcoca
                                                                    1740
                                                                    1800
ctaacettga tgatgegttt ggatetettg acaettetet tttgteteeg ttgeaggggt
                                                                    1860
cgtcgatgaa aacatcgact cctacccagt tgcaatcccc cacagggctt aaaatttcga
atttgaacca actccgtgcg agctacccgt ctagcagctt gtcgtcctct cctgtgagga
                                                                    1920
agacetette ttttgggtte gaeteateea gtgeagttge tgeageagte atgaacteae
                                                                    1980
ggtctgctgc tatgacgaag cggagccaga gcttcattga ccgtggagca gtgggtcaac
                                                                    2040
ggtctggact cattggacct gctaattctg ctcctaggat gtccaacctt tcggactggg
                                                                    2100
gctcgcctga tgggaagttg gattggggtg ttcaagggga cgagctcaac aagcttagga
                                                                    2160
agtocgette etteggettt agaaacaaca gtatggegaa eecaaacaae gtggegtete
                                                                    2220
ccagtgctga tgagccggac gtgtcgtggg ttggttcatt ggtgaaggat gtggctccgc
                                                                    2280
ccgaagggta tccacagtat ctgtacatag aacaggagca gatggtggca taactaaagc
                                                                    2340
gaagagcacc acacgaactc tctcctgatg gcttaagatg acttgtttga cattctttat
                                                                    2400
                                                                    2460
attettacaa acagegegtt ettaggagtt agetggagga aagaaggaaa eggtattgag
tttgagattc aggctcttag ctggacagcg aaaatttggg gaaggaagag aatttggttt
                                                                    2520
cttgcccaac ttagataatg atgcttttga aggcttaaaa gaaagatgaa ggcaaacatt
                                                                    2580
cttttgttag tattgtatta ttgttttaat ttttcatccc ctctgtcggg gtgtggtggg
                                                                    2640
tgtcgatgtt tctttcatca gtaaaatata taatgaggtt tactcatcta ttttctacta
                                                                    2700
                                                                    2709
aaaaaaaa
```

```
<210> 27
<211> 659
<212> PRT
```

<213> Eucalyptus grandis

Met Cys Asn Gly Ser Ser Lys Gly Lys Leu Phe Pro Ser Ser Met Gly Met Glu Gly Glu Phe His Asn Lys Asp Gly Glu Ala Pro Arg Lys Cys Ser Ala Leu Leu Glu Leu Ala Ala Ser Asp Asp Leu Ser Ser Phe Lys Ser Glu Val Glu Glu Lys Gly Cys Asp Val Asp Glu Ala Ser Phe Trp Tyr Gly Arg Arg Ile Gly Ser Lys Lys Met Gly Phe Glu Glu Arg Thr Pro Leu Met Ile Ser Ala Leu Phe Gly Ser Thr Lys Val Leu Lys Tyr Ile Ile Glu Thr Ala Arg Ala Asp Val Asn Arg Ser Cys Gly Ser Asp Lys Val Ala Ala Leu His Cys Ala Ala Ala Gly Gly Ser Ser Ser Ser Leu Glu Ile Val Lys Leu Leu Ile Glu Ala Ser Ala Asp Ile Asn Ser Val Asp Gly Asn Gly Asn Arg Pro Ile Asp Val Leu Ala Pro Ala Gly Lys Ser Arg Cys Asn Ser Arg Asn Lys Phe Val Arg Ser Leu Leu Lys

```
Gly Glu Asn Tyr Val Val Glu Gly Asp Gln Ser Phe Asp Ile Glu Gly
                              185
Glu Glu Lys Leu Val Ala Leu Pro Lys Glu Gly Gly Lys Lys Glu
                            200
Tyr Pro Val Asp Val Ser Leu Pro Asp Ile Asn Asn Gly Phe Tyr Ser
                        215
Thr Asp Glu Phe Arg Met Tyr Ala Phe Lys Val Lys Pro Cys Ser Arg
                    230
                                        235
Ala Tyr Ser His Asp Trp Thr Glu Cys Pro Phe Val His Pro Gly Glu
                                    250
Asn Ala Arg Arg Asp Pro Arg Lys Tyr Pro Tyr Ser Cys Val Pro
                                265
Cys Pro Glu Phe Arg Lys Gly Ser Cys Val Arg Gly Asp Ala Cys Glu
                            280
Tyr Ala His Gly Val Phe Glu Ser Trp Leu His Pro Ala Gln Tyr Arg
                        295
Thr Arg Leu Cys Lys Asp Glu Thr Gly Cys Thr Arg Lys Val Cys Phe
                    310
                                        315
Phe Ala His Lys Ser Glu Glu Leu Arg Pro Val Tyr Ala Ser Thr Gly
                                    330
Ser Ala Met Pro Ser Pro Lys Ser Phe Ser Ala Asn Ala Leu Asp Met
                                345
Thr Thr Leu Ser Pro Leu Ser Leu Asn Ser Pro Ser Leu Pro Leu Pro
                            360
Ala Thr Ser Thr Pro Pro Met Ser Pro Leu Ala Ala Ser Ser Ser Pro
                        375
Lys Gly Met Asn Leu Trp His Asn Lys Ile Asn Leu Thr Pro Pro Ser
                    390
                                        395
Leu Gln Leu Pro Gly Ser Arg Leu Lys Thr Ala Met Ser Ala Arg Asp
                405
                                    410
Phe Asp Phe Glu Leu Glu Phe Leu Gly Leu Glu Lys Gln Ala Ser Gln
            420
                                425
Arg Gln Gln Leu Ile Glu Glu Ile Ser Arg Leu Ser Ser Pro Ser His
                            440
                                                445
Met Trp Asn Ser Glu Phe Gly Arg Thr Ala Glu Leu Lys Pro Thr Asn
                        455
                                            460
Leu Asp Asp Ala Phe Gly Ser Leu Asp Thr Ser Leu Leu Ser Pro Leu
                   470
                                        475
Gln Gly Ser Ser Met Lys Thr Ser Thr Pro Thr Gln Leu Gln Ser Pro
                485
                                   490
Thr Gly Leu Lys Ile Ser Asn Leu Asn Gln Leu Arg Ala Ser Tyr Pro
            500
                                505
Ser Ser Ser Leu Ser Ser Ser Pro Val Arg Lys Thr Ser Ser Phe Gly
                                                525
        515
                            520
Phe Asp Ser Ser Ala Val Ala Ala Val Met Asn Ser Arg Ser
                        535
                                            540
Ala Ala Met Thr Lys Arg Ser Gln Ser Phe Ile Asp Arg Gly Ala Val
                                        555
                   550
Gly Gln Arg Ser Gly Leu Ile Gly Pro Ala Asn Ser Ala Pro Arg Met
                565
                                    570
Ser Asn Leu Ser Asp Trp Gly Ser Pro Asp Gly Lys Leu Asp Trp Gly
            580
                                585
Val Gln Gly Asp Glu Leu Asn Lys Leu Arg Lys Ser Ala Ser Phe Gly
                            600
                                                605
Phe Arg Asn Asn Ser Met Ala Asn Pro Asn Asn Val Ala Ser Pro Ser
                                            620
                        615
Ala Asp Glu Pro Asp Val Ser Trp Val Gly Ser Leu Val Lys Asp Val
                                        635
                    630
Ala Pro Pro Glu Gly Tyr Pro Gln Tyr Leu Tyr Ile Glu Gln Glu Gln
```

645 650 655

Met Val Ala

<210> 28 <211> 2518 <212> ADN

<213> Eucalyptus grandis

<400> 28

5

```
totoottoga gtttotttot toactagaat togotocoga gtotgttgtt gotogtgtag
                                                                       60
ttttgcttac tccgtccttc gtttagctcg ctgaccagcg cggagctagg agcggtcgct
                                                                       120
aaaggattac togtacaaaa ogtaaactoa gototgocaa ttttoocatg qaqqqqqaat
                                                                       180
cttacttcga gaaagatgaa aaatattcta attgctcaat cttgctcgaa ttatctgctt
                                                                      240
eggaegatet eccagetttt gaaaggaaag egaaagagaa gggetgtaac attgatggtg
                                                                      300
ctagcttctg gtacggtaga agaattggct caaggaagat gggtcttgaa gagaggactc
                                                                      360
ctctcatggt ggcttccttg tttggaaget ctagggttgt gaagtacatt ctcgaatctg
                                                                       420
gcaaagtcga tgtaaatagg gcttgtggtt cggacaaggt cactgccctt cactgtgctg
                                                                      480
tigecaging eteigetiet geggingagg tiglicaaget etigetieae geateingeeg
                                                                      540
atgctaattg cattgatggc aatggaaaga agccaattga tgtgatagcc cttccattaa
                                                                       600
agtcacgcgg cgattcaagg aggaagctga tggagctgtt gctgaaaggc gataattctg
                                                                       660
atggggaatt tgaatcccac gaggagaagc cqattgccqc accqcaaqca tccaaaqaqq
                                                                      720
gaagcgaaaa gaaaqagtat caattteetg ttgatatete tetgeetgae ataaatgttg
                                                                      780
                                                                      840
ggatttacag tactgatgag ttcagaatgt atgctttcaa agtaaagcct tgctcgcggg
catactccca tgactggaca gagtgcccat ttgttcatcc tggcgagaat gcgaggaggc
                                                                      900
gggaccoteg caaqtacccc tacagetgeq teeettgeec tgaatttegg aagggatett
                                                                      960
gccaaaaggg tgactcctgt gagtacgcgc acggcgtatt tgagtcgtgg cttcatcctg
                                                                     1020
cacagtatag aacaagactg tgcaaggatg agactggatg tgctcgcaaa gtttgtttct
                                                                     1080
ttgctcacaa gcccgaagaa ttaaggcctg tctatgcttc gacgggatca qctatgcctt
                                                                     1140
occcaaaatc ctactcatca agtgggctgg acatgtccac attgagtcct ctctcaatca
                                                                     1200
gttctccgtc agcatcgttg cctgttactt caacagcacc catgtctcct cttgcagcct
                                                                     1260
cgtcatctcc gatgtctgtg aacatgtggc agagcaaggc taacaagctc tccccgccaa
                                                                     1320
tgctgcagct ctcaggtagt aggctgaaga ctgctttgag tgctagggac ttggacctgg
                                                                     1380
agatggaatt gcgtggtcta gagagtcaga tggccactca acagcatcag ttgatggaag
                                                                     1440
agatateteg teteteetea ceateateet getttagtag taggattggg gaagtgaaae
                                                                     1500
ccactaacct cgatgacgtt tttgggtctc cggatcctgc tttgctgcct caattgcagg
                                                                     1560
ggotgtcaag accttcaaca ccaagccagt tgcaatctcc aactgggctt cagatgcgcc
                                                                     1620
agaatgcaac ccagtttcgt ggggcgtacc agagcaatgc aaatgcattg tcatctccag
                                                                     1680
caatgaagca ggcaccttct tatgggtttg actcatctag tgcagttgca gcagcggtga
                                                                     1740
tgaattcgag gtcagccgct tttgcgaagc ggagtcagag ttttatcgac aggggaatgg
                                                                     1800
cgtgccctgg aattgccaat tcttccccta tgatgtcttc agctatgtcg agctggagct
                                                                     1860
cacctcatgg gaaattggat tggggcgtcc aaggagatga gttgaatagg ctgaggaaag
                                                                     1920
ctgcttcctt taagatgaga agcagcaccg gagcaggtgc taatactgtc tcggcagcag
                                                                     1980
ccatggctga tgagccagat atttcttggg tcagttcatt ggttaaggac gtgccttctg
                                                                     2040
cggaggacgc gatgttcgct gcagagaaag gacagcgcac ttatgggaaa gacatccgcg
                                                                     2100
aaaggattac cccatgggtg gagcagctgt acagagaagt gccacggatg gcgatgtaag
                                                                     2160
attgccactg caagtcggat gccttagtat gctgactaat tgatattctt tgcatttgtt
                                                                     2220
ttgaggcatt tggtagccat tagatacgag aaaaggccaa gcagcaggtg gtgtcttggc
                                                                     2280
aaggaatagg atgcacatag tctgttatcg agtagaatag acttgggaac aatggttata
                                                                     2340
gccaaatgtt aaaagttatg atattetttt ccaattettt etetteetea tagtaggttt
                                                                     2400
ctcaccaagt cttttagtga gagcctgcgg gatgtactat atgtttccct tatgtaacgt
                                                                     2460
ctcttcgttg aaagaaatgg ctttataata taaagcatca agttttttaa aaaaaaaa
                                                                     2518
```

10

<210> 29 <211> 663 <212> PRT <213> Fucalyptus grandi

15 <213> Eucalyptus grandis

```
Met Glu Gly Glu Ser Tyr Phe Glu Lys Asp Glu Lys Tyr Ser Asn Cys
                                     10
Ser Ile Leu Leu Glu Leu Ser Ala Ser Asp Asp Leu Pro Ala Phe Glu
                                 25
Arg Lys Ala Lys Glu Lys Gly Cys Asn Ile Asp Gly Ala Ser Phe Trp
                             40
Tyr Gly Arg Arg Ile Gly Ser Arg Lys Met Gly Leu Glu Glu Arg Thr
                         55
Pro Leu Met Val Ala Ser Leu Phe Gly Ser Ser Arg Val Val Lys Tyr
                                         75
                     70
Ile Leu Glu Ser Gly Lys Val Asp Val Asn Arg Ala Cys Gly Ser Asp
                                     90
                85
Lys Val Thr Ala Leu His Cys Ala Val Ala Ser Gly Ser Ala Ser Ala
                                 105
            100
Val Glu Val Val Lys Leu Leu Leu His Ala Ser Ala Asp Ala Asn Cys
                                                 125
        115
                            120
Ile Asp Gly Asn Gly Lys Lys Pro Ile Asp Val Ile Ala Leu Pro Leu
                         135
                                             140
Lys Ser Arg Gly Asp Ser Arg Arg Lys Leu Met Glu Leu Leu Lys
                    150
                                         155
Gly Asp Asn Ser Asp Gly Glu Phe Glu Ser His Glu Glu Lys Pro Ile
                165
                                     170
                                                         175
Ala Ala Pro Gln Ala Ser Lys Glu Gly Ser Glu Lys Lys Glu Tyr Gln
                                 185
Phe Pro Val Asp Ile Ser Leu Pro Asp Ile Asn Val Gly Ile Tyr Ser
                            200
                                                 205
Thr Asp Glu Phe Arg Met Tyr Ala Phe Lys Val Lys Pro Cys Ser Arg
                        215
                                             220
Ala Tyr Ser His Asp Trp Thr Glu Cys Pro Phe Val His Pro Gly Glu
                    230
                                         235
Asn Ala Arg Arg Asp Pro Arg Lys Tyr Pro Tyr Ser Cys Val Pro
                                     250
Cys Pro Glu Phe Arg Lys Gly Ser Cys Gln Lys Gly Asp Ser Cys Glu
                                 265
Tyr Ala His Gly Val Phe Glu Ser Trp Leu His Pro Ala Gln Tyr Arq
        275
                            280
Thr Arg Leu Cys Lys Asp Glu Thr Gly Cys Ala Arg Lys Val Cys Phe
                        295
Phe Ala His Lys Pro Glu Glu Leu Arg Pro Val Tyr Ala Ser Thr Gly
                    310
                                         315
                                                             320
Ser Ala Met Pro Ser Pro Lys Ser Tyr Ser Ser Ser Gly Leu Asp Met
                325
                                     330
Ser Thr Leu Ser Pro Leu Ser Ile Ser Ser Pro Ser Ala Ser Leu Pro
            340
                                345
Val Thr Ser Thr Ala Pro Met Ser Pro Leu Ala Ala Ser Ser Ser Pro
        355
                            360
                                                 365
Met Ser Val Asn Met Trp Gln Ser Lys Ala Asn Lys Leu Ser Pro Pro
    370
                        375
                                             380
Met Leu Gln Leu Ser Gly Ser Arg Leu Lys Thr Ala Leu Ser Ala Arg
                    390
                                        395
                                                             400
Asp Leu Asp Leu Glu Met Glu Leu Arg Gly Leu Glu Ser Gln Met Ala
                405
                                    410
Thr Gln Gln His Gln Leu Met Glu Glu Ile Ser Arg Leu Ser Ser Pro
            420
                                425
                                                     430
Ser Ser Cys Phe Ser Ser Arg Ile Gly Glu Val Lys Pro Thr Asn Leu
        435
                            440
Asp Asp Val Phe Gly Ser Pro Asp Pro Ala Leu Leu Pro Gln Leu Gln
    450
                        455
Gly Leu Ser Arg Pro Ser Thr Pro Ser Gln Leu Gln Ser Pro Thr Gly
```

```
465
                    470
                                       475
Leu Gln Met Arg Gln Asn Ala Thr Gln Phe Arg Gly Ala Tyr Gln Ser
               485
                                   490
Asn Ala Asn Ala Leu Ser Ser Pro Ala Met Lys Gln Ala Pro Ser Tyr
           500
                               505
Gly Phe Asp Ser Ser Ser Ala Val Ala Ala Val Met Asn Ser Arg
                           520
Ser Ala Ala Phe Ala Lys Arg Ser Gln Ser Phe Ile Asp Arg Gly Met
                       535
Ala Cys Pro Gly Ile Ala Asn Ser Ser Pro Met Met Ser Ser Ala Met
                   550
                                       555
Ser Ser Trp Ser Ser Pro His Gly Lys Leu Asp Trp Gly Val Gln Gly
                                   570
Asp Glu Leu Asn Arg Leu Arg Lys Ala Ala Ser Phe Lys Met Arg Ser
                               585
Ser Thr Gly Ala Gly Ala Asn Thr Val Ser Ala Ala Ala Met Ala Asp
                           600
                                              605
Glu Pro Asp Ile Ser Trp Val Ser Ser Leu Val Lys Asp Val Pro Ser
                       615
                                          620
Ala Glu Asp Ala Met Phe Ala Ala Glu Lys Gly Gln Arg Thr Tyr Gly
                   630
                                      635
Lys Asp Ile Arg Glu Arg Ile Thr Pro Trp Val Glu Gln Leu Tyr Arg
               645
                                  650
Glu Val Pro Arg Met Ala Met
           660
```

<210> 30

<211> 2001

<212> ADN

<213> Triticum aestivum

<220>

10

<221> misc_feature

<222> (481)..(530)

<223> n is a, c, g o t

```
cgaattccgg tcgacgattt ctcgatttcc ttctctataa cacaacqctc tcttctcttg
                                                                        60
   caaccaaagt actigiteca gigictacte tacteaaaaa ggattiggga cateatgige
                                                                       120
   agtgattcga aaagtaaact ttcttcccca accetcgtcg tcatggagaa tagtaacatt
                                                                       180
  cagaagcaga atctggatgg tctctacaac tcggttttgc ttgaattgtc tgcatctgat
                                                                       240
   gattatgaag ctttcaaaag agaggtggag gaaaaaggct tagatgtgaa cgaggcaggc
                                                                       300
   ttttggtacg gtagaagaat tgggtcaaag aagatgggat ctgaaacgag gacccctctg
                                                                       360
   atgattgctt ctttgtttgg aagcgccaag gtgctcaatt atattcttct tcaqaaagga
                                                                       420
   ggaggtgttg atgtgaacag ggtctgtggt tctgataggg ccactgctct ccattgtgct
                                                                       480
   540
   cgatttcgta ggagattcac agagagaaaa gaagcaatta gtgataataa gaaagaatac
                                                                       600
  cctgttgata tatcactgcc agacataaac aacggtgtat atggaacaga tgattttagg
                                                                       660
  atgtacaact tcaaggtgaa gccttgctca agggcttact cccatgactg gaccgagtgt
                                                                       720
  ccattcqttc acccagggga gaacgctagg aggagagacc cacggaaata cccttacagc
                                                                       780
  tgtgttcctt gccctgagtt ccgcaaaggg acctgccaga agggtgattc ctgtgagtat
                                                                       840
  gctcatggtg tttttgagtc ctggctgcat cctgcccaat accggacaag gctttgcaag
                                                                       900
  gatgagactg getgegetag aaaagtetge ttetttgeec acaaacetga agagetaege
                                                                       960
  cctgtgtatg cttccactgg gtcggctatg ccatcaccaa aatcatattc agctagtgga
                                                                      1020
  cttgacatga cagcgatgag tccattggct ctaagttcca catctttgcc taatgccccc
                                                                      1080
  cogtttccag cotcaccota togtgogoco togttcttct ctcagagtga agotgtgcag
                                                                      1140
  aacaaaataa accttactcc accategttg cageteeetg gtageegaet gaaggetget
                                                                      1200
  ttgagtgcca gggatctgga gatggagatg gaactgctcg gtctagaaag ccctgctcgc
                                                                      1260
  caacaacago agcagcagca acaattgato gaagagattg ccaggatoto ttocccatot
                                                                      1320
  ttccggagca aggaattcaa taggattgtt gatttgaatc ctactaacct tgatgacctg
                                                                      1380
                                                                      1440
  ttagcatctg ctgaccettc tgtattttct caactacatg gactttctgt gcaaccttca
                                                                      1500
  acacccacac aaagtgggct tcagatgcgc caaaacatga accacctccg tgcgagttat
  ccatccaaca tecetteete teetqtqaqq aaqeeeteaq ettttqqqtt tqactcatca
                                                                      1560
  gctgctgtgg caactgcagt gatgaattct aggtctgctg ccttcgcaaa gcgaagccaa
                                                                      1620
                                                                      1680
  agtttcattg atogtggage tgcaacccac catcttggge tgtcttcage ttccaactet
                                                                      1740
  tottgcaggg tatcctctac cotttcagat tggagttccc ctaccgggaa actggattgg
                                                                      1800
  ggtgtaaacg gagacaagct gaacaagctg aggaaatcta cttcctttgg attcagaaac
  agtggggtaa etgeateece catageacag eetgaatttg gtgetgagee ggatgtetea
                                                                      1860
  tgggttcatt cattggttaa agatgttccc tccgagaggt ctgagatatt tggtgctgag
                                                                      1920
                                                                      1980
  aagcaacaat atgatotoag taaagagatg ottocaccat ggatggagca gotgtatata
                                                                      2001
  gagcaggagc agatggtagc a
<210> 31
<211>667
<212> PRT
<213> Triticum aestivum
<220>
<221> UNSURE
<222> (161)..(177)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural
```

5

10

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

```
280
        275
                                               285
Leu His Pro Ala Gln Tyr Arg Thr Arg Leu Cys Lys Asp Glu Thr Gly
            295
                                    300
Cys Ala Arg Lys Val Cys Phe Phe Ala His Lys Pro Glu Glu Leu Arg
                   310
                                      315
Pro Val Tyr Ala Ser Thr Gly Ser Ala Met Pro Ser Pro Lys Ser Tyr
                                   330
Ser Ala Ser Gly Leu Asp Met Thr Ala Met Ser Pro Leu Ala Leu Ser
                              345
Ser Thr Ser Leu Pro Asn Ala Pro Pro Phe Pro Ala Ser Pro Tyr Arg
                           360
Ala Pro Ser Phe Phe Ser Gln Ser Glu Ala Val Gln Asn Lys Ile Asn
                       375
                                           380
Leu Thr Pro Pro Ser Leu Gln Leu Pro Gly Ser Arg Leu Lys Ala Ala
                   390
                                       395
Leu Ser Ala Arg Asp Leu Glu Met Glu Met Glu Leu Leu Gly Leu Glu
               405
                                   410
Ser Pro Ala Arg Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Leu Ile Glu Glu
           420
                              425
                                                 430
Ile Ala Arg Ile Ser Ser Pro Ser Phe Arg Ser Lys Glu Phe Asn Arg
       435
                          440
                                              445
Ile Val Asp Leu Asn Pro Thr Asn Leu Asp Asp Leu Leu Ala Ser Ala
                      455
Asp Pro Ser Val Phe Ser Gln Leu His Gly Leu Ser Val Gln Pro Ser
                   470
                                      475
Thr Pro Thr Gln Ser Gly Leu Gln Met Arg Gln Asn Met Asn His Leu
               485
                                  490
Arg Ala Ser Tyr Pro Ser Asn Ile Pro Ser Ser Pro Val Arg Lys Pro
           500
                               505
Ser Ala Phe Gly Phe Asp Ser Ser Ala Ala Val Ala Thr Ala Val Met
                           520
                                              525
Asn Ser Arg Ser Ala Ala Phe Ala Lys Arg Ser Gln Ser Phe Ile Asp
                       535
                                          540
Arg Gly Ala Ala Thr His His Leu Gly Leu Ser Ser Ala Ser Asn Ser
                   550
                                       555
Ser Cys Arg Val Ser Ser Thr Leu Ser Asp Trp Ser Ser Pro Thr Gly
               565
                                  570
Lys Leu Asp Trp Gly Val Asn Gly Asp Lys Leu Asn Lys Leu Arg Lys
                              585
Ser Thr Ser Phe Gly Phe Arg Asn Ser Gly Val Thr Ala Ser Pro Ile
                           600
Ala Gln Pro Glu Phe Gly Ala Glu Pro Asp Val Ser Trp Val His Ser
                   615
                                          620
Leu Val Lys Asp Val Pro Ser Glu Arg Ser Glu Ile Phe Gly Ala Glu
                  630
                        635
Lys Gln Gln Tyr Asp Leu Ser Lys Glu Met Leu Pro Pro Trp Met Glu
               645
                                 650
Gln Leu Tyr Ile Glu Gln Glu Gln Met Val Ala
           660
```

<210> 32

<211> 2683

<212> ADN

<213> Eucalyptus grandis

```
gcaaaggtcg atcacttcct ccctagaaag cgagtgtgga gttgaagctt gataaccaga
                                                                       60
ggccgcctct cgtctcgtct cgcccgcctg cgcttgctct gctctccgcg tgccaaggga
                                                                      120
                                                                      180
gtgttcctag gtgctgaatc tttccatgtg tagcggttca aaagggaagg gagagtgaat
                                                                      240
togagaagca gaggatgtog gooogtoagt totogatoot gotogagtta totgotgogg
                                                                      300
atgatotgac gaactttaag aaagcagttg aggaagacgg ctacgatatt gatgagtcga
                                                                      360
gcttgtggta tggtaggagg atcgggtcga agaagattgg gcttgaagag agaactcccc
tcatgattqc cqcqatqttc ggcagtatqt ccgtgctgga ttatattatc aagtctggcc
                                                                      420
gggccaatqt aaacaaggcg tgtggttcag atggtgctac cgcqcttcac tgtgctgcgg
                                                                      480
                                                                      540
ctgqtqqctc qqtacaatct cctgaggtqq tcaaqctgtt qcttqattct tcagcgaatq
ctaactccat tgatgcgaat gggaaacgag cgggagactt gatttctgag gtctctggtt
                                                                      600
egecetteaa ttegagaagg aagaetttgg atgteatgtt gaetggaggt gggaetgttg
                                                                      660
                                                                      720
agtttgttga ggaaacttac aatctgcctg agaatctggg tagtcaaatt gaaggaaacg
                                                                      780
aacaaagaga gagtocaacg gcccgcgctt ccaaggatgg ttctgaaaag aaagagtatc
ctgtcgacct ttctcttccg gacatcaaca atggaatata tagcacagat gagtttagga
                                                                      840
tgtattcttt caaagtgaag cettgetega gagettacte teatgactgg actgagtgte
                                                                      900
catttgttca ccctggggag aatgcaagac ggcgtgaccc acggaaatat cactacagct
                                                                      960
gtgtqccttq ccctqaqttc cgcaaggggt catgcaggca aqqqqatqqc tqcgagtatg
                                                                     1020
                                                                     1080
ctcatqqtat atttgaqtqc tgqcttcacc caqctcaata tcqcacccqt ctctqtaagq
atgagattgg atgcaccaga aaagtctgtt tctttgccca caaacatgaa gagcttcgtc
                                                                     1140
cattgtatgc atcaactggt teggegette ettetecaag atcatttteg eccqttgetg
                                                                     1200
cttctctaga catgggatca ctgagccctc tctctctcgg ttcttcttca gtccggatac
                                                                     1260
ogocaactto aacaccacct atgactocat caggggooto ttotococtt ggtgggtoga
                                                                     1320
tgtggaaaag ccaaattaat agcactccgc ctggcttgca gcttccaggt agcaggttga
                                                                     1380
                                                                     1440
gaagcgcatt gagtgctaga gacatggatt tagatgttga cttgatcgat ctagaaaata
attatogttt gcagaagcag ttgctcgaac actttcctga tctgtcctct cctcgtggtt
                                                                     1500
ggaacaactc ttcatccacc acgtcggctt tccctgagta ttcaggtgac atgactggag
                                                                     1560
aaataagtag gttaggagta aaaccaaata atctcgagga tagtttcagg tcattggacc
                                                                     1620
                                                                     1680
tgaccctctt gtctcagtta caagggctgt cacttgatgg tgcaatatcc cagctgcaat
ctcctactgg aatgaagatt cggcagaaca tgacccagca gctctactca aactatactg
                                                                     1740
acaagettte etegteacet agggeaatge cateatttgg aacegateet tecagagett
                                                                     1800
cagcagcage cactetgagt tecaggteat tggcatttge aaaaaggage cacagettea
                                                                     1860
ttgagcggag tacagtgaac agtcagtctg gatattcagc aggtgctgct tctccaactg
                                                                     1920
caaggatgtc ttcccagaat gactggggct cgcccgatgg caaactagac tggggcattc
                                                                     1980
aaggggagga gctgaacaag ctgaggaaat ctgcatcatt cgggctcagg agcagcagca
                                                                     2040
                                                                     2100
accycttcca tycytctyca gattctycya caycaactyt agygyaccca gacatyccct
ggattcagtc cttggcaaag gaagccccgt cacaaaaccc tggcaatttt ggagcagagc
                                                                     2160
atcagcagca gcagcagcag cagcagcagc agcagtatca tottaattot ggaggtactg
                                                                     2220
agotgottoc agottgggtg gagoagttgt acgoggatoa ggagoagatg gtogootgag
                                                                     2280
atcaacattg gcttcttatc taaccactat tagtcatttc gttattgctt taattttttt
                                                                     2340
tcttctgagt ctagtattaa tgtctaggat tcgaacgaac tggaaaatta aatctagagg
                                                                     2400
gaagatggga agaaaagagc aggatggaag gtttctgctc ggtccgagat ttctcatagt
                                                                     2460
ctattataga ctatcgtatt tctcgttctt ttccqtccca atgttcttga tttggttctc
                                                                     2520
agcatgtttt ctggatgagg cttacaaact atgtaatctt gtcttgctaa aagaatcaga
                                                                     2580
gctgcacctg caccaaaggt tgtgatacta ccgcttattg atgatgatga taataataat
                                                                     2640
                                                                    2683
aattoggaca tttagtacca agtoogatgt otcaaaaaaa aaa
```

<210> 33 <211> 694 <212> PRT

<213> Eucalyptus grandis

Met 1	Ser	Ala	Arg	Gln 5	Phe	Ser	Ile	Leu	Leu 10	Glu	Leu	Ser	Ala	Ala 15	Asp
Asp	Leu	Thr	Asn 20	Phe	Lys	Lys	Ala	Val 25	Glu	Glu	Asp	Gly	Tyr 30	Asp	Ile
Asp	Glu	Ser 35	Ser	Leu	Trp	Tyr	Gly 40	Arg	Arg	Ile	Gly	Ser 45	Lys	Lys	Ile
Gly	Leu 50	Glu	Glu	Arg	Thr	Pro 55	Leu	Met	Ile	Ala	Ala 60	Met	Phe	Gly	Ser
Met 65	Ser	Val	Leu	Asp	Tyr 70	Ile	Ile	Lys	Ser	Gly 75	Arg	Ala	Asn	۷al	Asn 80

```
Lys Ala Cys Gly Ser Asp Gly Ala Thr Ala Leu His Cys Ala Ala Ala
                85
Gly Gly Ser Val Gln Ser Pro Glu Val Val Lys Leu Leu Asp Ser
            100
                                105
Ser Ala Asn Ala Asn Ser Ile Asp Ala Asn Gly Lys Arg Ala Gly Asp
                            120
Leu Ile Ser Glu Val Ser Gly Ser Pro Phe Asn Ser Arg Arg Lys Thr
                                            140
                        135
Leu Asp Val Met Leu Thr Gly Gly Gly Thr Val Glu Phe Val Glu Glu
                    150
                                        155
Thr Tyr Asn Leu Pro Glu Asn Leu Gly Ser Gln Ile Glu Gly Asn Glu
                165
                                    170
Gln Arg Glu Ser Pro Thr Ala Arg Ala Ser Lys Asp Gly Ser Glu Lys
            180
                                185
                                                    190
Lys Glu Tyr Pro Val Asp Leu Ser Leu Pro Asp Ile Asn Asn Gly Ile
        195
                           200
Tyr Ser Thr Asp Glu Phe Arg Met Tyr Ser Phe Lys Val Lys Pro Cys
                        215
                                            220
Ser Arg Ala Tyr Ser His Asp Trp Thr Glu Cys Pro Phe Val His Pro
                    230
                                        235
Gly Glu Asn Ala Arg Arg Arg Asp Pro Arg Lys Tyr His Tyr Ser Cys
                245
                                    250
Val Pro Cys Pro Glu Phe Arg Lys Gly Ser Cys Arg Gln Gly Asp Gly
            260
                                265
Cys Glu Tyr Ala His Gly Ile Phe Glu Cys Trp Leu His Pro Ala Gln
                            280
                                                285
Tyr Arg Thr Arg Leu Cys Lys Asp Glu Ile Gly Cys Thr Arg Lys Val
                       295
                                            300
Cys Phe Phe Ala His Lys His Glu Glu Leu Arg Pro Leu Tyr Ala Ser
                    310
                                        315
Thr Gly Ser Ala Leu Pro Ser Pro Arg Ser Phe Ser Pro Val Ala Ala
                325
                                    330
Ser Leu Asp Met Gly Ser Leu Ser Pro Leu Ser Leu Gly Ser Ser Ser
                                345
Val Arg Ile Pro Pro Thr Ser Thr Pro Pro Met Thr Pro Ser Gly Ala
                            360
Ser Ser Pro Leu Gly Gly Ser Met Trp Lys Ser Gln Ile Asn Ser Thr
                        375
Pro Pro Gly Leu Gln Leu Pro Gly Ser Arg Leu Arg Ser Ala Leu Ser
                   390
                                        395
Ala Arg Asp Met Asp Leu Asp Val Asp Leu Ile Asp Leu Glu Asn Asn
                405
                                    410
Tyr Arg Leu Gln Lys Gln Leu Leu Glu His Phe Pro Asp Leu Ser Ser
            420
                                425
Pro Arg Gly Trp Asn Asn Ser Ser Ser Thr Thr Ser Ala Phe Pro Glu
        435
                           440
Tyr Ser Gly Asp Met Thr Gly Glu Ile Ser Arg Leu Gly Val Lys Pro
                       455
Asn Asn Leu Glu Asp Ser Phe Arg Ser Leu Asp Leu Thr Leu Leu Ser
                   470
                                        475
Gln Leu Gln Gly Leu Ser Leu Asp Gly Ala Ile Ser Gln Leu Gln Ser
                485
                                   490
Pro Thr Gly Met Lys Ile Arg Gln Asn Met Thr Gln Gln Leu Tyr Ser
                                505
Asn Tyr Thr Asp Lys Leu Ser Ser Ser Pro Arg Ala Met Pro Ser Phe
                            520
Gly Thr Asp Pro Ser Arg Ala Ser Ala Ala Ala Thr Leu Ser Ser Arg
                        535
Ser Leu Ala Phe Ala Lys Arg Ser His Ser Phe Ile Glu Arg Ser Thr
```

545					550					555					560
Val	Asn	Ser	Gln	Ser 565	Gly	Tyr	Ser	Ala	Gly 570	Ala	Ala	Ser	Pro	Thr 575	Ala
Arg	Met	Ser	Ser 580	Gln	Asn	Asp	Trp	Gly 585	Ser	Pro	Asp	Gly	Lys 590	Leu	Asp
Trp	Gly	Ile 595	Gln	Gly	Glu	Glu	Leu 600	Asn	Lys	Leu	Arg	Lys 605	Ser	Ala	Ser
Phe	Gly 610	Leu	Arg	Ser	Ser	Ser 615	Asn	Arg	Phe	His	Ala 620	Ser	Ala	Asp	Ser
Ala 625	Thr	Ala	Thr	Val	Gly 630	Asp	Pro	Asp	Met	Pro 635	Trp	Ile	Gln	Ser	Leu 640
Ala	Lys	Glu	Ala	Pro 645	Ser	Gln	Asn	Pro	Gly 650	Asn	Phe	Gly	Ala	Glu 655	His
Gln	Gln	Gln	Gln 660	Gln	Gln	Gln	Gln	Gln 665	Gln	Gln	Tyr	His	Leu 670	Asn	Ser
Gly	Gly	Thr 675	Glu	Leu	Leu	Pro	Ala 680	Trp	Val	Glu	Gln	Leu 685	Tyr	Ala	Asp
Gln	Glu 690	Gln	Met	Val	Ala										

<210> 34

<211> 2499 <212> ADN

5

<213> Arabidopsis thaliana

```
attttgacct taagaagaaa gtgacaagga gaggaagaag aagaaaaaa acataatttg
                                                                      60
aggaagaaga aaaaaaattc ggatttgttt tttcaataaa ttgactaatt gagtactcgt
                                                                      120
ttaaaggaag tgaagagcgg ttttttggta gtggtggtcg agaaaagaga gagtttgtct
                                                                      180
ctgtgactca gagtgaaatc aatagagcgg gaaaagattg ttgctttttt ttgccatggg
                                                                      240
agttgatgag ctgtctcacc tcaaattctc tcttctgcta gaatcatcag cctgcaatga
                                                                      300
tttgtccggt tttaagtctc tagttgaaga agaaggtctt gagagcattg atggctctgg
                                                                      360
tttgtggtat gggaggagat taggatcaaa gaagatgggt tttgaggaga ggacgcctct
                                                                      420
tatgattgct gccttgtttg gaagcaaaga ggttgttgat tacatcatta gtactggtct
                                                                      480
tgttgacgtg aaccgetett gtggetetga tggtgeeaeg getetteaet gtgeggtete
                                                                      540
tggcttgtct gccaatagcc ttgagattgt tactcttctg ctgaagggct ctgcgaatcc
                                                                      600
                                                                      660
ggattcttgt gatgcttatg gtaacaagcc tggagatgtg attttccctt gtttgagtcc
ggtttttagc gcgaggatga aggttttgga gcgtttgttg aaaggaaatg atgatttgaa
                                                                      720
tgaagttaat gggcaagaag aaagcgagcc agaggttgag gttgaggttg aggtttcgcc
                                                                      780
teeteggggg tetgagagga aggagtatee ggttgateea aegetteetg atateaagaa
                                                                      840
cggtgtatat gggacggatg agttccggat gtatgctttc aagatcaagc cgtgctctag
                                                                      900
agcatactet cacgactgga eggaatgtee etttgtteat eegggtgaga aegeaaggag
                                                                      960
gcgtgatccg aggaagtacc attatagttg tgtcccttgt cctgaattcc ggaaggggtc
                                                                    1020
ttgttccaga ggtgatactt gcgagtatgc tcatggtatc tttgagtgct ggcttcaccc
                                                                    1080
ggeteagtae eggaetegte tetgeaagga egagaegaat tgetegagaa gagtttgttt
                                                                    1140
ctttgcccac aaacccgagg agctgcgtcc tttgtaccct tcaactggat caggtgttcc
                                                                    1200
gtccccgcgg tcttccttct catcttgcaa ttcctcgacc gctttcgaca tgggaccgat
                                                                    1260
tagtccgctt cctatcggag caacaaccac acctcctttg agtcctaacg gtgtatcctc
                                                                    1320
tocaataggt ggaggaaaaa ogtggatgaa otggootaac ataaccooto otgoattgca
                                                                    1380
gcttccaggg agcagattga aatctgcatt gaatgcaaga gaaatcgatt tctctgaaga
                                                                    1440
gatgcaaagt cttacttctc caactacatg gaacaacacg ccaatgtcat ctccattctc
                                                                    1500
cggaaagggc atgaacaggc ttgcaggagg agcaatgagc ccggtgaata gtctcagtga
                                                                    1560
tatgtttggg acagaggata atacatcggg tttgcagatc cgacgcagcg tcattaaccc
                                                                    1620
gcagctgcat tocaacagto tttottcato acctgtggga gccaattoto tgttttcgat
                                                                    1680
ggattcctcc gcagtcttgg cttcaagagc ggctgaattt gctaaacagc gaagccaaag
                                                                    1740
cttcatagaa cgcaacaacg gactgaatca ccatcccgca atctcttcca tgactacaac
                                                                    1800
ttgtttaaac gattggggct cattggatgg gaagcttgac tggagcgtcc aaggagacga
                                                                    1860
gctacagaag ctcagaaaat ccacttcttt ccgtctcaga gccggtggca tggaatcaag
                                                                    1920
actgoctaac gaagggactg ggotogaaga gocagatgto toatgggtgg agoogotggt
                                                                    1980
gaaagagcca caggagacaa gactagctcc ggtttggatg gagcaatcat acatggagac
                                                                     2040
agaacagacc gtggcttgaa tcaaaagttt tgaactttca ttaaccgttc cacaagaagc
                                                                    2100
aaagtcagaa agattccgag aggtcgatgc taatctattt cattttattt gtttaatgct
                                                                    2160
ttgttatttt tctttagaat aaaaagaaaa aattcttagg ggacaaaaga gagttcgttt
                                                                     2220
gtctctctct ctgtctccaa aqaaaaacag aggtgaaaaa aggtttcaaa acctaagaaa
                                                                     2280
cottgaatta cotcacctca cttccttgat totttactat tcacaatgag taatcgattt
                                                                     2340
                                                                    2400
ttttttttct tggtaacact ctcacgctga atatatatgt tttttagtaa taatataatt
                                                                    2460
ggaatacaga aatgtattta cacttgtgaa gttagggaaa gtgttgtaat tgtttcttct
aagagttgat ctaagatgtt tgagactata tcttcgctt
                                                                    2499
```

<210> 35

<211>607

<212> PRT

<213> Arabidopsis thaliana

Met Gly Val Asp Glu Leu Ser His Leu Lys Phe Ser Leu Leu Glu 10 Ser Ser Ala Cys Asn Asp Leu Ser Gly Phe Lys Ser Leu Val Glu Glu - 20 25 Glu Gly Leu Glu Ser Ile Asp Gly Ser Gly Leu Trp Tyr Gly Arg Arg Leu Gly Ser Lys Lys Met Gly Phe Glu Glu Arg Thr Pro Leu Met Ile Ala Ala Leu Phe Gly Ser Lys Glu Val Val Asp Tyr Ile Ile Ser Thr 70 Gly Leu Val Asp Val Asn Arg Ser Cys Gly Ser Asp Gly Ala Thr Ala Leu His Cys Ala Val Ser Gly Leu Ser Ala Asn Ser Leu Glu Ile Val 105 Thr Leu Leu Leu Lys Gly Ser Ala Asn Pro Asp Ser Cys Asp Ala Tyr 120 Gly Asn Lys Pro Gly Asp Val Ile Phe Pro Cys Leu Ser Pro Val Phe 135 Ser Ala Arg Met Lys Val Leu Glu Arg Leu Leu Lys Gly Asn Asp Asp 150 155 Leu Asn Glu Val Asn Gly Gln Glu Glu Ser Glu Pro Glu Val Glu Val 165 170 Glu Val Glu Val Ser Pro Pro Arg Gly Ser Glu Arg Lys Glu Tyr Pro 185 180 Val Asp Pro Thr Leu Pro Asp Ile Lys Asn Gly Val Tyr Gly Thr Asp 200 Glu Phe Arg Met Tyr Ala Phe Lys Ile Lys Pro Cys Ser Arg Ala Tyr 215 220 Ser His Asp Trp Thr Glu Cys Pro Phe Val His Pro Gly Glu Asn Ala 230 235 Arg Arg Arg Asp Pro Arg Lys Tyr His Tyr Ser Cys Val Pro Cys Pro 245 250 Glu Phe Arg Lys Gly Ser Cys Ser Arg Gly Asp Thr Cys Glu Tyr Ala 260 265 His Gly Ile Phe Glu Cys Trp Leu His Pro Ala Gln Tyr Arg Thr Arg 275 280 285 Leu Cys Lys Asp Glu Thr Asn Cys Ser Arg Arg Val Cys Phe Phe Ala 295 300 His Lys Pro Glu Glu Leu Arg Pro Leu Tyr Pro Ser Thr Gly Ser Gly 310 315 Val Pro Ser Pro Arg Ser Ser Phe Ser Ser Cys Asn Ser Ser Thr Ala 325 330 Phe Asp Met Gly Pro Ile Ser Pro Leu Pro Ile Gly Ala Thr Thr

			340					345					350		
Pro	Pro	Leu 355	Ser	Pro	Asn	Gly	Val 360	Ser	Ser	Pro	Ile	Gly 365	Gly	Gly	Lys
Thr	Trp 370	Met	Asn	Trp	Pro	Asn 375	Ile	Thr	Pro	Pro	Ala 380	Leu	Gln	Leu	Pro
Gly 385	Ser	Arg	Leu	Lys	Ser 390	Ala	Leu	Asn	Ala	Arg 395	Glu	Ile	Asp	Phe	Ser 400
Glu	Glu	Met	Gln	Ser 405	Leu	Thr	Ser	Pro	Thr 410	Thr	Trp	Asn	Asn	Thr 415	Pro
			420		Ser	_	-	425			_		430	_	_
		435			Asn		440		_			445			_
Asn	Thr 450	Ser	Gly	Leu	Gln	Ile 455	Arg	Arg	Ser	Val	Ile 460	Asn	Pro	Gln	Leu
His 465	Ser	Asn	\$er	Leu	Ser 470	Ser	Ser	Pro	Val	Gly 475	Ala	Asn	Ser	Leu	Phe 480
Ser	Met	Asp	Ser	Ser 485	Ala	Val	Leu	Ala	Ser 490	Arg	Ala	Ala	Glu	Phe 495	Ala
Lys	Gln	Arg	Ser 500	Gln	Ser	Phe	Ile	Glu 505	Arg	Asn	Asn	Gly	Leu 510	Asn	His
His	Pro	Ala 515	Ile	Ser	Ser	Met	Thr 520	Thr	Thr	Суѕ	Leu	Asn 525	Asp	Trp	Gly
Ser	Leu 530	Asp	Gly	Lys	Leu	Asp 535	Trp	Ser	Val	Gln	Gly 540	Asp	Glu	Leu	Gln
545					Thr 550			_		555			_		560
Ser	Arg	Leu	Pro	Asn 565	Glu	Gly	Thr	Gly	Leu 570	Glu	Glu	Pro	Asp	Val 575	Ser
_			580		Val	_		585				_	590		Pro
Val	Trp	Met 595	Glu	Gln	Ser	Tyr	Met 600	Glu	Thr	Glu	Gln	Thr 605	Val	Ala	

<210> 36

<211> 1806

5

<212> ADN <213> Oryza sativa

atgtgctctg	ggccgcgcaa	gccgtccaca	ccgccgctgc	cgcagcagca	gaaggaggcg	60
		gcttcttgag				120
		gaaggtgtct				180
tcggcgagcg	gcgtggcgag	gctcgggatg	gagcggagga	cggcggcgat	ggtggcggcg	240
ctgtacggga	gcacgggggt	gcttgggtat	gtcgtggcgg	cagcgccggc	ggaggccgcg	300
cgcgcgtcgg	agacggatgg	ggccacgccg	ctgcacatgg	cggctgccgg	tggcgcggcg	360
aacgcggtcg	cggccacgcg	cctgttgctc	gccgcggggg	cgtcggtcga	cgcgctctcg	420
gcttcggggc	tccgcgccgg	tgacctcctc	ccgcgcgcca	ccgcggcgga	gaaggccatc	480
		ggccgtgtcg				540
ccgccgtcgc	caccaccacc	gcaggaggcg	aagaaggagt	acccgcctga	cctgacgctg	600
		gttcagcacc				660
		ctcccatgac				720
		ccctcgccgc				780
ttccgcaagg	gcggctcgtg	ccgcaagggc	gacgcgtgcg	agtacgccca	tggcgtgttc	840
		gcagtacagg				900
gcgcgccgca	tctgcttctt	cgcccacaag	cccgacgagc	tccgcgccgt	caacccctcc	960
gecgtgtecg	teggeatgea	gcccaccgta	tcgtcgccgc	gctcctcgcc	gcccaacggg	1020
ctcgacatgg	cggcggcggc	ggcggcgatg	atgagccccg	cctggccgtc	gtccccagcg	1080
agccgcctca	agacggcgct	cggcgcgcgg	gagctcgact	tcgacctcga	gatgctcgcg	1140
ctagagagagt	200200202	~~***	22001-1-00	~~~~~		1200
		gctgttcgac			• •	1260
		cggcctcgcc				1320
		cgtcgacccg				1320
		gcccgcgtac				1440
		gggcggcgcg				-
		ccgcgcctcg				1500 1560
		ggcggcgcgt				
		gggctcgccg				1620
		caagtcggcg				1680
		ggcggcggag				1740
	acgccgccgg	cgacatattc	gegeagtgge	cggagcagga	gcagatggtg	1800
gcatga						1806

<210> 37 <211> 601 <212> PRT <213> Oryza sativa

Met Cys Ser Gly Pro Arg Lys Pro Ser Thr Pro Pro Leu Pro Gln Gln Gin Lys Glu Ala Thr Val Met Ala Ala Ser Leu Leu Leu Glu Leu Ala Ala Ala Asp Asp Val Ala Ala Val Arg Arg Val Val Glu Glu Lys Val Ser Leu Gly Val Ala Gly Leu Trp Tyr Gly Pro Ser Ala Ser Gly Val Ala Arg Leu Gly Met Glu Arg Arg Thr Ala Ala Met Val Ala Ala Leu Tyr Gly Ser Thr Gly Val Leu Gly Tyr Val Val Ala Ala Pro Ala Glu Ala Ala Arg Ala Ser Glu Thr Asp Gly Ala Thr Pro Leu His Met Ala Ala Ala Gly Gly Ala Ala Asn Ala Val Ala Ala Thr Arg Leu Leu Leu Ala Ala Gly Ala Ser Val Asp Ala Leu Ser Ala Ser Gly Leu Arg Ala Gly Asp Leu Leu Pro Arg Ala Thr Ala Ala Glu Lys Ala Ile Arg Leu Leu Lys Ser Pro Ala Val Ser Pro Ser Ser Ser Pro Lys Lys Ser Ala Ser Pro Pro Ser Pro Pro Pro Gln Glu Ala Lys Lys Glu Tyr Pro Pro Asp Leu Thr Leu Pro Asp Leu Lys Ser Gly Leu Phe Ser Thr Asp Glu Phe Arg Met Tyr Ser Phe Lys Val Lys Pro Cys Ser Arg Ala Tyr Ser His Asp Trp Thr Glu Cys Pro Phe Val His Pro Gly Glu Asn Ala Arg Arg Arg Pro Arg Arg Tyr Ser Tyr Ser Cys Val Pro Cys Pro Glu Phe Arg Lys Gly Gly Ser Cys Arg Lys Gly Asp Ala Cys Glu Tyr Ala His Gly Val Phe Glu Cys Trp Leu His Pro Ala Gln Tyr Arg Thr Arg Leu Cys Lys Asp Glu Val Gly Cys Ala Arg Arg Ile Cys Phe Phe Ala His Lys Pro Asp Glu Leu Arg Ala Val Asn Pro Ser

```
Ala Val Ser Val Gly Met Gln Pro Thr Val Ser Ser Pro Arg Ser Ser
               325
                      330
Pro Pro Asn Gly Leu Asp Met Ala Ala Ala Ala Ala Ala Met Met Ser
                              345
           340
Pro Ala Trp Pro Ser Ser Pro Ala Ser Arg Leu Lys Thr Ala Leu Gly
                          360
       355
Ala Arg Glu Leu Asp Phe Asp Leu Glu Met Leu Ala Leu Asp Gln Tyr
           375
                                         380
Gln Gln Lys Leu Phe Asp Lys Val Ser Gly Ala Pro Ser Pro Arg Ala
                  390
                                      395
Ser Trp Gly Ala Ala Ala Asn Gly Leu Ala Thr Ala Ser Pro Ala Arg
               405
                              410
Ala Val Pro Asp Tyr Thr Asp Leu Leu Gly Ser Val Asp Pro Ala Met
           420
                              425
Leu Ser Gln Leu His Ala Leu Ser Leu Lys Gln Ala Gly Asp Met Pro
                          440
Ala Tyr Ser Ser Met Ala Asp Thr Thr Gln Met His Met Pro Thr Ser
                      455
Pro Met Val Gly Gly Ala Asn Thr Ala Phe Gly Leu Asp His Ser Met
                   470
                                      475
Ala Lys Ala Ile Met Ser Ser Arg Ala Ser Ala Phe Ala Lys Arg Ser
               485
                                  490
                                                     495
Gln Ser Phe Ile Asp Arg Gly Gly Arg Ala Pro Ala Ala Arg Ser Leu
           500
                              505
Met Ser Pro Ala Thr Thr Gly Ala Pro Ser Ile Leu Ser Asp Trp Gly
                          520
Ser Pro Asp Gly Lys Leu Asp Trp Gly Val Gln Gly Asp Glu Leu His
                      535
                                         540
Lys Leu Arg Lys Ser Ala Ser Phe Ala Phe Arg Gly Gln Ser Ala Met
                  550
                                     555
Pro Val Ala Thr His Ala Ala Ala Glu Pro Asp Val Ser Trp Val
              565
                                  570
Asn Ser Leu Val Lys Asp Gly His Ala Ala Gly Asp Ile Phe Ala Gln
                           585
          580
Trp Pro Glu Gln Glu Gln Met Val Ala
       595
```

<210> 38

<211> 1692

<212> ADN

<213> Hordeum vulgare

cggcacgagg	cacatccatc	atctaacctc	acctctcctc	tcctccctc	tcctcctacc	60
aaacccaaaa	ccaagcagag	caagagcaag	agcaagagca	agagcaagca	agcatgtgcc	120
ctggcctgcg	caacctcgcc	gccgccatgc	caccctccgc	ccacgaccac	ccctcctcct	180
acctgctcga	gctcgccgcc	gacgacgacc	tccccgcctt	ccgccgcgcc	gtccaggagg	240
acaacctctc	cctcgacgcc	gcatccccga	ggtacgagcc	atcccccaaa	tcagaccaac	300
aacaacaaca	cgccccagct	cgcgctccac	ctgcgcaccc	ccgccatggt	cgccgcgctc	360
tacggcagca	ccaccgtcct	ctcctacgtc	ctctccatcg	cccctccga	ggccgcccgc	420
gcctccgcat	ccgacggcgc	caccccgctc	ctcctcgccc	accagggccg	cgcgccatcc	480
gcgccccacg	ccgcacgcct	cctcctcacc	gacggcgcat	catcgtcctc	cctactcgcg	540
	acceteteaa					600
	actccaggag					660
cagacggagg	acatcaacgc	gggcgtcttc	gccaccgacg	acttccggat	gtacagcttc	720
aaggtgaacc	cgtgctcccg	cgcctacacg	cacgactgga	ccgagtgccc	cttcgcccac	780
cccggcgaga	acgcgcgccg	ccgcgacccg	cgccgcgtgc	catactcgtg	cgtcccatgc	840
ccggacttcc	gccgcgaccc	ggccgcatgc	cgcaagggcg	acgcctgcga	gtacgcgcac	900
ggcgtcttcg	agtcatggct	ccaccccgcg	cagtaccgca	ccaggctctg	caaggacgag	960
atcaastaca	cacacacat	ctacttatta	acacacaaca	cccancact	acacaccata	1020
	cgcgccgcat					1020
<u>-</u>	ccgcatccat					1140
	ccgcgctcac					1200
	agtacgcgcg					1260
	tegtegeege			-		1320
	agcaacagca		_			1320
	agcagcatca					1440
	ccgccttcac					1500
	ggtcgttcaa					1560
	agctggactg					
	gcagcagcag					1620
	tgaaggacgg	cagogatatg	augauggagg	cgcggtggtc	ggacctggag	1680
cagatggtcg	CC					1692

<210> 39

<211> 564

<212> PRT

5

<213> Hordeum vulgare

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

```
305
                                         315
                    310
Val Gly Cys Pro Arg Arg Ile Cys Phe Phe Ala His Gly Ala Arg Gln
                325
                                    330
Leu Arg Ala Val Asn Pro Ser Ala Ala Ser Met Asp Ser Pro Ser Pro
                                 345
Thr Ser Ser Ser Pro Pro Arg Thr Ser Arg Pro Ala Ala Leu Thr Ala
                            360
Ser Leu Ser Ser Arg Asp Leu Asp Leu Asp Ala Asp Asn Gln Ala Gln
                        375
Tyr Ala Arg Arg Met Met Met Ala Arg Ala Asn Ser Pro Pro Asp Tyr
                    390
                                         395
Ser Pro Asp Leu Val Ala Ala Tyr Val Gln Ala Leu Ser Ser Leu Gln
                                    410
                405
Gln Gln His Gln Gln Asn Gln Gln Gln His Gln Gln Gln Asn
            420
                                425
                                                     430
Gln His Gln Gln His Gln Gln Asn Gln His Gln Gln His Gln Gln
                            440
                                                 445
Gln His Gln Gln Ser Met Gly Met Gly Gly Leu Ser Ala Arg Ala Ala
                        455
                                             460
Ala Phe Thr Asn Arg Ser Gln Thr Phe Val His Arg Ser Pro Ser Pro
                    470
                                        475
Ala Pro Ala Arg Ser Phe Lys Ser Pro Ala Pro Ser Ser Met Leu Ala
                485
                                    490
Asp Trp Gly Ser Pro Asp Gly Lys Leu Asp Trp Gly Val Gln Ala Ala
            500
                                505
                                                    510
Glu Leu Arg Lys Ser Thr Ser Phe Gly Val Arg Ser Ser Ser Arg Pro
        515
                            520
                                                 525
His His Glu Thr Thr Arg Ala Glu Asp Asn Met Tyr Pro Ser Trp Met
                        535
                                            540
Lys Asp Gly Ser Asp Met Leu Leu Ala Ala Arg Trp Ser Asp Leu Glu
545
                    550
                                        555
Gln Met Val Ala
```

<210> 40

<211> 3610

<212> ADN

<213> Pinus radiata

<400> 40

```
tgtttccagg cgggcactaa agcaagggag ggggtagget ttactttctg ctctgcgcaa
agaacqttga aatcaatcgc cotggctggt ctggcgtgac tactagattc aatttcttca
                                                                      120
tggccgtctt cacataccca ttctttaccg gttcagagct gtgatcttta tttttaacag
                                                                      180
ccacaatcat ggtttgtgtt tccagtgtta tgatctgagt gaagttcgtt ctttttctcg
                                                                      240
tgacccagge ttgatactag geeggaeett tetgaggtgg aagagateta tacatttgag
                                                                      300
qcctattttg tqtaqccatq tqtqqaqqcc caqaacattt qaaqcctqcc aqcccacacq
aaqqaqaaqa taaagtcaaa atggccqaga atcagtctat caaagtgaag gaattgtctg
                                                                      420
aatottgtto aagtotacat gaactagotg ctaataatga cottattggo tttaagaaag
                                                                      480
caatggagga agaagggtca aagatagatg aggttaactt ttggtacggg aggcagaatg
                                                                      540
gttctaatca gatggtcctg gagcaaagga ctccattgat ggttgctgca ctttatggca
                                                                      600
gtgtagatgc gctgagttac atcttatcca tttatgtaac ttgtggagca gatgttaacc
                                                                      660
aageetgtgg gteagataae teeactgeet tgeattgtge ggetgtggga gggtetgeet
                                                                      720
gtgcagttga aactgtaaaa ttgttacttc atgcaggcag tgatgtgaat cgcttggatg
                                                                      780
cttatggcag aagaccagca gatgtgatta tggtttctcc taagctaacc gaaatcaagg
                                                                      840
ccaagctaga agaaatgtta aacgcagctg gttcatgtca aacttctccg gcaaagttgc
                                                                      900
ctaacatagt ttcagggcca cctgggtttg agtcaaaggg gatggagtcc atgtccccat
                                                                      960
tgccattgtt gcctctttca ttgtctttag aagcatccaa taatagatca ggttgtgta
                                                                     1020
attotocaac atottogoca aagtocatgg aagcattaaa gggtttoggt gatgttaatg
                                                                     1080
agaagaagga atatcctgtg gacccttctt ttccagacat aaagaatagc atctatacta
                                                                     1140
```

```
cagatgaatt toggatgttt toottoaagg tgoggocatg ttoacgggoa tattotoatg
                                                                    1200
attggactga atgcccattt gtgcatcctg gtgaaaatgc cagaaggcgg gatccaagaa
                                                                    1260
ggtatcatta tagetgtgtt cettgeecag atttteggaa agggaettgt aggegeagtg
                                                                    1320
atgtttgtga atatgcacac ggtgtttttg agtgctggtt acatcctgct caatatagga
                                                                    1380
cacggttgtg caaagatggg actaattgtt cacgtagagt ttgcttcttt gctcacacat
                                                                    1440
ctgaggaact acgccctctc attgtctcta ctgggtctgc tgttccatcc ccaagggcat
                                                                    1500
catcatetet ggacatgaca tetgteatga gteetettge ceetggttet ecetetteag
                                                                    1560
tttcaatgat gtcacccttc ctatcaaatc ctcagcaagg cagtgtgctt actccgccta
                                                                    1620
tgtctccatc agcgtcctct gtaaatggat atggaggctg gccacagcct aatgtaccaa
                                                                    1680
cettacacet teetggtage aatgtteaaa eeageegtet tagageggaa ettaatgeea
                                                                    1740
gagacatgcc tgttgaggat tctcctcgaa tttcagacta tgaagggcag caactcctga
                                                                    1800
atgatttttc tccactgtcc acacaagcca ggctgaatgc tgctgctgct gttatatctg
                                                                    1860
gtggcgggaa caccacaaca aggtctggaa aatacaagag tcacgggatc aatactgttg
                                                                    1920
ctccaacgaa tottgaagac ttgtttgcct ccgaggtaac atotcctaga gtagcagttc
                                                                    1980
ttgaaccttc catcttttct cagatgagtc cccaaatgca agctcataag actgcccagg
                                                                    2040
catatatgca gattcaaaac cagatgctgc ctcctataaa tacacaggca ttttcgcagg
                                                                    2100
gaattacaca gatgcagcag gctgcaatag agcctcagag ccctggacat tctttgatgc
                                                                    2160
aatcacettt ccaatettee tegtatgggt tgggateece tggtagaatg teacetegtt
                                                                    2220
gtgtggatgt ggaacgtcat aatacatgtg ggtctccctt atcaccggct atggctgcaa
                                                                    2280
cgataaattc aagaatggct atggctgctt ttgttcaqaq qqaaaaacqq aqccataqtt
                                                                    2340
cccgtgactt gggagctaat gtgaatccca gttcatggtc tgattggggc tcgcctacag
                                                                    2400
gtaaagttga ctggggggtt caaggagaag agttgagcaa attaagaaag tcggcttcat
                                                                    2460
ttggtccccg cagttatgaa gaaccggatt tgtcttgggt tcaaacactg gtaaaggaaa
                                                                    2520
ctacaccaga gggtaaagat ggaggaaatg taagctgttc tggggaaact ccacacaagg
                                                                    2580
ggcaaataga aaatgttgat cattcagttt tgggtgcctg gattgaacag atgcagcttg
                                                                    2640
atcagattgt agcttgagat taggattatt tatttggagt ggtggtaggg ataggctcat
                                                                   2700
ttaaaattca atttctcatt ttttactatt tcttttataa aaattcccca ttatagttta
                                                                   2760
ggaaatagto tggttttota octattatoa gaattacaco tgcaggaaat tttggaggaa
                                                                   2820
agcatgcaaa aagtagatag ggatgttatt cctatcagca ggttgacaag ctgaaaatca
                                                                   2880
cttgggtggt agaccagaga atgacactat tttttgttga catggcaact gaagatgctg
                                                                   2940
ttttctttac ttatcattaa caaccctata tatatttgtt ttgaaagaac tgagcggaga
                                                                   3000
aatgttgtca gttggttact ctgcgcaagg ccttggaaga aatccaagat gtggcatctt
                                                                   3060
ggtgcatttt taatttatca agtgtgaaat ccataacagg tttcagtgag tgacttctga
                                                                   3120
ggttgtatat ggaaaaacct atgatgttgg ctgtctactg ctatttttct gtgcctaaac
                                                                   3180
tgtcaactaa agtttgcagg tggcaatttt gtggcagcat atttgcacat tgaagcggat
                                                                   3240
ggtctgcacc tgctatagaa gttttcgagt ctgtagaatt tgatggtgca agatgatttt
                                                                   3300
ctagttgata tatttggaag gctttgccaa agtagtggca tgtacatttt gcaaaaattt
                                                                   3360
aaaggatggc aatccattgt tttgccatgt agcttcactt tattgattag gtggaaagga
                                                                   3420
attitigagac acticaatti gigcatacti tigitcigaa cigcaaaatc agictciigt
                                                                   3480
gatgtcctca aggctattat gctcagggat ttgcctaaaa ccataagtgg ccttagataa
                                                                   3540
3600
aaaaaaaaa
                                                                   3610
```

<210> 41 <211> 779 5 <212> PRT <213> Pinus radiata

<400> 41

```
        Met
        Cys
        Gly
        Fro
        Glu
        His
        Leu
        Lys
        Pro
        Ala
        Ser
        Pro
        His
        Glu
        Gly
        It
        Gly
        Gly
        Gly
        It
        It</t
```

```
Leu Glu Gln Arg Thr Pro Leu Met Val Ala Ala Leu Tyr Gly Ser Val
                85
                                    90
Asp Ala Leu Ser Tyr Ile Leu Ser Ile Tyr Val Thr Cys Gly Ala Asp
            100
                                105
Val Asn Gln Ala Cys Gly Ser Asp Asn Ser Thr Ala Leu His Cys Ala
        115
                            120
                                                125
Ala Val Gly Gly Ser Ala Cys Ala Val Glu Thr Val Lys Leu Leu Leu
                        135
His Ala Gly Ser Asp Val Asm Arg Leu Asp Ala Tyr Gly Arg Arg Pro
                   150
                                        155
Ala Asp Val Ile Met Val Ser Pro Lys Leu Thr Glu Ile Lys Ala Lys
                165
                                    170
Leu Glu Glu Met Leu Asn Ala Ala Gly Ser Cys Gln Thr Ser Pro Ala
            180
                                185
Lys Leu Pro Asn Ile Val Ser Gly Pro Pro Gly Phe Glu Ser Lys Gly
                            200
                                                205
Met Glu Ser Met Ser Pro Leu Pro Leu Leu Pro Leu Ser Leu Ser Leu
                        215
                                            220
Glu Ala Ser Asn Asn Arg Ser Gly Cys Val Asn Ser Pro Thr Ser Ser
                    230
                                        235
Pro Lys Ser Met Glu Ala Leu Lys Gly Phe Gly Asp Val Asn Glu Lys
                245
                                    250
Lys Glu Tyr Pro Val Asp Pro Ser Phe Pro Asp Ile Lys Asn Ser Ile
           260
                                265
Tyr Thr Thr Asp Glu Phe Arg Met Phe Ser Phe Lys Val Arg Pro Cys
        275
                           280
Ser Arg Ala Tyr Ser His Asp Trp Thr Glu Cys Pro Phe Val His Pro
                       295
Gly Glu Asn Ala Arg Arg Arg Asp Pro Arg Arg Tyr His Tyr Ser Cys
                   310
                                        315
Val Pro Cys Pro Asp Phe Arg Lys Gly Thr Cys Arg Arg Ser Asp Val
                325
                                    330
                                                        335
Cys Glu Tyr Ala His Gly Val Phe Glu Cys Trp Leu His Pro Ala Gln
            340
                                345
Tyr Arg Thr Arg Leu Cys Lys Asp Gly Thr Asn Cys Ser Arg Arg Val
        355
                            360
                                                365
Cys Phe Phe Ala His Thr Ser Glu Glu Leu Arg Pro Leu Ile Val Ser
                        375
                                            380
Thr Gly Ser Ala Val Pro Ser Pro Arg Ala Ser Ser Ser Leu Asp Met
                    390
                                        395
Thr Ser Val Met Ser Pro Leu Ala Pro Gly Ser Pro Ser Ser Val Ser
                405
                                    410
Met Met Ser Pro Phe Leu Ser Asn Pro Gln Gln Gly Ser Val Leu Thr
                                425
            420
                                                    430
Pro Pro Met Ser Pro Ser Ala Ser Ser Val Asn Gly Tyr Gly Gly Trp
                            440
                                                445
Pro Gln Pro Asn Val Pro Thr Leu His Leu Pro Gly Ser Asn Val Gln
                        455
                                            460
Thr Ser Arg Leu Arg Ala Glu Leu Asn Ala Arg Asp Met Pro Val Glu
                    470
                                        475
Asp Ser Pro Arg Ile Ser Asp Tyr Glu Gly Gln Gln Leu Leu Asn Asp
                485
                                    490
Phe Ser Pro Leu Ser Thr Gln Ala Arg Leu Asn Ala Ala Ala Val
                                505
Ile Ser Gly Gly Gly Asn Thr Thr Thr Arg Ser Gly Lys Tyr Lys Ser
                            520
                                                525
His Gly Ile Asn Thr Val Ala Pro Thr Asn Leu Glu Asp Leu Phe Ala
                        535
Ser Glu Val Thr Ser Pro Arg Val Ala Val Leu Glu Pro Ser Ile Phe
```

```
560
545
                    550
                                         555
Ser Gln Met Ser Pro Gln Met Gln Ala His Lys Thr Ala Gln Ala Tyr
                                     570
Met Gln Ile Gln Asn Gln Met Leu Pro Pro Ile Asn Thr Gln Ala Phe
                                 585
Ser Gln Gly Ile Thr Gln Met Gln Gln Ala Ala Ile Glu Pro Gln Ser
                             600
Pro Gly His Ser Leu Met Gln Ser Pro Phe Gln Ser Ser Tyr Gly
                        615
                                             620
Leu Gly Ser Pro Gly Arg Met Ser Pro Arg Cys Val Asp Val Glu Arg
                    630
                                         635
His Asn Thr Cys Gly Ser Pro Leu Ser Pro Ala Met Ala Ala Thr Ile
                                     650
                645
Asn Ser Arg Met Ala Met Ala Ala Phe Val Gln Arg Glu Lys Arg Ser
            660
                                 665
His Ser Ser Arg Asp Leu Gly Ala Asn Val Asn Pro Ser Ser Trp Ser
                             680
                                                 685
Asp Trp Gly Ser Pro Thr Gly Lys Val Asp Trp Gly Val Gln Gly Glu
                        695
                                             700
Glu Leu Ser Lys Leu Arg Lys Ser Ala Ser Phe Gly Pro Arg Ser Tyr
                    710
                                         715
Glu Glu Pro Asp Leu Ser Trp Val Gln Thr Leu Val Lys Glu Thr Thr
                725
                                     730
Pro Glu Gly Lys Asp Gly Gly Asn Val Ser Cys Ser Gly Glu Thr Pro
            740
                                745
His Lys Gly Gln Ile Glu Asn Val Asp His Ser Val Leu Gly Ala Trp
        755
                            760
Ile Glu Gln Met Gln Leu Asp Gln Ile Val Ala
    770
                        775
```

<210> 42 <211> 3610

5

<212> ADN

<213> Pinus radiata

<400> 42

```
tgtttccagg cgggcactaa agcaagggag ggggtaggct ttactttctg ctctgcgcaa
                                                                       60
                                                                      120
agaacgttga aatcaatcgc cctggctggt ctggcgtgac tactagattc aatttcttca
tggccgtctt cacataccca ttctttaccg gttcagagct gtgatcttta tttttaacag
                                                                      180
ccacaatcat ggtttgtgtt tccagtgtta tgatctgagt gaagttcgtt ctttttctcg
                                                                      240
tgacccagge ttgatactag gccggacett tetgaggtgg aagagateta tacatttgag
                                                                      300
geotattttg tgtagecatg tgtggaggee cagaacattt gaageetgee ageecacaeg
                                                                      360
aaggagaaga taaagtcaaa atggccgaga atcagtctat caaagtgaag gaattgtctg
                                                                      420
aatcttgttc aagtctacat gaactagctg ctaataatga ccttattggc tttaagaaag
                                                                      480
caatggagga agaagggtca aagatagatg aggttaactt ttggtacggg aggcagaatg
                                                                      540
gttctaatca gatggtcctg gagcaaagga ctccattgat ggttgctgca ctttatggca
                                                                      600
gtgtagatgc gctgagttac atcttatcca tttatgtaac ttgtggagca gatgttaacc
                                                                      660
aagcctgtgg gtcagataac tccactgcct tgcattgtgc ggctgtggga gggtctgcct
                                                                      720
gtgcagttga aactgtaaaa ttgttacttc atgcaggcag tgatgtgaat cgcttggatg
                                                                      780
cttatggcag aagaccagca gatgtgatta tggtttctcc taagctaacc gaaatcaagg
                                                                      840
ccaagctaga agaaatgtta aacgcagctg gttcatgtca aacttctccg gcaaagttgc
                                                                      900
ctaacatagt ttcagggcca cctgggtttg agtcaaaggg gatggagtcc atgtcccat
                                                                      960
tgccattgtt gcctctttca ttgtctttag aagcatccaa taatagatca ggttgtgta
                                                                     1020
attotocaac atottogoca aagtocatgg aagcattaaa gggtttoggt gatgttaatg
                                                                     1080
agaagaagga atatootgtg gaccottott ttooagacat aaagaatago atotatacta
                                                                     1140
cagatgaatt toggatgttt toottoaagg tgoggocatg ttoacgggoa tattotoatg
                                                                     1200
attggactga atgcccattt gtgcatcctg gtgaaaatgc cagaaggcgg gatccaagaa
                                                                     1260
ggtatcatta tagctgtgtt ccttgcccag attttcggaa agggacttgt aggcgcagtg
                                                                     1320
atqtttgtga atatgcacac ggtgtttttg agtgctggtt acatcctgct caatatagga
```

```
1440
cacggttgtg caaagatggg actaattgtt cacgtagagt ttgcttcttt gctcacacat
                                                                   1500
ctgaggaact acgccctctc attgtctcta ctgggtctgc tgttccatcc ccaagggcat
catcatetet ggacatgaca tetgteatga gteetettge eeetggttet eeetetteag
                                                                   1560
tttcaatgat gtcacccttc ctatcaaatc ctcagcaagg cagtgtgctt actccgccta
                                                                   1620
tgtctccatc agcgtcctct gtaaatggat atggaggctg gccacagcct aatgtaccaa
                                                                   1680
ccttacacct tcctggtagc aatgttcaaa ccagccgtct tagagcggaa cttaatgcca
gagacatgcc tgttgaggat tctcctcgaa tttcagacta tgaagggcag caactcctga
atgatttttc tccactgtcc acacaagcca ggctgaatgc tgctgctgct gttatatctg
                                                                   1860
gtggcgggaa caccacaaca aggtctggaa aatacaagag tcacgggatc aatactgttg
                                                                   1920
                                                                   1980
ctccaacgaa tcttgaagac ttgtttgcct ccgaggtaac atctcctaga gtagcagttc
ttgaaccttc catctttct cagatgagtc cccaaatgca agctcataag actgcccagg
                                                                   2040
catatatgca gattcaaaac cagatgctgc ctcctataaa tacacaggca ttttcgcagg
                                                                   2100
gaattacaca gatgcagcag gctgcaatag agcctcagag ccctggacat tctttgatgc
                                                                   2160
aatcaccttt ccaatcttcc tcgtatgggt tgggatcccc tggtagaatg tcacctcgtt
                                                                   2220
gtgtggatgt ggaacgtcat aatacatgtg ggtctccctt atcaccggct atggctgcaa
                                                                   2280
cgataaattc aagaatggct atggctgctt ttgttcagag ggaaaaacgg agccatagtt
cccgtgactt gggagctaat gtgaatccca gttcatggtc tgattggggc tcgcctacag
                                                                   2400
gtaaagttga ctggggggtt caaggagaag agttgagcaa attaagaaag tcggcttcat
                                                                   2460
ttggtccccg cagttatgaa gaaccggatt tgtcttgggt tcaaacactg gtaaaggaaa
                                                                   2520
ctacaccaga gggtaaagat ggaggaaatg taagctgttc tggggaaact ccacacaagg
                                                                   2580
ggcaaataga aaatgttgat cattcagttt tgggtgcctg gattgaacag atgcagcttg
                                                                   2640
atcagattgt agcttgagat taggattatt tatttggagt ggtggtaggg ataggctcat
                                                                   2700
ttaaaattca atttctcatt ttttactatt tcttttataa aaattcccca ttatagttta
                                                                   2760
ggaaatagto tggttttcta cotattatoa gaattacaco tgcaggaaat tttggaggaa
                                                                   2820
agcatgcaaa aagtagatag ggatgttatt cctatcagca ggttgacaag ctgaaaatca
                                                                   2880
cttgggtggt agaccagaga atgacactat tttttgttga catggcaact gaagatgctg
                                                                   2940
ttttctttac ttatcattaa caaccctata tatatttgtt ttgaaagaac tgagcggaga
                                                                   3000
aatgttgtca gttggttact ctgcgcaagg ccttggaaga aatccaagat gtggcatctt
                                                                   3060
ggtgcatttt taatttatca agtgtgaaat ccataacagg tttcagtgag tgacttctga
                                                                   3120
ggttgtatat ggaaaaacct atgatgttgg ctgtctactg ctatttttct gtgcctaaac
                                                                   3180
tgtcaactaa agtttgcagg tggcaatttt gtggcagcat atttgcacat tgaagcggat
                                                                   3240
ggtctgcacc tgctatagaa gttttcgagt ctgtagaatt tgatggtgca agatgatttt
                                                                   3300
ctagttgata tatttggaag gctttgccaa agtagtggca tgtacatttt gcaaaaattt.
                                                                   3360
aaaggatggc aatccattgt tttgccatgt agcttcactt tattgattag gtggaaagga
                                                                   3420
attitgagac acticaatti gigcatacti tigitcigaa cigcaaaatc agictciigt
                                                                   3480
gatgtcctca aggctattat gctcagggat ttgcctaaaa ccataagtgg ccttagataa
                                                                   3540
3600
aaaaaaaaa
                                                                   3610
```

<210> 43 <211> 749 5 <212> PRT

<400> 43

<213> Pinus radiata

```
Met Lys Glu Met Ala Glu Tyr Cys Ser Pro Ala Leu Leu Glu Leu Ala
                                    10
Ala Asn Asn Asp Leu Ser Gly Phe Lys Gln Ala Val Glu Glu Gly Gly
            20
                                25
Ser Ser Val Asn Glu Arg Gly Leu Trp Tyr Gly Arg Gln Ile Gly Ser
                            40
                                                 45
Gly Gln Lys Met Val Leu Glu Gln Arg Thr Pro Leu Met Val Ala Ala
                        55
Leu Tyr Gly Ser Leu Asp Val Leu Ser Tyr Met Leu Ser Gly Gly Arg
                    70
                                        75
Val Asp Val Asn Gln Ser Cys Gly Ser Asp Met Ser Thr Ala Leu His
                                    90
Cys Ala Ala Ala Gly Gly Ser Ile Leu Ala Ile Glu Thr Val Gly Met
```

```
Leu Ile Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Phe Met Asn Ala Gly Gly Arg
        115
                           120
Lys Pro Ala Asp Val Ile Met Val Ser Pro Lys Leu Ala His Phe Lys
                        135
Asn Val Leu Glu Asp Leu Leu Ile Met Gly Ser Asn Ser Pro Met Lys
                    150
                                        155
Ile Pro Cys Arg Val Ser Gly Ser Gly Phe Tyr Leu Pro Glu Gly Gly
                                    170
                165
                                                        175
Gly Cys Phe Phe Asp Glu His Gly Cys Val Val Ser Val Pro Thr Ser
                                185
           180
                                                    190
Ser Pro Leu Phe Ser Ser Pro Asp Ala Thr Ser Pro Ala Thr Val Asn
                            200
                                                205
        195
Ser Pro Leu Ser Ser Pro Pro Thr Ser Leu Asp Thr Pro Lys Asn Leu
                        215
                                            220
Cys Asp Cys Gly Gln Lys Lys Glu Phe Ala Val Asp Ser Ser Leu Pro
                                        235
                   230
Asp Ile Lys Asn Ser Ile Tyr Ser Thr Asp Glu Phe Arg Met Tyr Ser
                                    250
                245
Phe Lys Val Arg Pro Cys Ser Arg Ala Tyr Ser His Asp Trp Thr Glu
                                265
Cys Pro Phe Val His Pro Gly Glu Asn Ala Arg Arg Arg Asp Pro Arg
        275
                            280
                                                285
Lys Tyr His Tyr Ser Cys Val Pro Cys Pro Asp Phe Arg Lys Gly Ala
                        295
                                            300
Cys Arg Arg Gly Asp Val Cys Glu Tyr Ala His Gly Val Phe Glu Cys
                    310
                                        315
Trp Leu His Pro Ala Gln Tyr Arg Thr Arg Leu Cys Lys Asp Gly Thr
                325
                                    330
                                                        335
Asn Cys Ser Arg Arg Val Cys Phe Phe Ala His Thr Pro Glu Glu Leu
                                345
Arg Pro Leu Tyr Pro Pro Ala Cys Ser Ser Met Leu Ser Gln Arg Thr
                            360
Thr Met Thr Ser Ser Asp Lys Met Ala Val Met His Pro Leu Ala Pro
                        375
Gly Ser Ala Ser Ser Val Leu Met Met Ser Ser Ser Asn Ser Ser Gln
                    390
                                        395
Ser Ser Phe Pro Asn Ser Pro Val Ser Pro Leu Ser Ser Ala Asn Thr
                405
                                    410
Ser Ser His Ser Ser Phe Gly Gly Gly Ser Trp Ala His Pro Asn Leu
                                425
Pro Thr Leu His Leu Ser Asn Gly Ala Leu Gln Ala Ser Arg Leu Arg
                           440
Thr Ala Val Asn Ala Arg Asp Met His Pro Asp Cys Ser Ile Glu Ser
                       455
                                           460
Gly Asp Tyr Glu Gly Gln Leu Leu Asn Glu Phe Ala Tyr Leu Ser Thr
                   470
                                        475
Gln Ala Arg Gly Asn Gly Pro Met Ala Thr Val Ser Ser Ser Gly Asn
                485
                                   490
                                                        495
Thr Pro Cys Arg Pro Arg Lys Phe Arg Ala His Asn Val Ala Pro Thr
                               505
Asn Leu Glu Asp Leu Phe Ala Ser Glu Val Phe Ser Pro Lys Met Thr
                           520
                                                525
Ala Ser Glu Ser Ala Phe Leu Ser Glu Ile Gln Ser His Lys Ser Ala
                       535
                                            540
Gln Leu Ser Pro Gln Leu Gln Ser Gln Met Leu Ser Ser Phe Asn Thr
                   550
                                        555
Gln Val Tyr Pro Gln Gly Ser Thr Gln Gly Gln Met His Met Gln His
                                    570
Gly Gly Val Asp Cys Gln Ser Pro Ser Val Phe Leu Ser Pro Pro Pro
```

```
580
                                585
Val Gln Leu Ala Ser Tyr Ser Leu Ser Ser Leu Gly Pro Leu Ser Ser
                            600
Leu Thr Gly Glu Leu Glu Arg Gln Asn Ser Asn Gly Ser Pro Leu Ser
                        615
                                            620
Pro Ile Met Ser Thr Ala Ala Asp Ser Arg Ala Val Ala Phe Ser Gln
Arg Asp Lys Gly Ser Ser Arg Ser Gly Asp Leu Gly Gly Ala Thr Thr
                                    650
Trp Ser Glu Trp Gly Ser Pro Thr Gly Lys Val Asn Trp Gly Ile Arg
                                665
                                                     670
Gly Glu Glu Leu Gln Lys Phe Arg Lys Ser Ala Ser Phe Gly Ile Arg
                            680
Ser Ser Asp Glu Pro Asp Leu Ser Trp Val Gln Lys Leu Phe Lys Glu
                        695
Ala Pro Met Glu Ser Met Asp Arg Gly Thr Met Gly Arg Ser Met Asp
                                        715
Ile Ala Asn Ser Val Gln Met Glu Ala Thr Asp Leu Gly Gly Trp Ile
                                    730
Ser Gln Ile Asn Pro Asp Gln Val Ala Pro Leu Thr Leu
```

<210> 44 <211> 711 <212> PRT <213> Glycine max

<400> 44

Lys Ser Ala Asn Asp Lys Glu Met Lys Ser Leu Thr Val Asn Thr Glu 10 Asp Ser Phe Ser Ser Leu Leu Glu Leu Ala Ser Asn Asn Asp Ile Glu 25 Gly Phe Lys Val Leu Leu Glu Lys Asp Ser Ser Ser Ile Asn Glu Val 40 Gly Leu Trp Tyr Gly Arg Gln Asn Gly Ser Lys Gln Phe Val Leu Glu 55 60 His Arg Thr Pro Leu Met Val Ala Ala Thr Tyr Gly Ser Ile Asp Val 70 75 Met Lys Ile Ile Leu Leu Cys Pro Glu Ala Asp Val Asn Phe Ala Cys 90 Gly Ala Asn Lys Thr Thr Ala Leu His Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ser 100 105 Ala Asn Ala Val Asp Ala Val Lys Ile Leu Leu Ser Ala Gly Ala Asp 120 Val Asn Gly Val Asp Ala Asn Gly Asn Arg Pro Ile Asp Val Ile Ala Val Pro Pro Lys Leu Gln Gly Ala Lys Ala Val Leu Glu Glu Leu Leu 150 Ser Asp Ser Ala Ser Glu Gly Ser Ile Gly Glu Phe Ser Val Pro Val 170 Ser Val Asn Thr Ser Ser Leu Gly Ser Pro Gly His Ser Ser Asn Gly 180 185 Met Pro Tyr Thr Pro Ser Ser Ser Pro Pro Ser Pro Val Val Ala Lys 195 200 Phe Thr Asp Ala Ala Val Cys Ser Leu Ser Glu Lys Lys Glu Tyr Pro 215 220 Ile Asp Pro Ser Leu Pro Asp Ile Lys Asn Ser Ile Tyr Ala Thr Asp 235 230 Glu Phe Arg Met Phe Ser Phe Lys Val Arg Pro Cys Ser Arg Ala Tyr

```
250
                245
Ser His Asp Trp Thr Glu Cys Pro Phe Val His Pro Gly Glu Asn Ala
           260
                               265
Arg Arg Asp Pro Arg Lys Phe His Tyr Ser Cys Val Pro Cys Pro
                           280
Asp Phe Arg Lys Gly Ala Cys Arg Arg Gly Asp Met Cys Glu Tyr Ala
                       295
                                           300
His Gly Val Phe Glu Cys Trp Leu His Pro Ala Gln Tyr Arg Thr Arg
                   310
                                       315
Leu Cys Lys Asp Gly Thr Ser Cys Asn Arg Arg Val Cys Phe Phe Ala
               325
                                   330
His Thr Ala Glu Glu Leu Arg Pro Leu Tyr Val Ser Thr Gly Ser Ala
            340
                               345
Val Pro Ser Pro Arg Ser Ser Ala Ser Ala Pro Asn Val Met Asp Met
                           360
Ala Ala Met Ser Leu Leu Pro Gly Ser Pro Ser Ser Val Ser Ser
                       375
Met Ser Pro Ser His Phe Gly Gln Pro Met Ser Pro Ser Ala Asn Gly
                   390
Met Ser Leu Ser Ser Ala Trp Ala Gln Pro Asn Val Ser Ala Leu His
               405
                                   410
Leu Pro Gly Ser Asn Leu Gln Ser Ser Arg Leu Arg Ser Ser Leu Ser
            420
                               425
Ala Arg Asp Met Pro Pro Asp Asp Leu Asn Met Met Ser Asp Leu Asp
        435
                           440
Gly Gln Gln His Pro Leu Asn Asp Leu Ser Cys Tyr Leu Gln Pro
                       455
Arg Pro Gly Ala Gly Ser Val Ser Arg Ser Gly Arg Ser Lys Ile Leu
                   470
                                       475
Thr Pro Ser Asn Leu Glu Asp Leu Phe Ser Ala Glu Ile Ser Ser Ser
               485
                                   490
Pro Arg Tyr Ser Asp Pro Ala Ala Gly Ser Val Phe Ser Pro Thr His
           500
                               505
Lys Ser Ala Val Leu Asn Gln Phe Gln Gln Leu Gln Ser Met Leu Ser
                           520
Pro Ile Asn Thr Asn Leu Leu Ser Pro Lys Asn Val Glu His Pro Leu
                       535
                                           540
Leu Gln Ala Ser Phe Gly Val Ser Pro Ser Gly Arg Met Ser Pro Arg
                   550
                                       555
Ser Val Glu Pro Ile Ser Pro Met Ser Ser Arg Ile Ser Ala Phe Ala
               565
                                   570
Gln Arg Glu Lys Gln Gln Gln Gln Gln Gln Leu Arg Ser Leu Ser
           580
                               585
Ser Arg Asp Leu Gly Ala Asn Ser Pro Ala Ser Leu Val Gly Ser Pro
                           600
                                               605
Ala Asn Pro Trp Ser Lys Trp Gly Ser Pro Asn Gly Lys Ala Asp Trp
                       615
                                           620
Ser Val Asn Gly Asp Thr Leu Gly Arg Gln Met Arg Arg Ser Ser Ser
                   630
                                       635
Phe Glu Leu Lys Asn Asn Gly Glu Glu Pro Asp Leu Ser Trp Val Gln
               645
                                   650
Ser Leu Val Lys Glu Ser Pro Pro Glu Met Ile Lys Glu Lys Phe Ala
           660
                               665
Ser Pro Met Pro Thr Ala Ser Ala Asp Gly Pro Asn Ser Asn Ser Gln
                           680
Ile Glu Ser Ile Asp His Ser Val Leu Gly Ala Trp Leu Glu Gln Met
                       695
Gln Leu Asp Gln Leu Val Val
705
                   710
```

<210> 45 <211> 643 <212> PRT <213> Glycine max

<400> 45

Arg Gly Ser Gly Phe Pro Gly Arg Pro Thr Arg Pro Arg Ser Gly Arg 10 Thr Arg Gly Arg Thr Arg Gly Val Asn Phe Ala Cys Gly Ala Asn Lys 25 Thr Thr Ala Leu His Cys Ala Ala Ser Gly Ala Ser Thr Lys Ala Val 40 Asp Ala Val Lys Leu Leu Ser Ala Gly Ala Asp Val Asn Cys Val 55 60 Asp Ala Asn Gly Asn Arg Pro Ile Asp Val Ile Ala Val Pro Pro Lys 70 75 Leu Gln Gly Ala Lys Ala Val Leu Glu Glu Leu Leu Ser Asp Asn Ala 85 90 Ser Asp Val Ser Val Gly Glu Phe Ser Val Pro Val Ser Val Asn Ser 105 Ser Ser Pro Gly Ser Pro Ala His Ser Ser Asn Gly Met Pro Tyr Thr 120 Pro Ser Val Ser Pro Pro Ser Pro Val Ala Ala Lys Phe Thr Asp Ala 135 140 Ala Ile Cys Ser Leu Ser Glu Lys Ala Arg Glu Tyr Pro Ile Asp Pro 150 155 Ser Leu Pro Asp Ile Lys Asn Ser Ile Tyr Ala Thr Asp Glu Phe Arg 165 170 Met Phe Ser Phe Lys Val Arg Pro Cys Ser Arg Ala Tyr Ser His Asp 185 Trp Thr Glu Cys Pro Phe Val His Pro Gly Glu Asn Ala Arg Arg Arg 200 205 Asp Pro Arg Lys Phe His Tyr Ser Cys Val Pro Cys Pro Asp Phe Arg 215 220 Lys Gly Ala Cys Arg Arg Gly Asp Met Cys Glu Tyr Ala His Gly Val 230 235 Phe Glu Cys Trp Leu His Pro Ala Gln Tyr Arg Thr Arg Leu Cys Lys 250 Asp Gly Thr Ser Cys Asn Arg Arg Val Cys Phe Phe Ala His Thr Ala 265 Glu Glu Leu Arg Pro Leu Tyr Val Ser Thr Gly Ser Ala Ala Pro Ser 280 285 Pro Arg Ser Ser Ala Ser Gly Pro Asn Val Met Asp Met Ala Ala Ala 295 300 Met Ser Leu Phe Pro Gly Ser Pro Ser Ser Gly Ser Ser Ile Ser Leu 310 315 Ser Ile Ser Phe Ser Leu Asp Pro Met Ser Pro Ser Ala Asn Gly Met 325 330 Pro Leu Ser Ser Ala Trp Ala Gln Pro Asn Val Pro Ala Leu His Leu 345 350 Pro Gly Ser Asn Leu Gln Ser Ser Arg Leu Arg Ser Ser Leu Ser Ala 360 365 Arg Asp Ile Pro Pro Glu Asp Leu Asn Met Met Ser Asp Leu Asp Gly 370 375 380 Gln Gln Gln His His Leu Asn Asp Leu Ser Cys Tyr Ile Gln Pro Arg 390 395 Pro Gly Ala Ser Ser Val Ser Arg Ser Gly Arg Ser Lys Thr Leu Thr 405 410

Pro Ser Asn Leu Glu Glu Leu Phe Ser Ala Glu Ile Ser Leu Ser Pro 420 425 430 Arg Tyr Ser Asp Pro Ala Ala Gly Ser Val Phe Ser Pro Thr His Lys 440 Ser Ala Val Leu Asn Gln Phe Gln Gln Leu Gln Ser Met Leu Ser Pro 455 Ile Asn Thr Asn Leu Leu Ser Pro Lys Asn Val Glu His Pro Leu Phe 470 475 Gln Ala Ser Phe Gly Val Ser Pro Ser Gly Arg Met Ser Pro Arg Ser 490 Val Glu Pro Ile Ser Pro Met Ser Ala Arg Leu Ser Ala Phe Ala Gln 505 Arg Glu Lys Gln Gln Gln Leu Arg Ser Val Ser Ser Arg Asp Leu 520 525 Gly Ala Asn Ser Pro Ala Ser Leu Val Gly Ser Pro Ala Asn Pro Trp 535 540 Ser Lys Trp Gly Ser Pro Ile Gly Lys Ala Asp Trp Ser Val Asn Gly 550 555 Asp Ser Leu Gly Arg Gln Met Arg Arg Ser Ser Ser Phe Glu Arg Lys 565 570 Asn Asn Gly Glu Glu Pro Asp Leu Ser Trp Val Gln Ser Leu Val Lys 585 580 Glu Ser Pro Pro Glu Met Ile Lys Glu Lys Phe Ala Ser Pro Met Pro 595 600 605 Thr Ala Ser Ala Asp Gly Pro Asn Ser Asn Ser Gln Ile Glu Ser Ile 615 620 Asp His Ser Val Leu Gly Ala Trp Leu Glu Gln Met Gln Leu Asp Gln 630 635 Leu Val Val

<210> 46

<211> 669 <212> PRT

<213> Glycine max

<400> 46

Ser His Glu Met Asn His Leu Ser Leu Asp Thr Glu Asp Ser Leu Ala 10 Ser Leu Leu Glu Leu Ala Ala Asn Asn Asp Val Ser Gly Phe Lys Arg Leu Ile Glu Cys Glu Pro Ser Ser Ile Asp Glu Val Gly Leu Trp Tyr Gly Arg His Lys Glu Ser Lys Lys Met Val Asn Glu Gln Arg Thr Pro Leu Met Val Ala Ala Thr Tyr Gly Ser Ile Asp Val Met Thr Leu Ile Leu Ser Leu Ser Glu Ala Asp Val Asn Arg Ser Ser Gly Leu Asp Lys Ser Thr Ala Leu His Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ser Glu Asn Ala 105 Val Asp Ala Val Lys Leu Leu Glu Ala Gly Ala Asp Arg Asn Ser 120 125 Val Asp Ala Asn Gly Arg Pro Gly Asp Val Ile Val Ser Pro Pro 135 140 Lys Leu Asp Tyr Val Lys Lys Ser Leu Glu Glu Leu Leu Gly Ser Asp 150 155 Asp Trp Ser Leu Leu Arg Val Met Arg Ser Thr Cys Asn Gly Cys Ser 170 165

10

```
Ala Glu Asp Leu Lys Met Lys Thr Asn Glu Val Ser Glu Lys Lys Glu
            180
                                185
                                                     190
Tyr Pro Val Asp Leu Ser Leu Pro Asp Ile Lys Asn Ser Ile Tyr Ser
        195
                            200
                                                 205
Ser Asp Glu Phe Arg Met Tyr Ser Phe Lys Val Arg Pro Cys Ser Arg
                        215
                                             220
Ala Tyr Ser His Asp Trp Thr Glu Cys Pro Phe Val His Pro Gly Glu
                    230
                                        235
Asn Ala Arg Arg Asp Pro Arg Lys Phe His Tyr Ser Cys Val Pro
                245
                                    250
Cys Pro Glu Phe Arg Lys Gly Ala Cys Arg Arg Gly Asp Met Cys Glu
            260
                                265
Tyr Ala His Gly Val Phe Glu Cys Trp Leu His Pro Ala Gln Tyr Arg
                            280
                                                 285
Thr Arg Leu Cys Lys Asp Gly Thr Asn Cys Ala Arg Arg Val Cys Phe
                        295
                                            300
Phe Ala His Thr Asn Glu Glu Leu Arg Pro Leu Tyr Val Ser Thr Gly
                    310
                                        315
Ser Ala Val Pro Ser Pro Arg Ser Ser Ala Ser Ser Ala Met Asp Phe
                                    330
                325
                                                         335
Val Ala Ala Ile Ser Pro Ser Ser Met Ser Val Met Ser Pro Ser Pro
            340
                                345
                                                    350
Phe Thr Pro Pro Met Ser Pro Ser Ser Ala Ser Ile Ala Trp Pro Gln
        355
                            360
                                                 365
Pro Asn Ile Pro Ala Leu His Leu Pro Gly Ser Asn Phe His Ser Ser
                        375
                                            380
Arg Leu Arg Ser Ser Leu Asn Ala Arg Asp Phe Ser Val Asp Asp Phe
                    390
                                        395
Asp Leu Leu Pro Asp Tyr Asp His His His Gln Gln Gln Gln
                405
                                    410
Gln Gln Phe Leu Asn Glu Leu Ser Cys Leu Ser Pro His Ala Met Asn
                                425
            420
                                                     430
Cys Asn Thr Met Asn Arg Ser Gly Arg Met Lys Pro Leu Thr Pro Ser
                            440
                                                 445
        435
Asn Leu Asp Asp Leu Phe Ser Ala Glu Ser Ser Ser Pro Arg Tyr Ala
                        455
                                            460
Asp Pro Ala Leu Ala Ser Ala Val Phe Ser Pro Thr His Lys Ser Ala
                    470
                                        475
Val Phe Asn Gln Phe Gln His Gln Gln Ser Met Leu Ala Pro Leu Asn
                                    490
Thr Asn Phe Ala Ser Lys Asn Phe Glu His Pro Leu Leu Gln Ala Ser
                                505
Leu Gly Met Ser Pro Arg Asn Val Glu Pro Ile Ser Pro Met Gly Ser
                            520
                                                 525
Arg Ile Ser Met Leu Ala Gln Arg Glu Lys Gln Gln Phe Arg Ser Leu
                                            540
                        535
Ser Phe Arg Glu Leu Gly Ser Asn Ser Ala Ala Ala Ser Ala Asp Ser
                    550
                                        555
Trp Ser Lys Trp Gly Ser Pro Asn Val Lys Leu Asp Trp Pro Val Gly
                565
                                    570
                                                        575
Ala Gly Glu Val Gly Lys Leu Arg Arg Ser Ser Phe Glu Leu Gly
                                585
                                                    590
Asn Asn Gly Glu Glu Pro Asp Leu Ser Trp Val Gln Ser Leu Val Lys
                            600
                                                 605
Glu Ser Pro Ala Glu Val Lys Asp Lys Leu Ala Thr Thr Val Ser Tyr
                        615
                                            620
Val Ala Ala Ala Ala Gly Ser Ser Glu Gly Ser Asn Ile Ser
                                        635
Thr Gln Met Glu Ser Val Val Asp His Ala Val Leu Gly Ala Trp Leu
```

645 650 655
Glu Gln Met Gln Leu Asp His Leu Val Ala Gln Gln Asn
660 665

<210> 47

5

<211> 580

<212> PRT

<213> Arabidopsis thaliana

<400> 47

Met Cys Ser Gly Pro Lys Ser Asn Leu Cys Ser Ser Arg Thr Leu Thr 10 Glu Ile Glu Ser Arg Gln Lys Glu Glu Glu Thr Met Leu Leu Glu 25 Phe Ala Ala Cys Asp Asp Leu Asp Ser Phe Lys Arg Glu Val Glu Glu 40 Lys Gly Leu Asp Leu Asp Glu Ser Gly Leu Trp Tyr Cys Arg Arg Val 55 Gly Ser Lys Lys Met Gly Leu Glu Glu Arg Thr Pro Leu Met Val Ala 70 75 Ala Met Tyr Gly Ser Ile Lys Val Leu Thr Phe Ile Val Ser Thr Gly 90 Lys Ser Asp Val Asn Arg Ala Cys Gly Glu Glu Arg Val Thr Pro Leu 105 His Cys Ala Val Ala Gly Cys Ser Val Asn Met Ile Glu Val Ile Asn 120 Val Leu Leu Asp Ala Ser Ala Leu Val Asn Ser Val Asp Ala Asn Gly 135 140 Asn Gln Pro Leu Asp Val Phe Val Arg Val Ser Arg Phe Val Ala Ser 150 155 Pro Arg Arg Lys Ala Val Glu Leu Leu Arg Gly Gly Val Gly 170 165 Gly Leu Ile Asp Glu Ala Val Glu Glu Glu Ile Lys Ile Val Ser Lys 185 Tyr Pro Ala Asp Ala Ser Leu Pro Asp Ile Asn Glu Gly Val Tyr Gly 200 205 Ser Asp Glu Phe Arg Met Tyr Ser Phe Lys Val Lys Pro Cys Ser Arg 215 220 Ala Tyr Ser His Asp Trp Thr Glu Cys Ala Phe Val His Pro Gly Glu 230 235 Asn Ala Arg Arg Arg Asp Pro Arg Lys Tyr Pro Tyr Thr Cys Val Pro 245 250 Cys Pro Glu Phe Arg Lys Gly Ser Cys Pro Lys Gly Asp Ser Cys Glu 265 270 Tyr Ala His Gly Val Phe Glu Ser Trp Leu His Pro Ala Gln Tyr Lys 280 Thr Arg Leu Cys Lys Asp Glu Thr Gly Cys Ala Arg Lys Val Cys Phe 295 300 Phe Ala His Lys Arg Glu Glu Met Arg Pro Val Asn Ala Ser Thr Gly 310 315 Ser Ala Val Ala Gln Ser Pro Phe Ser Ser Leu Glu Met Met Pro Gly 325 330 Leu Ser Pro Leu Ala Tyr Ser Ser Gly Val Ser Thr Pro Pro Val Ser 345 Pro Met Ala Asn Gly Val Pro Ser Ser Pro Arg Asn Gly Gly Ser Trp 360 365 Gln Asn Arg Val Asn Thr Leu Thr Pro Pro Ala Leu Gln Leu Asn Gly 375 Gly Ser Arg Leu Lys Ser Thr Leu Ser Ala Arg Asp Ile Asp Met Glu

```
390
385
                                        395
Met Glu Met Glu Leu Arg Leu Arg Gly Phe Gly Asn Asn Val Glu Glu
                                    410
Thr Phe Gly Ser Tyr Val Ser Ser Pro Ser Arg Asn Ser Gln Met Gly
                                425
Gln Asn Met Asn Gln His Tyr Pro Ser Ser Pro Val Arg Gln Pro Pro
                                                445
        435
                            440
Ser Gln His Gly Phe Glu Ser Ser Ala Ala Ala Val Ala Val Met
                        455
                                            460
Lys Ala Arg Ser Thr Ala Phe Ala Lys Arg Ser Leu Ser Phe Lys Pro
                    470
                                        475
Ala Thr Gln Ala Ala Pro Gln Ser Asn Leu Ser Asp Trp Gly Ser Pro
                485
                                    490
Asn Gly Lys Leu Glu Trp Gly Met Lys Gly Glu Glu Leu Asn Lys Met
            500
                                505
Arg Arg Ser Val Ser Phe Gly Ile His Gly Asn Asn Asn Asn Ala
                            520
Ala Arg Asp Tyr Arg Asp Glu Pro Asp Val Ser Trp Val Asn Ser Leu
                        535
                                            540
Val Lys Asp Ser Thr Val Val Ser Glu Arg Ser Phe Gly Met Asn Glu
                   550
                                        555
Arg Val Arg Ile Met Ser Trp Ala Glu Gln Met Tyr Arg Glu Lys Glu
                565
                                    570
Gln Thr Val Val
           580
```

<210> 48

<211>719

<212> PRT

5

<213> Arabidopsis thaliana

<400>48

Met Cys Cys Gly Ser Asp Arg Leu Asn Gln Ile Val Ser Ser Arg Ser Ser Leu Pro Ile Ser Phe Glu Glu Asp Asn Asn Leu Val Thr Asn Thr 25 Asp Met Asn His Ile Thr Val Glu Thr Glu Asp Thr Phe Ala Ser Leu 40 Leu Glu Leu Ala Ala Asn Asn Asp Val Glu Gly Val Arg Leu Ser Ile Glu Arg Asp Pro Ser Cys Val Asp Glu Ala Gly Leu Trp Tyr Gly Arg 70 75 Gln Lys Gly Ser Lys Ala Met Val Asn Asp Tyr Arg Thr Pro Leu Met 85 90 Val Ala Ala Thr Tyr Gly Ser Ile Asp Val Ile Lys Leu Ile Val Ser 100 105 Leu Thr Asp Ala Asp Val Asn Arg Ala Cys Gly Asn Asp Gln Thr Thr 120 125 Ala Leu His Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ala Val Asn Ala Ile Gln Val 135 140 Val Lys Leu Leu Ala Ala Gly Ala Asp Leu Asn Leu Leu Asp Ala 155 150 Glu Gly Gln Arg Ala Gly Asp Val Ile Val Val Pro Pro Lys Leu Glu 170 Gly Val Lys Leu Met Leu Gln Glu Leu Leu Ser Ala Asp Gly Ser Ser 180 185 190 Thr Ala Glu Arg Asn Leu Arg Val Val Thr Asn Val Pro Asn Arg Ser 200 Ser Ser Pro Cys His Ser Pro Thr Gly Glu Asn Gly Gly Ser Gly Ser

```
210
                       215
                                           220
Gly Ser Pro Leu Gly Ser Pro Phe Lys Leu Lys Ser Thr Glu Phe Lys
                   230
                                      235
Lys Glu Tyr Pro Val Asp Pro Ser Leu Pro Asp Ile Lys Asn Ser Ile
               245
                                  250
Tyr Ala Thr Asp Glu Phe Arg Met Tyr Ser Phe Lys Val Arg Pro Cys
                              265
Ser Arg Ala Tyr Ser His Asp Trp Thr Glu Cys Pro Phe Val His Pro
                          280
Gly Glu Asn Ala Arg Arg Arg Asp Pro Arg Lys Phe His Tyr Ser Cys
                      295
Val Pro Cys Pro Asp Phe Arg Lys Gly Ala Cys Arg Arg Gly Asp Met
                                      315
Cys Glu Tyr Ala His Gly Val Phe Glu Cys Trp Leu His Pro Ala Gln
                                   330
Tyr Arg Thr Arg Leu Cys Lys Asp Gly Thr Gly Cys Ala Arg Arg Val
                               345
Cys Phe Phe Ala His Thr Pro Glu Glu Leu Arg Pro Leu Tyr Ala Ser
                           360
Thr Gly Ser Ala Val Pro Ser Pro Arg Ser Asn Ala Asp Tyr Ala Ala
                       375
Ala Leu Ser Leu Leu Pro Gly Ser Pro Ser Gly Val Ser Val Met Ser
                   390
                                      395
Pro Leu Ser Pro Ser Ala Ala Gly Asn Gly Met Ser His Ser Asn Met
               405
                                  410
Ala Trp Pro Gln Pro Asn Val Pro Ala Leu His Leu Pro Gly Ser Asn
                              425
Leu Gln Ser Ser Arg Leu Arg Ser Ser Leu Asn Ala Arg Asp Ile Pro
                          440
                                              445
Thr Asp Glu Phe Asn Met Leu Ala Asp Tyr Glu Gln Gln Gln Leu Leu
                      455
                                          460
Asn Glu Tyr Ser Asn Ala Leu Ser Arg Ser Gly Arg Met Lys Ser Met
                   470
                                      475
Pro Pro Ser Asn. Leu Glu Asp Leu Phe Ser Ala Glu Gly Ser Ser Ser
               485
                                  490
Pro Arg Phe Thr Asp Ser Ala Leu Ala Ser Ala Val Phe Ser Pro Thr
           500
                              505
His Lys Ser Ala Val Phe Asn Gln Phe Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln
                          520
Gln Gln Gln Ser Met Leu Ser Pro Ile Asn Thr Ser Phe Ser Ser Pro
                      535
                                          540
Lys Ser Val Asp His Ser Leu Phe Ser Gly Gly Gly Arg Met Ser Pro
                   550
                                      555
Arg Asn Val Val Glu Pro Ile Ser Pro Met Ser Ala Arg Val Ser Met
               565
                                  570
580
                              585
Gln Gln His Gln Phe Arg Ser Leu Ser Ser Arg Glu Leu Arg Thr
                          600
Asn Ser Ser Pro Ile Val Gly Ser Pro Val Asn Asn Asn Thr Trp Ser
                      615
Ser Lys Trp Gly Ser Ser Asn Gly Gln Pro Asp Trp Gly Met Ser Ser
                  630
                                      635
Glu Ala Leu Gly Lys Leu Arg Ser Ser Ser Phe Asp Gly Asp Glu
               645
                                  650
Pro Asp Val Ser Trp Val Gln Ser Leu Val Lys Glu Thr Pro Ala Glu
                              665
Ala Lys Glu Lys Ala Ala Thr Ser Ser Ser Gly Glu His Val Met Lys
                           680
```

Gln Pro Asn Pro Val Glu Pro Val Met Asp His Ala Gly Leu Glu Ala 690 695 700

Trp Ile Glu Gln Met Gln Leu Asp Gln Leu Val Ala Gln Gln Asn 705 710 715

<210> 49 <211> 686

<212> PRT

<213> Arabidopsis thaliana

<400>49

Met Asn His Ile Thr Val Glu Thr Glu Asp Thr Phe Ala Ser Leu Leu Glu Leu Ala Ala Asn Asn Asp Val Glu Gly Val Arg Leu Ser Ile Glu Arg Asp Pro Ser Cys Val Asp Glu Ala Gly Leu Trp Tyr Gly Arg Gln Lys Gly Ser Lys Ala Met Val Asn Asp Tyr Arg Thr Pro Leu Met Val Ala Ala Thr Tyr Gly Ser Ile Asp Val Ile Lys Leu Ile Val Ser Leu Thr Asp Ala Asp Val Asn Arg Ala Cys Gly Asn Asp Gln Thr Thr Ala Leu His Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ala Val Asn Ala Ile Gln Val Val Lys Leu Leu Ala Ala Gly Ala Asp Leu Asn Leu Leu Asp Ala Glu Gly Gln Arg Ala Gly Asp Val Ile Val Val Pro Pro Lys Leu Glu Gly Val Lys Leu Met Leu Gln Glu Leu Leu Ser Ala Asp Gly Ser Ser Thr Ala Glu Arg Asn Leu Arg Val Val Thr Asn Val Pro Asn Arg Ser Ser Ser Pro Cys His Ser Pro Thr Gly Glu Asn Gly Gly Ser Gly Ser Gly Ser Pro Leu Gly Ser Pro Phe Lys Leu Lys Ser Thr Glu Phe Lys Lys Glu Tyr Pro Val Asp Pro Ser Leu Pro Asp Ile Lys Asn Ser Ile Tyr Ala Thr Asp Glu Phe Arg Met Tyr Ser Phe Lys Val Arg Pro Cys Ser Arg Ala Tyr Ser His Asp Trp Thr Glu Cys Pro Phe Val His Pro Gly Glu Asn Ala Arg Arg Arg Asp Pro Arg Lys Phe His Tyr Ser Cys Val Pro Cys Pro Asp Phe Arg Lys Gly Ala Cys Arg Arg Gly Asp Met Cys Glu Tyr Ala His Gly Val Phe Glu Cys Trp Leu His Pro Ala Gln Tyr Arg Thr Arg Leu Cys Lys Asp Gly Thr Gly Cys Ala Arg Arg Val Cys Phe Phe Ala His Thr Pro Glu Glu Leu Arg Pro Leu Tyr Ala Ser Thr Gly Ser Ala Val Pro Ser Pro Arg Ser Asn Ala Asp Tyr Ala Ala Ala Leu Ser Leu Leu Pro Gly Ser Pro Ser Gly Val Ser Val Met Ser Pro Leu Ser Pro Ser Ala Ala Gly Asn Gly Met Ser His Ser Asn Met Ala

```
Trp Pro Gln Pro Asn Val Pro Ala Leu His Leu Pro Gly Ser Asn Leu
         390
                                     395
Gln Ser Ser Arg Leu Arg Ser Ser Leu Asn Ala Arg Asp Ile Pro Thr
              405
                                  410
Asp Glu Phe Asn Met Leu Ala Asp Tyr Glu Gln Gln Leu Leu Asn
          420
                             425
Glu Tyr Ser Asn Ala Leu Ser Arg Ser Gly Arg Met Lys Ser Met Pro
                       440
Pro Ser Asn Leu Glu Asp Leu Phe Ser Ala Glu Gly Ser Ser Ser Pro
                      455
                                         460
Arg Phe Thr Asp Ser Ala Leu Ala Ser Ala Val Phe Ser Pro Thr His
                  470
                                     475
Lys Ser Ala Val Phe Asn Gln Phe Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln
               485
                                  490
Gln Gln Ser Met Leu Ser Pro Ile Asn Thr Ser Phe Ser Ser Pro Lys
                              505
Ser Val Asp His Ser Leu Phe Ser Gly Gly Gly Arg Met Ser Pro Arg
       515
                          520
                                             525
Asn Val Val Glu Pro Ile Ser Pro Met Ser Ala Arg Val Ser Met Leu
                      535
                                         540
550
                                     555
Gln Gln His Gln Phe Arg Ser Leu Ser Ser Arg Glu Leu Arg Thr Asn
              565
                                 570
Ser Ser Pro Ile Val Gly Ser Pro Val Asn Asn Asn Thr Trp Ser Ser
                              585
                                                590
           580
Lys Trp Gly Ser Ser Asn Gly Gln Pro Asp Trp Gly Met Ser Ser Glu
      595
                                            605
                         600
Ala Leu Gly Lys Leu Arg Ser Ser Ser Phe Asp Gly Asp Glu Pro
                      615
                                        620
Asp Val Ser Trp Val Gln Ser Leu Val Lys Glu Thr Pro Ala Glu Ala
                  630
                                     635
Lys Glu Lys Ala Ala Thr Ser Ser Gly Glu His Val Met Lys Gln
              645
                                 650
Pro Asn Pro Val Glu Pro Val Met Asp His Ala Gly Leu Glu Ala Trp
                             665
Ile Glu Gln Met Gln Leu Asp Gln Leu Val Ala Gln Gln Asn
                          680
```

<210> 50

<211> 633 <212> PRT

<213> Arabidopsis thaliana

 Met
 Val
 Asn
 Asp
 Tyr
 Arg
 Thr
 Pro
 Leu
 Met
 Val
 Ala
 Ala
 Thr
 Tyr
 Gly

 Ser
 Ile
 Asp
 Val
 Ile
 Lys
 Leu
 Ile
 Val
 Ser
 Leu
 Thr
 Asp
 Ala
 Asp
 Val
 Asp
 Val
 Asp
 Ala
 Ala
 Ala
 Asp
 Ala
 Ala
 Ile
 Asp
 Ala
 Ile
 Asp
 Ala
 Ile
 Asp
 Ala
 Ile
 Asp
 Ala
 A

```
Arg Val Val Thr Asn Val Pro Asn Arg Ser Ser Ser Pro Cys His Ser
                           120
                                              125
        115
Pro Thr Gly Glu Asn Gly Gly Ser Gly Ser Gly Ser Pro Leu Gly Ser
                       135
                                           140
Pro Phe Lys Leu Lys Ser Thr Glu Phe Lys Lys Glu Tyr Pro Val Asp
                   150
                                       155
Pro Ser Leu Pro Asp Ile Lys Asn Ser Ile Tyr Ala Thr Asp Glu Phe
                                   170
               165
Arg Met Tyr Ser Phe Lys Val Arg Pro Cys Ser Arg Ala Tyr Ser His
                               185
            180
                                                   190
Asp Trp Thr Glu Cys Pro Phe Val His Pro Gly Glu Asn Ala Arg Arg
                           200
                                               205
Arg Asp Pro Arg Lys Phe His Tyr Ser Cys Val Pro Cys Pro Asp Phe
                       215
                                           220
Arg Lys Gly Ala Cys Arg Arg Gly Asp Met Cys Glu Tyr Ala His Gly
225
                  230
                                       235
Val Phe Glu Cys Trp Leu His Pro Ala Gln Tyr Arg Thr Arg Leu Cys
               245
                                   250
Lys Asp Gly Thr Gly Cys Ala Arg Arg Val Cys Phe Phe Ala His Thr
            260
                               265
                                                   270
Pro Glu Glu Leu Arg Pro Leu Tyr Ala Ser Thr Gly Ser Ala Val Pro
        275
                           280
                                               285
Ser Pro Arg Ser Asn Ala Asp Tyr Ala Ala Ala Leu Ser Leu Leu Pro
                       295
                                           300
Gly Ser Pro Ser Gly Val Ser Val Met Ser Pro Leu Ser Pro Ser Ala
                   310
                                       315
Ala Gly Asn Gly Met Ser His Ser Asn Met Ala Trp Pro Gln Pro Asn
               325
                                   330
Val Pro Ala Leu His Leu Pro Gly Ser Asn Leu Gln Ser Ser Arg Leu
                               345
           340
                                                   350
Arg Ser Ser Leu Asn Ala Arg Asp Ile Pro Thr Asp Glu Phe Asn Met
                           360
                                               365
Leu Ala Asp Tyr Glu Gln Gln Leu Leu Asn Glu Tyr Ser Asn Ala
                       375
                                           380
Leu Ser Arg Ser Gly Arg Met Lys Ser Met Pro Pro Ser Asn Leu Glu
                   390
                                       395
Asp Leu Phe Ser Ala Glu Gly Ser Ser Ser Pro Arg Phe Thr Asp Ser
               405
                                   410
                                                       415
Ala Leu Ala Ser Ala Val Phe Ser Pro Thr His Lys Ser Ala Val Phe
           420
                               425
                                                   430
Asn Gln Phe Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Ser Met Leu
                                               445
                           440
Ser Pro Ile Asn Thr Ser Phe Ser Ser Pro Lys Ser Val Asp His Ser
                       455
Leu Phe Ser Gly Gly Gly Arg Met Ser Pro Arg Asn Val Val Glu Pro
                   470
                                       475
Ile Ser Pro Met Ser Ala Arg Val Ser Met Leu Ala Gln Cys Val Lys
                                   490
505
Arg Ser Leu Ser Ser Arg Glu Leu Arg Thr Asn Ser Ser Pro Ile Val
                           520
                                               525
Gly Ser Pro Val Asn Asn Asn Thr Trp Ser Ser Lys Trp Gly Ser Ser
                       535
                                           540
Asn Gly Gln Pro Asp Trp Gly Met Ser Ser Glu Ala Leu Gly Lys Leu
                   550
                                       555
Arg Ser Ser Ser Phe Asp Gly Asp Glu Pro Asp Val Ser Trp Val
                                   570
Gln Ser Leu Val Lys Glu Thr Pro Ala Glu Ala Lys Glu Lys Ala Ala
```

Thr Ser Ser Ser Gly Glu His Val Met Lys Gln Pro Asn Pro Val Glu 595

Pro Val Met Asp His Ala Gly Leu Glu Ala Trp Ile Glu Gln Met Gln 610

Leu Asp Gln Leu Val Ala Gln Gln Asn 625

<210> 51 <211> 678 <212> PRT

<213> Arabidopsis thaliana

<400> 51

```
Met Asn Asp Ala Ala Glu Trp Glu His Ser Phe Ser Ala Leu Leu Glu
Phe Ala Ala Asp Asn Asp Val Glu Gly Phe Arg Arg Gln Leu Ser Asp
                                25
Val Ser Cys Ile Asn Gln Met Gly Leu Trp Tyr Arg Arg Gln Arg Phe
                            40
Val Arg Arg Met Val Leu Glu Gln Arg Thr Pro Leu Met Val Ala Ser
                        55
Leu Tyr Gly Ser Leu Asp Val Val Lys Phe Ile Leu Ser Phe Pro Glu
Ala Glu Leu Asn Leu Ser Cys Gly Pro Asp Lys Ser Thr Ala Leu His
Cys Ala Ala Ser Gly Ala Ser Val Asn Ser Leu Asp Val Val Lys Leu
            100
                                105
Leu Leu Ser Val Gly Ala Asp Pro Asn Ile Pro Asp Ala His Gly Asn
                            120
Arg Pro Val Asp Val Leu Val Val Ser Pro His Ala Pro Gly Leu Arg
                        135
                                            140
Thr Ile Leu Glu Glu Ile Leu Lys Lys Asp Glu Ile Ile Ser Glu Asp
                    150
                                       155
Leu His Ala Ser Ser Ser Ser Leu Gly Ser Ser Phe Arg Ser Leu Ser
                                    170
Ser Ser Pro Asp Asm Gly Ser Ser Leu Leu Ser Leu Asp Ser Val Ser
                                185
Ser Pro Thr Lys Pro His Gly Thr Asp Val Thr Phe Ala Ser Glu Lys
                           200
Lys Glu Tyr Pro Ile Asp Pro Ser Leu Pro Asp Ile Lys Ser Gly Ile
                       215
                                           220
Tyr Ser Thr Asp Glu Phe Arg Met Phe Ser Phe Lys Ile Arg Pro Cys
                   230
                                        235
Ser Arg Ala Tyr Ser His Asp Trp Thr Glu Cys Pro Phe Ala His Pro
               245
                                    250
Gly Glu Asn Ala Arg Arg Arg Asp Pro Arg Lys Phe His Tyr Thr Cys
            260
                               265
                                                    270
Val Pro Cys Pro Asp Phe Lys Lys Gly Ser Cys Lys Gln Gly Asp Met
        275
                           280
                                               285
Cys Glu Tyr Ala His Gly Val Phe Glu Cys Trp Leu His Pro Ala Gln
                       295
                                           300
Tyr Arg Thr Arg Leu Cys Lys Asp Gly Met Gly Cys Asn Arg Arg Val
                                       315
                   310
Cys Phe Phe Ala His Ala Asn Glu Glu Leu Arg Pro Leu Tyr Pro Ser
               325
                                   330
Thr Gly Ser Gly Leu Pro Ser Pro Arg Ala Ser Ser Ala Val Ser Ala
            340
                               345
Ser Thr Met Asp Met Ala Ser Val Leu Asn Met Leu Pro Gly Ser Pro
```

```
360
Ser Ala Ala Gln His Ser Phe Thr Pro Pro Ile Ser Pro Ser Gly Asn
                        375
                                            380
Gly Ser Met Pro His Ser Ser Met Gly Trp Pro Gln Gln Asn Ile Pro
                    390
                                        395
Ala Leu Asn Leu Pro Gly Ser Asn Ile Gln Leu Ser Arg Leu Arg Ser
                405
                                   410
Ser Leu Asn Ala Arg Asp Ile Pro Ser Glu Gln Leu Ser Met Leu His
            420
                                425
Glu Phe Glu Met Gln Arg Gln Leu Ala Gly Asp Met His Ser Pro Arg
                            440
                                                445
Phe Met Asn His Ser Ala Arg Pro Lys Thr Leu Asn Pro Ser Asn Leu
                       455
                                           460
Glu Glu Leu Phe Ser Ala Glu Val Ala Ser Pro Arg Phe Ser Asp Gln
                   470
                                        475
Leu Ala Val Ser Ser Val Leu Ser Pro Ser His Lys Ser Ala Leu Leu
                485
                                    490
Asn Gln Leu Gln Asn Asn Lys Gln Ser Met Leu Ser Pro Ile Lys Thr
            500
                                505
Asn Leu Met Ser Ser Pro Lys Asn Val Glu Gln His Ser Leu Leu Gln
                           520
Gln Ala Ser Ser Pro Arg Gly Glu Pro Ile Ser Pro Met Asn Ala
                        535
Arg Met Lys Gln Gln Leu His Ser Arg Ser Leu Ser Ser Arg Asp Phe
                    550
                                        555
Gly Ser Ser Leu Pro Arg Asp Leu Met Pro Thr Asp Ser Gly Ser Pro
                                    570
Leu Ser Pro Trp Ser Ser Trp Asp Gln Thr His Gly Ser Lys Val Asp
                                585
                                                    590
Trp Ser Val Gln Ser Asp Glu Leu Gly Arg Leu Arg Lys Ser His Ser
                           600
                                                605
Leu Ala Asn Asn Pro Asn Arg Glu Ala Asp Val Ser Trp Ala Gln Gln
                        615
Met Leu Lys Asp Ser Ser Pro Arg Asn Gly Asn Arg Val Val Asn
                    630
                                        635
Met Asn Gly Ala Arg Pro Leu Thr Gln Gly Gly Ser Ser Val Asn Pro
                                    650
His Asn Ser Asp Thr Arg Glu Ser Asp Ile Leu Asp Ala Trp Leu Glu
            660
                                665
Gln Leu His Leu Asp Arg
        675
```

<210> 52

<211> 640

<212> PRT

<213> Arabidopsis thaliana

<400> 52

Met Gly Leu Trp Tyr Arg Arg Gln Arg Phe Val Arg Arg Met Val Leu Glu Gln Arg Thr Pro Leu Met Val Ala Ser Leu Tyr Gly Ser Leu Asp Val Val Lys Phe Ile Leu Ser Phe Pro Glu Ala Glu Leu Asn Leu Ser Cys Gly Pro Asp Lys Ser Thr Ala Leu His Cys Ala Ala Ser Gly Ala Ser Val Asn Ser Leu Asp Val Val Lys Leu Leu Ser Val Gly Ala Asp Pro Asm Ile Pro Asp Ala His Gly Asm Arg Pro Val Asp Val Leu

				85					90					95	
Val	Val	Ser	Pro 100		Ala	Pro	Gly	Leu 105		Thr	Ile	Leu	Glu 110	Glu	Ile
Leu	Ъуs	Lys 115	Asp	Glu	Ile	Ile	Ser 120	Glu	Asp	Leu	His	Ala 125	Ser	Ser	Ser
Ser	Leu 130	Gly	Ser	Ser	Phe	Arg 135		Leu	Ser	Ser	Ser 140	Pro	Asp	Asn	Gly
145			Leu		150					155			_		160
			Val	165					170			_		175	
			Pro 180					185					190		
_		195					200				-	205	_		
	210		Glu			215					220				
225	_		Arg		230		_		_	235		_		•	240
		_	Ser	245	_		_	_	250	_		_		255	_
			Cys 260					265			-		270		_
		275	Met				280					285			
	290		Leu			295					300				
305			Ala		310					315			_		320
			Asn -	325					330					335	
			Pro 340					345		_			350		
		355	Trp				360					365			_
	370		Gln			375					380				
385			Glu		390					395					400
			Gly	405					410					415	
_		_	Thr 420					425					430		
		435	Ser				440	_				445			
	450		Ser			455					460				
465			Met		470					475					480
•			Glu	485					490					495	-
			Pro 500					505					510		
		515	Ser				520	_				525			_
	530		Pro			535					540				
Trp 545	Asp	GID	Thr	ніз	G1y 550	ser	г'ns	val	Asp	Trp 555	ser	val	GIN	ser	560

```
Glu Leu Gly Arg Leu Arg Lys Ser His Ser Leu Ala Asn Asn Pro Asn
                      565
                                           570
     Arg Glu Ala Asp Val Ser Trp Ala Gln Gln Met Leu Lys Asp Ser Ser
                                       585
                                                            590
     Ser Pro Arg Asn Gly Asn Arg Val Val Asn Met Asn Gly Ala Arg Pro
                                   600
     Leu Thr Gln Gly Gly Ser Ser Val Asn Pro His Asn Ser Asp Thr Arg
                              615
     Glu Ser Asp Ile Leu Asp Ala Trp Leu Glu Gln Leu His Leu Asp Arg
                          630
                                               635
<210> 53
<211> 2158
<212> ADN
<213> Oryza sativa
<400> 53
```

60 tgctccttct tcattgcaaa gaaagcacca ccttttaaag aatcctcctc acactccatt cttettaaaa aacceaceac aacacaatte ceacttgttt etteateate acetaettea 120 atcaaaaaac attccaactt tottotcaat ttcattccag gatagtatta tgtgcagtgg 180 accaaaqaqc aatctctqct cttcaaqaac cttaacaqaa atcqaatcaa qqcaaaaqqa 240 agaagaaaca atgettetee tegaattege tgettgtgat gatettgaet egtteaagag 300 360 agaggttgaa gagaaagggc ttgatttgga tgagtcaggg ttatggtatt gcagacgtgt 420 cggttctaag aagatgggtc ttgaagaaag aacaccttta atggttgcag ctatgtatgg aagcataaag gttttgactt tcatcgtttc cactggaaaa tctgatgtga acagagcttg 480 tggtgaagag agagttactc cgcttcactg tgctgttgct ggctgttctg tgaatatgat 540 tgaagtcatc aatgtettge ttgatgette tgetttggtt aactetgttg atgetaatgg 600 gaatcaacct ttggatgtgt ttgttcgagt ttcgaggttt gtggctagtc cgaggaggaa 660 agcggttgag ttgttgctga gaggaggagg tgttggagga ttgatcgatg aggcggttga 720 agaagagatc aagattgtct ctaagtatcc agctgatgct tctttaccgg atataaacga 780 aggggtttat ggaagtgatg agtttaggat gtatagcttt aaggttaagc catgttctag 840 900 ggcttattct catgattgga ccgagtgtgc ttttgttcat ccgggagaaa atgcgaggag gagagateeg aggaagtate ettacaettg tgteeeetgt eeegagttee gtaaaggate 960 atgcccgaaa ggagattett gcgagtatgc tcacggggtt ttcgagtcgt ggcttcaccc 1020 cgcgcagtat aaaacccggc tttgtaaaga tgaaacgggt tgtgcaagga aagtttgttt 1080 ctttgctcat aaacgcgaag agatgagacc tgttaatgct tcaactggct ctgccgtggc 1140 teagteteeg tttageaget tggagatgat geeagggttg teteetettg ettattette 1200 aggagtttcg actoctccgg tttctccaat ggctaatggt gttccttcct ctccaagaaa eggeggatea tggeagaaca gagteaatac cettaeteea eeggetttge ageteaatgg 1320 tggaagcaga ttgaagtcca cactgagcgc tagagatatc gatatggaga tggagatgga 1380 attgagactc cgcggttttg gcaacaatgt ggaagagacg ttcgggtctt atgtttcctc 1440 tocaagtagg aattotoaaa tgggtoaaaa catgaaccaa cattatocat ottooooggt 1500 gagacaaccg ccatctcaac acgggttcga atcttcagca gctgcagcgg ttgcagtgat 1560 gaaagegaga teaacegeet ttgegaaaeg tagettgage tteaaaceag etaeteaage 1620 agcaccacag togaatotot oggattgggg atotocaaac gggaagotgg aatggggaat 1680 gaaaggagaa gagctgaata agatgagaag aagtgtttcc tttggaatcc atggaaacaa 1740 caacaataac gcagctagag actacaggga cgagccagat gtgtcatggg ttaactcttt 1800 agttaaagac agtactgtgg tgtctgagag aagctttgga atgaatgaga gggttcggat 1860 aatgtcgtgg gctgagcaaa tgtacagaga gaaggagcag actgtggtgt aaacacacac 1920 aaagatggtt tottatatat attgcttttg ggccatotot gcaaatttga ttotttaatt 1980 tttgtgactt tctttagttg ttactgttat tagtagtata tggtttgttg tcactacgag 2040 totacgtgat gaaaagatag aagttaattg cattagtttc tatattcgtt totcatooto 2100 2158 ttgtaattta tcaaaccatg aaatggctaa gcaatccaaa ccgaaaaaaa aaaaaaaa

```
<210> 54
<211> 2193
<212> ADN
15 <213> Oryza sativa
```

10

5

<400> 54

```
aatccgaaaa gtttctgcac cgttttcacc ccctaactaa caatataggg aacgtgtgct
                                                                       60
aaatataaaa tgagacctta tatatgtagc gctgataact agaactatgc aagaaaaact
                                                                      120
catccaccta ctttagtggc aatcgggcta aataaaaaag agtcgctaca ctagtttcgt
                                                                      180
tttccttagt aattaagtgg gaaaatgaaa tcattattgc ttagaatata cgttcacatc
                                                                      240
totgtoatga agttaaatta ttogaggtag ocataattgt catcaaacto ttottgaata
                                                                      300
aaaaaatctt totagotgaa otoaatgggt aaagagagag atttttttta aaaaaataga
                                                                      360
atgaagatat totgaacgta ttggcaaaga tttaaacata taattatata attttatagt
                                                                      420
ttgtgcattc gtcatatcgc acatcattaa ggacatgtct tactccatcc caatttttat
                                                                      480
ttagtaatta aagacaattg acttattttt attatttatc ttttttcgat tagatgcaag
                                                                      540
gtacttacgc acacactttg tgctcatgtg catgtgtgag tgcacctcct caatacacgt
                                                                      600
tcaactagca acacatctct aatatcactc gcctatttaa tacatttagg tagcaatatc
                                                                      660
tgaattcaag cactccacca tcaccagacc acttttaata atatctaaaa tacaaaaaaat
                                                                      720
aattttacag aatagcatga aaagtatgaa acgaactatt taggtttttc acatacaaaa
                                                                      780
aaaaaaagaa ttttgctcgt gcgcgagcgc caatctccca tattgggcac acaggcaaca
                                                                      840
acagagtggc tgcccacaga acaacccaca aaaaacgatg atctaacgga ggacagcaag
                                                                      900
teegcaacaa eettttaaca geaggetttg eggeeaggag agaggaggag aggeaaagaa
                                                                      960
aaccaagcat cotootooto coatotataa attootooco cottttooco tototatata
                                                                    1020
ggaggcatcc aagccaagaa gagggagagc accaaggaca cgcgactagc agaagccgag
                                                                    1080
egacegeett ettegateea tatetteegg tegagttett ggtegatete tteeeteete
                                                                     1140
cacctcctcc tcacagggta tgtgcccttc ggttgttctt ggatttattg ttctaggttg
                                                                     1200
tgtagtacgg gcgttgatgt taggaaaggg gatctgtatc tgtgatgatt cctgttcttg
                                                                    1260
gatttgggat agaggggttc ttgatgttgc atgttatcgg ttcggtttga ttagtagtat
                                                                    1320
ggttttcaat cgtctggaga gctctatgga aatgaaatgg tttagggtac ggaatcttgc
                                                                    1380
gattttgtga gtaccttttg tttgaggtaa aatcagagca ccggtgattt tgcttgqtqt
                                                                    1440
aataaaagta cggttgtttg gtcctcgatt ctggtagtga tgcttctcga tttgacgaag
                                                                    1500
ctatcctttg tttattccct attgaacaaa aataatccaa ctttgaagac ggtcccgttg
                                                                    1560
atgagattga atgattgatt cttaagcctg tccaaaattt cgcagctggc ttgtttagat
                                                                    1620
acagtagtcc ccatcacgaa attcatggaa acagttataa tcctcaggaa caggggattc
                                                                    1680
cotgttotto ogatttgott tagtoccaga atttttttto ocaaatatot taaaaaqtoa
                                                                    1740
ctttctggtt cagttcaatg aattgattgc tacaaataat gcttttatag cgttatccta
                                                                    1800
gctgtagttc agttaatagg taatacccct atagtttagt caggagaaga acttatccga
                                                                    1860
tttctgatct ccatttttaa ttatatgaaa tgaactgtag cataagcagt attcatttgg
                                                                    1920
attatttttt ttattagete teacceette attattetga getgaaagte tggcatgaac
                                                                    1980
tgtcctcaat tttgttttca aattcacatc gattatctat gcattatcct cttgtatcta
                                                                    2040
cctgtagaag tttctttttg gttattcctt gactgcttga ttacagaaag aaatttatga
                                                                    2100
agotgtaato gggatagtta tactgottgt tottatgatt catttoottt gtgcagttot
                                                                    2160
tggtgtaget tgccactttc accagcaaag ttc
                                                                    2193
```

<210> 55 <211> 1827 <212> ADN <213> Oryza sativa

<400> 55

gcttgagtca	tagggagaaa	acaaatcgat	catatttgac	tcttttccct	ccatctctct	60
taccggcaaa	aaaagtagta	ctggtttata	tgtaaagtaa	gattctttaa	ttatgtgaga	120
tccggcttaa	tgcttttctt	ttgtcacata	tactgcattg	caacaattgc	catatattca	180
cttctgccat	cccattatat	agcaactcaa	gaatggattg	atatatcccc	tattactaat	240
ctagacatgt	taaggctgag	ttgggcagtc	catcttccca	acccaccacc	ttcgtttttc	300
gcgcacatac	ttttcaaact	actaaatggt	gtgtttttta	aaaatatttt	caatacaaaa	360
gttgctttaa	aaaattatat	tgatccattt	ttttaaaaaa	aatagctaat	acttaattaa	420
tcacgtgtta	aaagaccgct	ccgttttgcg	tgcaggaggg	ataggttcac	atcctgcatt	480
accgaacaca	gcctaaatct	tgttgtctag	attcgtagta	ctggatatat	taaatcatgt	540
tctaagttac	tatatactga	gatgaataga	ataagtaaaa	ttagacccac	cttaagtctt	600
gatgaagtta	ctactagetg	cgtttgggag	gacttcccaa	aaaaaaagt	attagccatt	660
agcacgtgat	taattaagta	ctagtttaaa	aaacttaaaa	aataaattaa	tatgattctc	720
ttaagtaact	ctcctataga	aaacttttac	aaaattacac	cgtttaatag	tttggaaaat	780
atgtcagtaa	aaaataagag	agtagaagtt	atgaaagtta	gaaaaagaat	tgttttagta	840
gtatacagtt	ataaactatt	ccctctgttc	taaaacataa	gggattatgg	atggattcga	900
catgtaccag	taccatgaat	cgaatccaga	caagttttt	atgcatattt	attctactat	960
aatatatcac	atctgctcta	aatatcttat	atttcgaggt	ggagactgtc	gctatgtttt	1020
tctgcccgtt	gctaagcaca	cgccaccccc	gatgcgggga	cgcctctggc	cttcttgcca	1080
cgataattga	atggaacttc	cacattcaga	ttcgataggt	gaccgtcgac	tccaagtgct	1140
ttgcacaaaa	caactccggc	ctcccggcca	ccagtcacac	gactcacggc	actaccaccc	1200
ctgactccct	gaggcggacc	tgccactgtt	ctgcatgcga	agctatctaa	aattctgaag	1260
caaagaaagc	acagcacatg	ctccgggaca	cgcgccaccc	ggcggaaaag	ggctcggtgt	1320
ggcgatctca	cagccgcata	tçgcatttça	caageegeee	atctccaccg	gcttcacgag	1380
gctcatcgcg	gcacgaccgc	gcacggaacg	cacgcggccg	acccgcgcgc	ctcgatgcgc	1440
gagcccatcc	gccgcgtcct	ccctttgcct	ttgccgctat	cctctcggtc	gtatcccgtt	1500
tctctgtctt	ttgctccccg	gcgcgcgcca	gttcggagta	ccagcgaaac	ccggacacct	1560
ggtacacctc	cgccggccac	aacgcgtgtc	cccctacgtg	gccgcgcagc	acatgcccat	1620
gcgcgacacg	tgcacctcct	catccaaact	ctcaagtctc	aacggtccta	taaatgcacg	1680
gatagcctca	agctgctcgt	cacaaggcaa	gaggcaagag	gcaagagcat	ccgtattaac	1740
cagccttttg	agacttgaga	gtgtgtgtga	ctcgatccag	cgtagtttca	gttcgtgtgt	1800
tggtgagtga	ttccagccaa	gtttgcg				1827

<210> 56 <211> 2194

5

<212> ADN <213> *Oryza sativa*

<400> 56

```
aatoogaaaa gtttotgcac cgttttcacc ccctaactaa caatataggg aacgtgtgct
                                                                     60
                                                                    120
aaatataaaa tgagacctta tatatgtagc gctgataact agaactatgc aagaaaaact
                                                                    180
catccaccta ctttagtggc aatcgggcta aataaaaaag agtcgctaca ctagtttcgt
tttccttagt aattaagtgg gaaaatgaaa tcattattgc ttagaatata cgttcacatc
                                                                    240
tetgteatga agttaaatta ttegaggtag ceataattgt cateaaacte ttettgaata
                                                                    300
aaaaaaatctt tctagctgaa ctcaatgggt aaagagagag atttttttta aaaaaataga
                                                                    360
atgaagatat totgaacgta ttggcaaaga tttaaacata taattatata attttatagt
                                                                    420
ttgtgcattc gtcatatcgc acatcattaa ggacatgtct tactccatcc caatttttat
                                                                    480
ttagtaatta aagacaattg acttattttt attatttatc ttttttcgat tagatgcaag
                                                                    540
gtacttacgc acacactttg tgctcatgtg catgtgtgag tgcacctcct caatacacgt
                                                                    600
tcaactagca acacatctct aatatcactc gcctatttaa tacatttagg tagcaatatc
                                                                    660
                                                                    720
tgaattcaag cactccacca tcaccagacc acttttaata atatctaaaa tacaaaaaat
                                                                    780
aattttacag aatagcatga aaagtatgaa acgaactatt taggtttttc acatacaaaa
aaaaaaagaa ttttgctcgt gcgcgagcgc caatctccca tattgggcac acaggcaaca
                                                                    840
acagagtggc tgcccacaga acaacccaca aaaaacgatg atctaacgga ggacagcaag
                                                                    900
tccgcaacaa ccttttaaca gcaggctttg cggccaggag agaggaggag aggcaaagaa
                                                                    960
aaccaagcat cotcottoto coatotataa attootooco cottttocoo tototatata
                                                                   1020
ggaggcatcc aagccaagaa gagggagagc accaaggaca cgcgactagc agaagccgag
                                                                   1080
cgaccgcctt ctcgatccat atcttccggt cgagttcttg gtcgatctct tccctcctcc
                                                                  1140
acctectect cacagggtat gtgcctccct teggttgttc ttggatttat tgttctaggt
                                                                   1200
tgtgtagtac gggcgttgat gttaggaaag gggatctgta tctgtgatga ttcctgttct
                                                                   1260
                                                                  1320
tggatttggg atagaggggt tcttgatgtt gcatgttatc ggttcggttt gattagtagt
                                                                  1380
gcgattttgt gagtaccitt tgtttgaggt aaaatcagag caccggtgat tttgcttggt
                                                                   1440
gtaataaagt acggttgttt ggtcctcgat tctggtagtg atgcttctcg atttgacgaa
                                                                   1500
gctatccttt gtttattccc tattgaacaa aaataatcca actttgaaga cggtcccgtt
                                                                   1560
gatgagattg aatgattgat tottaagoot gtocaaaatt togcagotgg ottgtttaga
                                                                  1620
tacagtagtc cccatcacga aattcatgga aacagttata atcctcagga acaggggatt
                                                                  1680
coctgttctt ccgatttgct ttagtcccag aatttttttt cccaaatatc ttaaaaagtc
                                                                  1740
actttctqqt tcaqttcaat qaattqattq ctacaaataa tqcttttata qcqttatcct
                                                                  1800
agctgtagtt cagttaatag gtaatacccc tatagtttag tcaggagaag aacttatccg
                                                                  1860
atttctgatc tccattttta attatatgaa atgaactgta gcataagcag tattcatttg
                                                                  1920
gattattttt tttattagct ctcacccctt cattattctg agctgaaagt ctggcatgaa
                                                                  1980
ctgtcctcaa ttttgttitc aaattcacat cgattatcta tgcattatcc tcttgtatct
                                                                  2040
acctgtagaa gtttcttttt ggttattcct tgactgcttg attacagaaa gaaatttatg
                                                                  2100
aagctgtaat cgggatagtt atactgcttg ttcttatgat tcatttcctt tgtgcagttc
                                                                   2160
ttggtgtagc ttgccacttt caccagcaaa gttc
                                                                   2194
```

REIVINDICACIONES

- 1. Procedimiento para aumentar el rendimiento de semillas de plantas con respecto a plantas de tipo silvestre correspondientes, que comprende introducir y expresar en una planta un ácido nucleico AZ o una variante del mismo, en el que dicho ácido nucleico AZ codifica un polipéptido AZ o un homólogo del mismo, en el que el homólogo proporciona plantas que tienen un rendimiento aumentado y en el que dicho polipéptido AZ o el homólogo del mismo comprende dos repeticiones de anquirina y dos dominios C3H1 de dedo de Cinc, y en el que dichas repeticiones de anquirina se localizan cadena arriba de los dominios C3H1 de dedo de Cinc.
- 2. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que polipéptido AZ comprende al menos uno de los siguientes motivos:

10 (P/A)CSRAY(S/T)HDWTEC (motivo 1, SEC ID N°: 3)
HPGENARRRDPR (motivo 2, SEC ID N°: 4)
HG(V/I)FE(C/S)WLHP(A/S)QY(R/K)TRLCK (motivo 3, SEC ID N°: 5)
CFFAH (motivo 4, SEC ID N°: 6)

- 3. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en el que dicho ácido nucleico AZ codifica un polipéptido AZ de SEC ID Nº: 2 o un homólogo del mismo.
 - 4. El procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que dicha variante es una porción de un ácido nucleico AZ o una secuencia capaz de hibridarse con un ácido nucleico AZ, cuya porción o secuencia de hibridación codifica un polipéptido AZ que comprende dos repeticiones de anquirina y dos dominios C3H1 de dedo de Cinc, y en el que dichas repeticiones de anquirina se localizan cadena arriba de los dominios C3H1 de dedo de Cinc.
 - 5. El procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que dicho ácido nucleico AZ o variante del mismo se sobreexpresa en una planta.
 - 6. El procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que dicho ácido nucleico AZ o variante del mismo es de origen vegetal, preferentemente de una planta dicotiledónea, más preferentemente de la familia *Brassicaceae*, más preferentemente el ácido nucleico es de *Arabidopsis thaliana*.
 - 7. El procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que dicho ácido nucleico AZ o variante del mismo está unido operativamente a un promotor específico de semilla.
 - 8. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 7, en el que dicho promotor específico de semilla es un promotor WSI18.
- 30 9. El procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en el que dicho rendimiento de semilla aumentado comprende un peso de mil granos aumentado.
 - 10. Construcción que comprende:

5

20

25

35

45

- (i) un ácido nucleico AZ o una variante del mismo como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 y 6; (ii) un promotor WSI18 específico de semilla o un promotor GOS2 constitutivo unido operativamente a la secuencia de ácidos nucleicos de (i)
- 11. La construcción de acuerdo con la reivindicación 10, en la que dicho promotor WSI18 es como se representa por la SEC ID №: 55 o SEC ID №: 9.
- 12. La construcción de acuerdo con la reivindicación 10, en la que dicho promotor GOS2 es como se representa por la SEC ID №: 56 o SEC ID №: 54.
 - 13. Planta transformada con una construcción de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 10 a 12.
 - 14. Procedimiento para la producción de una planta transgénica que tiene rendimiento de semilla aumentado en comparación con plantas de tipo silvestre correspondientes, cuyo procedimiento comprende:
 - (i) introducir y expresar en una planta o célula de planta un ácido nucleico AZ o variante del mismo como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 y 6; y
 - (ii) cultivar la célula de planta en condiciones que promuevan el crecimiento y el desarrollo de las plantas.
 - 15. Planta transgénica de acuerdo con la reivindicación 13, en la que dicha planta es una planta monocotiledónea, tal como caña de azúcar o en la que la planta es un cereal, tal como arroz, maíz, trigo, cebada, mijo, centeno, avena o sorgo.
 - 16. Partes cosechables de una planta de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 13 o 15, en la que dichas partes cosechables comprenden una construcción de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 10 a 12.

- 17. Partes cosechables de una planta de acuerdo con la reivindicación 16 en la que dichas partes cosechables son semillas.
- 18. Productos directamente derivados de una planta de acuerdo con la reivindicación 13 o 15 y/o de partes cosechables de una planta de acuerdo con las reivindicaciones 16 o 17, en la que dichos productos comprenden una construcción de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 10 a 12.

5

- 19. El uso de un ácido nucleico AZ o de una variante del mismo como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 y 6, o el uso de un polipéptido AZ o de un homólogo del mismo, en el aumento de rendimiento de semilla, con respecto a plantas de tipo silvestre correspondientes.
- 20. El uso de acuerdo con la reivindicación 19, en el que dicho aumento de rendimiento de semilla comprende un peso de mil granos aumentado.
 - 21. El uso de un ácido nucleico AZ o de una variante del mismo, como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 y 6, o el uso de un polipéptido AZ o de un homólogo del mismo como un marcador molecular.
 - 22. El uso de una construcción, de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 10 a 12, en un procedimiento para producir plantas que tienen un rendimiento de semilla aumentado con respecto a plantas de control.

Organización de dominios en la SEC ID Nº: 2

FIGURA 1

ANQ: 004242/1-30 CONSENSO/80% CONSENSO/65% CONSENSO/50%	NGHTALHIAASKDPNA .t.sslhhsh.ttp.phhphllp.tpht. pstosLphAstpsphphlphLlptssshsh sGpTsLHhAspssshcllchLlspusslst
C3H1: TTP_BOVIN/13-4 CONSENSO/80% CONSENSO/65% CONSENSO/50%	RYKTELCRTFSESGRCRYGA-KCQFAHGL t.pCatGC.hupC.a.H p.+hCphatpGhCthGs.pCpahHs. ph+.slCctFppGpCshGs.pCpFtHst

Leyenda:

Clase	Clave	Restos
alcohol	0	S,T
alifático	1	I,L,V
ninguna		A,C,D,E,F,G,H,I,K,L,M,N,P,Q,R,S,T,V,W,Y
aromático	a	F,H,W,Y
cargado	С	D, E, H, K, R
hidrófobo	h	$A,C,F,G,H,I,K,L_{\sharp}M,R,T,V,W,Y$
negativo	_	D, E
polar	р	C, D, E, H, K, N, Q, R, S, T
positivo	+	H, K, R
pequeño	S	A,C,D,G,N,P,S,T,V
diminuto	u	A, G, S
de tipo giro	t	A,C,D,E,G,H,K,N,Q,R,S,T

FIGURA 2

Tabla MATGAT: A) Secuencias de longitud completa

_∞	3.1	5.1	5.2	3.5	1.7	8.7	7.3	4.9	4	3.5	9.7	2.3	9.2	7.7	6.8	6.7	4.8	
<u>—</u>	8 4	2 4	6	2 4	4 41	9	7 37	7	8 34	7 38	3 37	4 32	8	38	5 33	1 2	Ŋ	m
17	48.	51.	37.	50.	46.	42.	39.7	36.	35.	40.	40.	34.	40.	38	34.	28.		67.
16	27.8	27.9	30.2	27	29.5	27.5	28.1	32.1	30.9	31.5	31	30.9	29.8	31.1	39.8		38.1	38.1
15	35.9	37	38.2	36.4	34.9	35	37.5	39.9	40.1	45.8	41.7	39.3	38.3	42.4		53.7	48.5	48.9
14	38.5	39.7	37.1	39.4	38.5	38.9	36.4	46.8	46.6	51	47.3	42.2	48.7		09	47.1	50.2	53.4
13	38.6	41.5	37.1	40.9	38.9	38.3	35.6	44.5	43.2	53.8	54.1	44.7		62.1	55	44.1	56	56.6
12	35.7	34.4	33.5	34.5	33.9	33.8	33.6	45	45.3	54.7	53.7		62.7	58	55.8	43.8	51.3	48.3
11	37.9	40.8	38.1	39.4	38.1	38.9	36.7	48.1	47	63.3		69	6.69	65.9	57.3	46	54.4	54.7
10	38.6	39.6	37.2	39.1	39.2	36.9	36.3	50.4	49.6		78	68.4	69.5	63.6	60.1	46.6	54.8	53.3
6	36.9	35.8	37	35.8	35.2	35.3	34.9	68.3		63	62.7	09	59.2	63.9	57.2	49	48.1	49.5
80	38.2	39	37.7	37.5	36.3	37.4	36.6		81.7	65.6	6.59	09	61	63.4	58.7	49.4	50.2	50.3
7	43.8	44	39.1	42.8	45.5	43.3		52.5	50.7	53.9	54	52.8	53.2	54.9	53.3	43.1	53.3	52.7
9	49.5	51.5	39.1	51.5	47		58.9	53.7	52.1	55	55.5	51.7	57.9	55.5	49.9	41.2	58.5	57
5	54.6	57	48.2	54.6		62.9	57.9	49.3	48.2	52.9	52.5	49.1	53.8	52.1	47.5	39.5	64.1	60.5
4	58.5	65.7	45.4		9.89	69.7	59.3	52.1	51.6	54.6	58.2	53.8	59.1	53.4	51.1	41.1	64.8	59.9
3	44	47.2		58.3	57.7	54.7	54.5	54.3	53	52.8	53.2	49.8	52.4	55.4	55.3	43.8	50.6	50.3
2	63.8		60.4	80.1	72.5	70.5	8.09	54.3	50.9	55.5	57.7	51.7	58.8	54.3	50.9	40.6	65.5	61.5
1		78.1	57.5	74.3	9.69	68.7	57.4	52.1	49.9	54.9	54.5	52.2	56.1	53.4	50.3	41.8	63.9	58.3
	1.SEC ID N°2	2.SEC ID N°11	3.SEC ID N°13	4.SEC ID N°15	5.SEC ID N°17	6.SEC ID N°19	7.SEC ID N°21	8.SEC ID N°23	9.SEC ID N°25	10.SEC ID N°27	11.SEC ID N°29	12.SEC ID N°31	13.SEC ID N°33	14.SEC ID N°35	15.SEC ID N°37	16.SEC ID N°39	17.SEC ID Nº41	18.SEC ID Nº43

FIGURA 3A

B) Secuencias de dominio de dedo de Cn

18	92.0	88.0	88.0	84.0	88.0	80.0	68.0	80.0	72.0	76.0	80.0	80.0	72.0	92.0	76.0	72.0	96.0	
17	0.88	88.0	84.0	80.0	88.0	80.0	0.89	80.0	72.0	80.0	0.97	0.97	72.0	88.0	72.0	72.0		0.96
16	76.0	72.0	80.0	76.0	72.0	76.0	68.0	80.0	72.0	76.0	76.0	76.0	76.0	76.0	88.0		80.0	76.0
15	84.0	76.0	88.0	80.0	72.0	76.0	72.0	84.0	80.0	80.0	88.0	88.0	80.0	84.0		88.0	80.0	84.0
14	84.0	80.0	80.0	80.0	80.0	76.0	64.0	84.0	80.0	84.0	88.0	88.0	80.0		92.0	80.0	88.0	92.0
13	76.0	72.0	76.0	76.0	72.0	76.0	0.09	80.0	84.0	92.0	88.0	88.0		88.0	92.0	88.0	80.0	80.0
12	88.0	80.0	84.0	80.0	76.0	76.0	64.0	88.0	92.0	92.0	100.0		88.0	0.96	0.96	84.0	84.0	0.88
11	88.0	80.0	84.0	80.0	76.0	0.97	64.0	88.0	92.0	92.0		100.0	88.0	0.96	0.96	84.0	84.0	0.88
10	80.08	76.0	76.0	76.0	76.0	76.0	0.09	84.0	88.0		92.0	92.0	92.0	92.0	88.0	88.0	88.0	84.0
0	80.0	76.0	76.0	72.0	72.0	72.0	0.09	88.0		92.0	96.0	0.96	88.0	92.0	92.0	84.0	84.0	84.0
∞	88.0	84.0	84.0	80.0	80.0	80.0	68.0		100.0	92.0	96.0	0.96	88.0	92.0	92.0	84.0	84.0	84.0
7	72.0	0.97	72.0	0.89	0.89	0.89		0.08	0.08	76.0	80.0	0.08	76.0	80.0	0.08	76.0	84.0	84.0
9	84.0	80.0	84.0	92.0	84.0		80.0	80.0	80.0	84.0	80.0	80.0	88.0	80.0	84.0	84.0	88.0	84.0
2	88.0	92.0	84.0	84.0		84.0	84.0	80.0	0.08	84.0	80.0	0.08	76.0	88.0	16.0	76.0	100.0	0.96
4	88.0	80.0	88.0		88.0	0.96	80.0	80.0	80.0	80.0	84.0	84.0	84.0	84.0	88.0	84.0	88.0	92.0
m	0.96	88.0		0.96	84.0	88.0	84.0	84.0	84.0	0.08	88.0	88.0	84.0	84.0	92.0	84.0	88.0	92.0
2	92.0		88.0	84.0	92.0	80.0	92.0	84.0	84.0	80.0	84.0	84.0	76.0	88.0	0.08	76.0	0.96	0.96
\vdash		92.0	96.0	92.0	88.0	84.0	84.0	88.0	88.0	84.0	92.0	92.0	80.0	88.0	88.0	80.0	92.0	96.0
	1.SEC ID N°2	2.SEC ID N°11	3.SEC ID N°13	4.SEC ID N°15	5.SEC ID N°17	6.SEC ID N°19	7.SEC ID N°21	8.SEC ID N°23	9.SEC ID N°25	10.SEC ID N°27	11.SEC ID N°29	12.SEC ID N°31	13.SEC ID N°33	14.SEC ID N°35	15.SEC ID N°37	16.SEC ID N°39	17.SEC ID N°41	18.SEC ID N°43

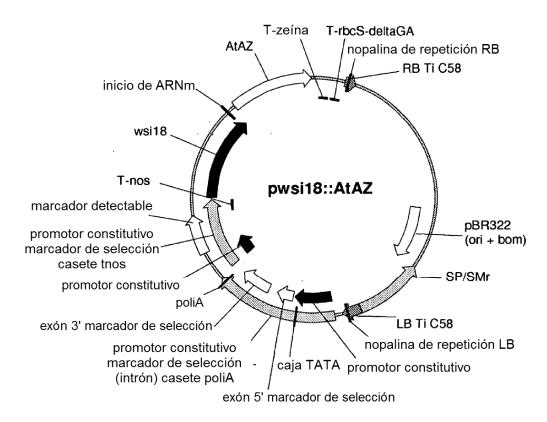


FIGURA 4