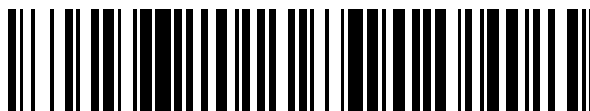


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 531 391**

51 Int. Cl.:

C12N 9/02 (2006.01)

C12N 15/82 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.10.2007 E 09175508 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **10.12.2014 EP 2177605**

54 Título: **Delta-5 desaturasas y procedimiento para la preparación de ácidos grasos poliinsaturados en organismos transgénicos no humanos**

30 Prioridad:

06.10.2006 EP 06121888

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

13.03.2015

73 Titular/es:

**BASF PLANT SCIENCE GMBH (100.0%)
67056 Ludwigshafen, DE**

72 Inventor/es:

**BAUER, JÖRG, DR. y
WETJEN, TOM, DR.-ING.**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 531 391 T3

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

DESCRIPCIÓN

Delta-5 desaturasas y procedimiento para la preparación de ácidos grasos poliinsaturados en organismos transgénicos no humanos

5 La presente descripción se refiere a polinucleótidos de *Ostreococcus lucimarinus* que codifican desaturasas y elongasas y que se pueden emplear para la producción recombinante de ácidos grasos poliinsaturados. Además, la invención se refiere a vectores, células huésped y organismos transgénicos no humanos que contienen los polinucleótidos así como los polipéptidos codificados por los polinucleótidos. Finalmente, la invención se refiere también a procedimientos de preparación para los ácidos grasos poliinsaturados y para composiciones de aceites, lípidos y ácidos grasos.

10 Los ácidos grasos y triacilglicéridos tienen múltiples aplicaciones en la industria alimentaria, la alimentación animal, la cosmética y en la industria farmacéutica. En función de si se trata de ácidos grasos saturados e insaturados libres o de triacilglicéridos con un mayor contenido de ácidos grasos saturados o insaturados son adecuados para las más diversas aplicaciones. Los ácidos grasos poliinsaturados tales como ácido linoleico y linolénico son esenciales para los mamíferos, ya que no se pueden producir por los mismos. Por tanto, los ácidos grasos ω -3 y ácidos grasos ω -6
15 poliinsaturados representan un constituyente importante de la alimentación animal y humana.

Los ácidos grasos ω -3 de cadena larga poliinsaturados tales como ácido eicosapentaenoico (= EPA, C20:5^{A5,8,11,14,17}) o ácido docosahexaenoico (=DHA, c22:6^{A4,7,10,13,16,19}) son importantes componentes de la alimentación humana a causa de sus distintos papeles en la salud, que comprenden aspectos tales como el desarrollo del cerebro infantil, la funcionalidad del ojo, la síntesis de hormonas y otras sustancias señal así como la prevención de afecciones
20 cardiovasculares, cáncer y diabetes (Poulos, A Lipids 30: 1-14, 1995; Horrocks, LA y Yeo YK Pharmacol Res 40: 211-225, 1999). Por este motivo existe una demanda en cuanto a la producción de ácidos grasos de cadena larga poliinsaturados.

A causa de la composición habitual actualmente de la alimentación humana es particularmente importante una adición al alimento de ácidos grasos ω -3 poliinsaturados que aparecen preferentemente en aceites de pescado. De este modo se añaden, por ejemplo, ácidos grasos poliinsaturados tales como ácido docosahexaenoico (=DHA, c22:6^{A4,7,10,13,16,19}) o ácido eicosapentaenoico (= EPA, C20:5^{A5,8,11,14,17}) a alimentos para bebés para aumentar el valor nutritivo. A este respecto, al ácido graso insaturado DHA se le atribuye un efecto positivo en el desarrollo y el mantenimiento de funciones cerebrales. En lo sucesivo, los ácidos grasos poliinsaturados se denominan PUFA, PUFAs, LCPUFA o LCPUFAs (poly unsaturated fatty acids, PUFA, ácidos grasos poliinsaturados; long chain poly unsaturated fatty acids, LCPUFA, ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga).
25
30

Principalmente, los distintos ácidos grasos y triglicéridos se obtienen de microorganismos tales como *Mortierella* o *Schizochytrium* o de plantas productoras de aceite tales como soja, colza, algas tales como *Cryptocodinium* o *Phaeodactylum* y otras, produciéndose por norma general en forma de sus triacilglicéridos (= triglicéridos = trigliceroles). Pero también se pueden obtener de animales tales como, por ejemplo, peces. Los ácidos grasos libres se preparan ventajosamente mediante saponificación. Los ácidos grasos poliinsaturados de cadena muy larga, tales como DHA, EPA, ácido araquidónico (= ARA, C20:4^{A5,8,11,4}), ácido dihomo- γ -linolénico (C20:3^{A8,11,4}) o ácido docosapentaenoico (DPA, C22:5^{A7,10,13,16,19}) no se sintetizan en plantas de frutos oleaginosos tales como colza, soja, girasol, azafranillo. Son fuentes naturales habituales de estos ácidos grasos pescados tales como arenque, salmón, sardina, gallineta nórdica, anguila, carpa, trucha, rodaballo, caballa, lucio perca o atún o algas.
35

40 En función del fin de aplicación se prefieren aceites con ácidos grasos saturados o insaturados. De este modo se prefieren, por ejemplo, en la alimentación humana lípidos con ácidos grasos insaturados, especialmente ácidos grasos poliinsaturados. A los ácidos grasos ω -3 poliinsaturados, a este respecto, se le atribuye un efecto positivo en el nivel de colesterol en sangre y, por tanto, en la posibilidad de la prevención de una enfermedad cardíaca. Gracias a la adición de estos ácidos grasos ω -3 a la alimentación se puede reducir claramente el riesgo de una enfermedad cardíaca, de una apoplejía o de hipertensión. También se puede influir positivamente en procesos inflamatorios, especialmente inflamatorios crónicos en el marco de enfermedades inmunológicas tales como artritis reumatoide mediante ácidos grasos ω -3. Por tanto, se añaden a los alimentos, especialmente a los alimentos dietéticos o se aplican en medicamentos. Los ácidos grasos ω -6 tales como ácido araquidónico en el caso de estas enfermedades reumáticas a causa de la composición habitual de nuestros alimentos tienen más bien un efecto negativo sobre estas enfermedades.
45
50

Los ácidos grasos ω -3 y ω -6 son precursores de hormonas tisulares, los denominados eicosanoides tales como las prostaglandinas que se derivan del ácido dihomo- γ -linolénico, del ácido araquidónico y del ácido eicosapentaenoico, los tromboxanos y los leucotrienos que se derivan del ácido araquidónico y del ácido eicosapentaenoico. Los eicosanoides (la denominada serie PG₂) que se forman a partir de ácidos grasos ω -6, por norma general, favorecen reacciones inflamatorias, mientras que los eicosanoides (la denominada serie PG₃) de ácidos grasos ω -3 tienen un efecto reducido o ninguno en absoluto de favorecimiento de la inflamación.
55

A causa de sus propiedades positivas, en el pasado no han faltado intentos de poner a disposición genes que intervienen en la síntesis de ácidos grasos o triglicéridos para la producción de aceites en distintos organismos con un contenido modificado de ácidos grasos insaturados. De este modo, en el documento WO 91/13972 y su equivalente de Estados Unidos se describe una Δ -9-desaturasa. En el documento WO 93/11245 se reivindica una Δ -15-desaturasa, en el documento WO 94/11516 una Δ -12-desaturasa. Otras desaturasas se describen, por ejemplo, en los documentos EP-A-0 550 162, WO 94/18337, WO 97/30582, WO 97/21340, WO 95/18222, EP-A-0 794 250, Stukey y col., J. Biol. Chem., 265, 1990: 20144-20149, Wada y col., Nature 347, 1990: 200-203 o Huang y col., Lipids 34, 1999: 649-659. Sin embargo, la caracterización bioquímica de las distintas desaturasas hasta ahora se ha realizado solo insuficientemente, ya que las enzimas como proteínas unidas a membrana solo se pueden aislar y caracterizar con dificultad (McKeon y col., Methods in Enzymol. 71, 1981: 12141-12147, Wang y col., Plant Physiol. Biochem., 26, 1988: 777-792). Por norma general, la caracterización de desaturasas unidas a membrana se realiza mediante introducción en un organismo adecuado que, a continuación, se examina en relación con actividad enzimática mediante análisis de reactante y producto. Las Δ -6-desaturasas se describen en los documentos WO 93/06712, US 5.614.393, US5614393, WO 96/21022, WO00/21557 y WO 99/27111 y también se describe la aplicación para la producción en organismos transgénicos como en los documentos WO98/46763, WO98/46764, WO9846765. A este respecto se describe y reivindica también la expresión de distintas desaturasas tal como en el documento WO99/64616 o el documento WO98/46776 y la formación de ácidos grasos poliinsaturados. En relación con la eficacia de la expresión de desaturasas y su influencia sobre la formación de ácidos grasos poliinsaturados se ha de señalar que mediante la expresión de una única desaturasa, tal como se ha descrito hasta ahora, se han conseguido únicamente contenidos reducidos de ácidos grasos insaturados/lípidos tales como, por ejemplo, ácido γ -linolénico y ácido estearidónico. Además, por norma general se ha obtenido una mezcla de ácidos grasos ω -3 y ω -6.

Son microorganismos particularmente adecuados para la producción de PUFA microorganismos tales como microalgas, tales como *Phaeodactylum tricornutum*, especies de *Porphyridium*, especies de *Thraustochytrium*, especies de *Schizochytrium* o especies de *Crypthecodinium*, ciliados tales como *Stylonychia* o *Colpidium*, hongos tales como *Mortierella*, *Entomophthora* o *Mucor* y/o musgos tales como *Physcomitrella*, *Ceratodon* y *Marchantia* (R. Vazhappilly y F. Chen (1998) Botanica Marina 41: 553-558; K. Totani y K. Oba (1987) Lipids 22: 1060-1062; M. Akimoto y col. (1998) Appl. Biochemistry and Biotechnology 73: 269-278). Mediante selección de cepas se ha desarrollado una cantidad de cepas mutantes de los correspondientes microorganismos que producen una serie de compuestos deseables, incluyendo PUFA. La mutación y selección de cepas con producción mejorada de una determinada molécula, tal como los ácidos grasos poliinsaturados, sin embargo es un procedimiento que requiere tiempo y difícil. Por tanto se prefieren, siempre que sea posible, procedimientos de ingeniería genética tal como se ha descrito anteriormente. Sin embargo, con ayuda de los microorganismos que se han mencionado anteriormente se pueden producir solo cantidades limitadas de los ácidos grasos poliinsaturados deseados tales como DPA, EPA o ARA. Los mismos se producen, por norma general, en función del microorganismo usado como mezclas de ácidos grasos de, por ejemplo, EPA, DPA y ARA.

Para la síntesis de ácido araquidónico, ácido eicosapentaenoico (EPA) y ácido docosahexaenoico (DHA) se discuten distintas vías de síntesis. De este modo se realiza la producción de EPA o DHA en bacterias marinas tales como *Vibrio* sp. o *Shewanella* sp. según la vía de los policétidos (Yu, R. y col. Lipids 35: 1061-1064, 2000; Takeyama, H. y col. Microbiology 143: 2725-2731, 1997).

Una estrategia alternativa discurre a través de la actividad cambiante de desaturasas y elongasas (Zank, T. K. y col. Plant Journal 31: 255-268, 2002; Sakuradani, E. y col. Gene 238: 445-453, 1999). Una modificación de la vía descrita a través de Δ 6-desaturasa, Δ 6-elongasa, Δ 5-desaturasa, Δ 5-elongasa, Δ 4-desaturasa es la vía de síntesis de Sprecher (Sprecher 2000, Biochim. Biophys. Acta 1486: 219-231) en mamíferos. En lugar de la Δ 4-desaturación, aquí se produce otra etapa de elongación en C_{24} , otra Δ 6-desaturación y, finalmente, una β -oxidación en la longitud de cadena C_{22} . No obstante, para la producción en plantas y microorganismos, la denominada vía de síntesis de Sprecher no es adecuada, ya que no son conocidos los mecanismos de regulación.

Los ácidos grasos poliinsaturados, correspondientemente a su patrón de desaturación, se pueden dividir en dos grandes clases, en ácidos grasos ω -6 u ω -3 que tienen actividades metabólica y funcionalmente diferentes.

Hace de producto de partida para la vía metabólica de ω -6 el ácido graso ácido linoleico ($18:2^{\Delta 9,12}$), mientras que la vía de ω -3 transcurre a través de ácido linolénico ($18:3^{\Delta 9,12,15}$). A este respecto, el ácido linolénico se forma gracias a la actividad de una ω -3-desaturasa (Tocher y col. 1998, Prog. Lipid Res. 37, 73-117; Domergue y col. 2002, Eur. J. Biochem. 269, 4105-4113). Los mamíferos y, por tanto, también el ser humano no disponen de una actividad desaturasa correspondiente (Δ -12- y ω -3-desaturasa) y tienen que absorber estos ácidos grasos (ácidos grasos esenciales) a través de la alimentación. A través de la secuencia de reacciones de desaturasa y elongasa se sintetizan entonces a partir de estos precursores los ácidos grasos poliinsaturados fisiológicamente importantes ácido araquidónico (= ARA, $20:4^{\Delta 5,8,11,14}$), un ácido graso ω -6 y los dos ácidos grasos ω -3 ácido eicosapentaenoico (= EPA, $20:5^{\Delta 5,8,11,14,17}$) y docosahexaenoico (DHA, $22:6^{\Delta 4,7,10,13,17,19}$). La administración de ácidos grasos ω -3 muestra a este respecto el efecto terapéutico tal como se ha descrito anteriormente en el tratamiento de enfermedades cardiovasculares (Shimikawa 2001, World Rev. Nutr. Diet. 88, 100-108), inflamaciones (Calder 2002, Proc. Nutr. Soc. 61, 345-358) y artritis (Cleland y James 2000, J. Rheumatol. 27, 2305-2307).

La prolongación de ácidos grasos por elongasas en 2 o 4 átomos de C es de importancia decisiva para la producción de PUFA C₂₀ o C₂₂. Este proceso transcurre a través de 4 pasos. La primera etapa representa la condensación de malonil-CoA al ácido graso-acil-CoA mediante la cetoacil-CoA-sintasa (KCS, denominada en el texto sucesivo elongasa). Entonces le sigue una etapa de reducción (cetoacil-CoA-reductasa, KCR), una etapa de deshidratación (deshidratasa) y una etapa de reducción final (enoil-CoA-reductasa). Se planteó la hipótesis de que la actividad de la elongasa influye en la especificidad y la velocidad de todo el proceso (Millar y Kunst, 1997 Plant Journal 12: 121-131).

En el pasado se han efectuado numerosos intentos de obtener genes de elongasa. Millar y Kunst, 1997 (Plant Journal 12: 121-131) y Millar y col. 1999, (Plant Cell 11: 825-838) describen la caracterización de elongasas vegetales para la síntesis de ácidos grasos de cadena larga monoinsaturados (C22:1) o para la síntesis de ácidos grasos de cadena muy larga para la formación de cera en plantas (C₂₈-C₃₂). Se encuentran descripciones para la síntesis de ácido araquidónico y EPA, por ejemplo, en los documentos WO0159128, WO0012720, WO02077213 y WO0208401. La síntesis de ácidos grasos C₂₄ poliinsaturados está descrita, por ejemplo, en Tvrdik y col 2000, JCB 149: 707-717 o el documento WO0244320.

Para la producción de DHA (C22:6 n-3) en organismos que no producen de forma natural este ácido graso hasta ahora no se ha descrito ninguna elongasa específica. Hasta ahora solo se han descrito elongasas que facilitan ácidos grasos C₂₀ o C₂₄. Hasta ahora no se ha descrito una actividad Δ -5-elongasa.

Las plantas superiores contienen ácidos grasos poliinsaturados tales como ácido linoleico (C18:2) y ácido linolénico (C18:3). El ARA, EPA y DHA no aparecen en absoluto en aceite de semillas de plantas superiores o solamente aparecen en trazas (E. Ucciani: Nouveau Dictionnaire des Huiles Vegetales. Technique & Documentation - Lavoisier, 1995. ISBN: 2-7430-0009-0). Sin embargo, sería ventajoso producir en plantas superiores, preferentemente en semillas de oleaginosas tales como colza, lino, girasol y soja, LCPUFA ya que, de este modo, se pueden obtener económicamente grandes cantidades de LCPUFA cualitativamente de alta calidad para la industria alimentaria, la alimentación animal y para fines farmacéuticos. Para esto, ventajosamente, se tienen que introducir a través de procedimientos de ingeniería genética genes que codifiquen enzimas de la biosíntesis de LCPUFA en semillas de oleaginosas y expresarse. Estos son genes que codifican, por ejemplo, Δ -6-desaturasas, Δ -6-elongasas, Δ -5-desaturasas o Δ -4-desaturasas. Estos genes se pueden aislar ventajosamente de microorganismos y de plantas inferiores que producen LCPUFA y que los incluyen en las membranas o triacilglicéridos. De este modo se han podido aislar ya genes de Δ -6-desaturasa del musgo *Physcomitrella patens* y genes de Δ -6-elongasa de *P. patens* y del nematodo *C. elegans*.

Las primeras plantas transgénicas que contienen genes que codifican enzimas de la biosíntesis de LCPUFA y que expresan las mismas y que producen LCPUFA se describieron por primera vez, por ejemplo, en el documento DE 102 19 203 (procedimiento para la producción de ácidos grasos poliinsaturados en plantas). No obstante, estas plantas producen LCPUFA en cantidades que todavía se tienen que continuar optimizando para un tratamiento de los aceites contenidos en las plantas.

Para posibilitar un enriquecimiento del alimento y del pienso con estos ácidos grasos poliinsaturados, por tanto, existe una gran demanda de agentes y medidas para una producción económica, sencilla de estos ácidos grasos poliinsaturados, especialmente en sistemas eucariotas. Por tanto, el objetivo en el que se basa la presente invención sería facilitar tales agentes y medidas. El objetivo se consigue mediante las formas de realización que se describen en las reivindicaciones y en lo sucesivo.

Por tanto, la presente invención se refiere a un polinucleótido que comprende una secuencia de ácido nucleico que está seleccionada del grupo compuesto de:

(a) secuencia de ácido nucleico como se muestra en la SEC ID N°: 9;

(b) secuencia de ácido nucleico que codifica un polipéptido que presenta una secuencia de aminoácidos como se muestra en la SEC ID N°: 10;

(c) secuencia de ácido nucleico que codifica un polipéptido que tiene una identidad de al menos el 85 % con un polipéptido que se codifica por las secuencias de ácido nucleico de (a) o (b), presentando el polipéptido actividad desaturasa o elongasa; y

(d) secuencia de ácido nucleico para un fragmento con al menos 500 nucleótidos sucesivos de un ácido nucleico de (a), (b) o (c), codificando el fragmento un polipéptido con una actividad desaturasa o elongasa.

El término "polinucleótido" se refiere a polinucleótidos que comprenden secuencias de ácido nucleico que codifican polipéptidos con actividad desaturasa o elongasa. Las actividades desaturasa o elongasa se necesitan, preferentemente, para la biosíntesis de lípidos o ácidos grasos. De forma particularmente preferente se trata de las siguientes actividades desaturasa o elongasa: Δ -4-desaturasa, Δ -5-desaturasa, Δ -5-elongasa, Δ -6-desaturasa, Δ -6-elongasa o Δ -12-desaturasa. Las desaturasas y/o elongasas intervienen preferentemente en la síntesis de ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) y, de forma particularmente preferente, en la síntesis de PUFA de cadena larga

(LCPUFA). Están descritos sistemas de comprobación adecuados para las actividades desaturasa o elongasa en los ejemplos o en el documento WO2005/083053. De forma particularmente preferente, en el caso de las actividades que se han mencionado anteriormente en relación con especificidades de sustrato e índices de transformación se trata las de las respectivas enzimas de *Ostreococcus lucimarinus*. Los polinucleótidos específicos, es decir, los polinucleótidos con una secuencia de ácido nucleico de acuerdo con la SEC ID N^o: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 o 15 se han obtenido de *Ostreococcus lucimarinus*.

En particular, por tanto, son polinucleótidos:

Polinucleótidos que codifican un polipéptido con actividad Δ -12-desaturasa y que comprenden (i) una secuencia de ácido nucleico, tal como se muestra en la SEC ID N^o: 1 o 3, que comprenden (ii) una secuencia de ácido nucleico que codifica un polipéptido tal como se muestra en la SEC ID N^o: 2 o 4, que comprenden (iii) una secuencia de ácido nucleico que tiene una identidad de al menos el 83 % con una de las secuencias de ácido nucleico de (i) o (ii) o (iv) una secuencia de ácido nucleico de un fragmento de un ácido nucleico de (i), (ii) o (iii).

Polinucleótidos que codifican un polipéptido con actividad Δ -4-desaturasa y que comprenden (i) una secuencia de ácido nucleico, tal como se muestra en la SEC ID N^o: 5, que comprenden (ii) una secuencia de ácido nucleico que codifica un polipéptido tal como se muestra en la SEC ID N^o: 6, que comprenden (iii) una secuencia de ácido nucleico que tiene una identidad de al menos el 72 % con una de las secuencias de ácido nucleico de (i) o (ii) o (iv) una secuencia de ácido nucleico de un fragmento de un ácido nucleico de (i), (ii) o (iii).

Polinucleótidos que codifican un polipéptido con actividad Δ -5-desaturasa y que comprenden (i) una secuencia de ácido nucleico, tal como se muestra en la SEC ID N^o: 7 o 9, que comprenden (ii) una secuencia de ácido nucleico que codifica un polipéptido tal como se muestra en la SEC ID N^o: 8 o 10, que comprenden (iii) una secuencia de ácido nucleico que tiene una identidad de al menos el 72 % con una de las secuencias de ácido nucleico de (i) o (ii) o (iv) una secuencia de ácido nucleico de un fragmento de un ácido nucleico de (i), (ii) o (iii).

Polinucleótidos que codifican un polipéptido con actividad Δ -5-elongasa y que comprenden (i) una secuencia de ácido nucleico, tal como se muestra en la SEC ID N^o: 11, que comprenden (ii) una secuencia de ácido nucleico que codifica un polipéptido tal como se muestra en la SEC ID N^o: 12, que comprenden (iii) una secuencia de ácido nucleico que tiene una identidad de al menos el 78 % con una de las secuencias de ácido nucleico de (i) o (ii) o (iv) una secuencia de ácido nucleico de un fragmento de un ácido nucleico de (i), (ii) o (iii).

Polinucleótidos que codifican un polipéptido con actividad Δ -6-desaturasa y que comprenden (i) una secuencia de ácido nucleico, tal como se muestra en la SEC ID N^o: 13, que comprenden (ii) una secuencia de ácido nucleico que codifica un polipéptido tal como se muestra en la SEC ID N^o: 14, que comprenden (iii) una secuencia de ácido nucleico que tiene una identidad de al menos el 72 % con una de las secuencias de ácido nucleico (i) o (ii) o (iv) una secuencia de ácido nucleico de un fragmento de ácido nucleico de (i), (ii) o (iii).

Polinucleótidos que codifican un polipéptido con actividad Δ -6-elongasa y que comprenden (i) una secuencia de ácido nucleico, tal como se muestra en la SEC ID N^o: 15, que comprenden (ii) una secuencia de ácido nucleico que codifica un polipéptido tal como se muestra en la SEC ID N^o: 16, que comprenden (iii) una secuencia de ácido nucleico que tiene una identidad de al menos el 71 % con una de las secuencias de ácido nucleico de (i) o (ii) o (iv) una secuencia de ácido nucleico de un fragmento de un ácido nucleico de (i), (ii) o (iii).

Se entiende que las secuencias específicas que se han mencionado anteriormente en vista del código genético degenerado también se pueden cambiar, codificándose por los polinucleótidos modificados todavía polipéptidos con una secuencia de aminoácidos de acuerdo con una de las SEC ID N^o: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14 o 16 que presentan las actividades desaturasa o elongasa que se han mencionado anteriormente.

El término "polinucleótido" comprende también variantes de los polinucleótidos específicos que se han mencionado anteriormente. En este caso se puede tratar de secuencias homólogas, ortólogas o parálogas. Tales variantes comprenden secuencias de ácido nucleico que presentan al menos una sustitución de bases, una adición de bases o una delección de bases, habiendo de codificar las variantes todavía un polipéptido con la actividad biológica que se ha mencionado anteriormente de la respectiva secuencia de partida. Las variantes comprenden polinucleótidos que pueden hibridar con los polinucleótidos que se han mencionado anteriormente, con preferencia en condiciones rigurosas. Las condiciones rigurosas particularmente preferentes son conocidas por el experto y se pueden encontrar en Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, N. Y. (1989), 6.3.1-6.3.6. Un ejemplo preferente de condiciones de hibridación rigurosas son hibridaciones en 6 x cloruro sódico/citrato sódico (sodium chloride/sodium citrate = SSC) a aproximadamente 45 °C, seguido de una o varias etapas de lavado en 0,2 x SSC, 0,1 % de SDS a de 50 a 65 °C. El experto sabe que estas condiciones de hibridación se diferencian en función del tipo de ácido nucleico y, cuando existen por ejemplo disolventes orgánicos, en relación con la temperatura y la concentración del tampón. La temperatura se diferencia, por ejemplo, en "condiciones de hibridación convencionales" en función del tipo del ácido nucleico entre 42 °C y 58 °C en tampón acuoso con una concentración de 0,1 a 5 x SSC (pH 7,2). En caso de que esté presente disolvente orgánico en el tampón que se ha mencionado anteriormente, por ejemplo, el 50 % de formamida, la temperatura en condiciones convencionales es aproximadamente 42 °C. Preferentemente, las condiciones de hibridación para híbridos de ADN:ADN son, por

ejemplo, 0,1 x SSC y de 20 °C a 45 °C, preferentemente entre 30 °C y 45 °C. Preferentemente, las condiciones de hibridación para híbridos de ADN:ARN son, por ejemplo, 0,1 x SSC y de 30 °C a 55 °C, preferentemente entre 45 °C y 55 °C. Las temperaturas de hibridación que se han mencionado anteriormente están determinadas, por ejemplo, para un ácido nucleico con aproximadamente 100 pb (= pares de bases) de longitud y un contenido de G + C del 50 % en ausencia de formamida. El experto sabe cómo se pueden determinar las condiciones de hibridación requeridas mediante libros de texto, tal como el que se ha mencionado anteriormente o de los siguientes libros de texto Sambrook y col., "Molecular Cloning", Cold Spring Harbor Laboratory, 1989; Hames y Higgins (ed.) 1985, "Nucleic Acids Hybridization: A Practical Approach", IRL Press at Oxford University Press, Oxford; Brown (ed.) 1991, "Essential Molecular Biology: A Practical Approach", IRL Press at Oxford University Press, Oxford. Como alternativa se pueden facilitar variantes de los polinucleótidos específicos también mediante procedimientos basados en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Para esto se pueden derivar en primer lugar cebadores de secuencias conservadas (por ejemplo, secuencias que codifican dominios funcionales en el polipéptido). Se pueden establecer secuencias conservadas mediante comparaciones de secuencia con polinucleótidos que codifican polipéptidos con actividad similar. Como molde se puede usar ADN o ADNc de bacterias, hongos, plantas o animales. Los fragmentos de ADN que se han obtenido mediante la PCR se pueden usar para la exploración de bibliotecas genómicas o de ADNc correspondientes para aislar, en caso necesario, las fases de lectura abierta completas del polinucleótido y establecerlas mediante secuenciación. Otras variantes comprenden polinucleótidos que comprenden una secuencia de ácido nucleico que tiene una identidad de al menos el 70 %, al menos el 75 %, al menos el 80 %, al menos el 81 %, al menos el 82 %, al menos el 83 %, al menos el 84 %, al menos el 85 %, al menos el 86 %, al menos el 87 %, al menos el 88 %, al menos el 89 %, al menos el 90 %, al menos el 91 %, al menos el 92 %, al menos el 93 %, al menos el 94 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 % o al menos el 99 % o con otro porcentaje mencionado en el presente documento con una de las secuencias de ácido nucleico específicas que se han mencionado anteriormente y que codifica un polipéptido con la respectiva actividad biológica. También están comprendidos polinucleótidos que comprenden secuencias de ácido nucleico que codifican un polipéptido con una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de al menos el 70 %, al menos el 75 %, al menos el 80 %, al menos el 81 %, al menos el 82 %, al menos el 83 %, al menos el 84 %, al menos el 85 %, al menos el 86 %, al menos el 87 %, al menos el 88 %, al menos el 89 %, al menos el 90 %, al menos el 91 %, al menos el 92 %, al menos el 93 %, al menos el 94 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 % o al menos el 99 % o con otro porcentaje mencionado en el presente documento con una de las secuencias de aminoácidos específicas que se han mencionado anteriormente y presentando el polipéptido la respectiva actividad biológica de la secuencia de partida. El porcentaje de nucleótidos o aminoácidos idénticos se refiere, preferentemente, a una sección de secuencia de al menos el 50 % de las secuencias que van a compararse y, de forma particularmente preferente, a lo largo de toda la longitud de las secuencias que van a compararse. Están descritos en el estado de la técnica y están disponibles en el mercado múltiples programas que implementan algoritmos para tales comparaciones. En particular se hace referencia a los algoritmos de Needleman y Wunsch o Smith y Waterman que proporcionan resultados particularmente fiables. Se pueden implementar estos algoritmos preferentemente mediante los siguientes programas PileUp (J. Mol. Evolution., 25, 351-360, 1987, Higgins y col., CABIOS, 5 1989: 151-153), Gap y BestFit (Needleman y Wunsch (J. Mol. Biol. 48; 443-453 (1970)) y Smith y Waterman (Adv. Appl. Math. 2; 482-489 (1981))), como parte del software GCG [Genetics Computer Group, 575 Science Drive, Madison, Wisconsin, Estados Unidos 53711 (1991)]. De forma particularmente preferente se determina el porcentaje (%) de la identidad de secuencia en el marco de la presente invención con el programa GAP a través de toda la secuencia con las siguientes variables establecidas: peso de hueco: 50, peso de longitud: 3, coincidencia promedio: 10.000 y desemparejamiento promedio: 0.000.

Un polinucleótido que comprende únicamente un fragmento de las secuencias de ácido nucleico que se han mencionado anteriormente también es un polinucleótido. En este caso, el fragmento ha de codificar un polipéptido que presenta la actividad biológica de la secuencia de partida o del polipéptido codificado por la misma. Por tanto, los polipéptidos que son codificados por tales polinucleótidos comprenden o consisten en dominios de los polipéptidos específicos que se han mencionado anteriormente (polipéptidos de partida) que transmiten la actividad biológica. Un fragmento en el sentido de la invención comprende preferentemente al menos 500 nucleótidos sucesivos de las secuencias específicas que se han mencionado anteriormente.

Las variantes de polinucleótido presentan preferentemente al menos el 10 %, al menos el 20 %, al menos el 30 %, al menos el 40 %, al menos el 50 %, al menos el 60 %, al menos el 70 %, al menos el 80 % o al menos el 90 % de la respectiva actividad biológica del polipéptido que es codificado por la secuencia de partida. Es decir, los polipéptidos que son codificados por los polinucleótidos pueden participar en el metabolismo de compuestos necesarios para generar ácidos grasos, ésteres de ácidos grasos tales como diacilglicéridos y/o triacilglicéridos en un organismo, preferentemente en una planta o célula vegetal, o en el transporte de moléculas a través de membranas, queriéndose decir cadenas de hidrocarburo C₁₈, C₂₀ o C₂₂ en la molécula de ácido graso con enlaces dobles en al menos dos, ventajosamente tres, cuatro, cinco o seis puntos.

Los polinucleótidos comprenden las secuencias de ácido nucleico específicas que se han mencionado anteriormente o están compuestas de las mismas. Es decir, los polinucleótidos de acuerdo con la invención pueden comprender básicamente también otros nucleótidos. A este respecto se puede tratar, preferentemente, de regiones no traducidas 3' o 5' de la secuencia de ácido nucleico genómica. Las mismas están compuestas preferentemente de al menos 100, 200 o 500 en el extremo 5' y al menos 20, 50 o 100 nucleótidos en el extremo 3' de la región codificante. Otros

polinucleótidos que comprenden secuencias adicionales de ácido nucleico son aquellos que codifican proteínas de fusión. Tales proteínas de fusión pueden codificar adicionalmente a los polipéptidos que se han mencionado anteriormente otros polipéptidos o partes de polipéptidos. En el caso del polipéptido o parte de polipéptido adicional se puede tratar de otras enzimas de la biosíntesis de lípidos o ácidos grasos. Son concebibles también polipéptidos que pueden servir de marcadores para la expresión (proteínas de fluorescencia verde, amarilla, roja, azul, fosfatasa alcalina, entre otros) o las denominadas "etiquetas" como marcadores o como ayuda para la purificación (por ejemplo, etiquetas FLAG, etiquetas de 6-histidina, etiquetas MYC, entre otras).

Las variantes de polinucleótidos se pueden aislar de distintas fuentes naturales o artificiales. Por ejemplo, se pueden generar artificialmente mediante mutagénesis *in vitro* o *in vivo*. Se pueden obtener homólogos u ortólogos de las secuencias específicas de los más diversos animales, plantas o microorganismos. Preferentemente se obtienen de algas. Son particularmente preferentes algas de la familia de las *Prasinophyceae* tal como de los géneros *Heteromastix*, *Mammella*, *Mantoniella*, *Micromonas*, *Nephroselmis*, *Ostreococcus*, *Prasinocladus*, *Prasinococcus*, *Pseudoscourfieldia*, *Pycnococcus*, *Pyramimonas*, *Scherffelia* o *Tetraselmis*, tal como los géneros y las especies *Heteromastix longifillis*, *Mamiella gilva*, *Mantoniella squamata*, *Micromonas pusilla*, *Nephroselmis olivacea*, *Nephroselmis pyriformis*, *Nephroselmis rotunda*, *Ostreococcus tauri*, *Ostreococcus* sp., *Prasinocladus ascus*, *Prasinocladus lubricus*, *Pycnococcus provasolii*, *Pyramimonas amyliifera*, *Pyramimonas disomata*, *Pyramimonas obovata*, *Pyramimonas orientalis*, *Pyramimonas parkeae*, *Pyramimonas spinifera*, *Pyramimonas* sp., *Tetraselmis apiculata*, *Tetraselmis carteriaformis*, *Tetraselmis chui*, *Tetraselmis convolutae*, *Tetraselmis desikacharyi*, *Tetraselmis gracilis*, *Tetraselmis hazeni*, *Tetraselmis impellucida*, *Tetraselmis inconspicua*, *Tetraselmis levis*, *Tetraselmis maculata*, *Tetraselmis marina*, *Tetraselmis striata*, *Tetraselmis subcordiformis*, *Tetraselmis suecica*, *Tetraselmis tetrabrachia*, *Tetraselmis tetrathele*, *Tetraselmis verrucosa*, *Tetraselmis verrucosa* fo. *Rubens* o *Tetraselmis* sp. Ventajosamente, los polinucleótidos proceden de algas de los géneros *Mantonielle* u *Ostreococcus*. También se prefieren algas tales como *Isochrysis* o *Crypthecodinium*, algas/diatomeas tales como *Thalassiosira*, *Phaeodactylum* o *Thraustochytrium*, musgos tales como *Physcomitrella* o *Ceratodon*, se prefieren muy en particular las algas de los géneros *Mantonielle* u *Ostreococcus* o las diatomeas de los géneros *Thalassiosira* o *Crypthecodinium*. Los polinucleótidos se pueden obtener también preferentemente de plantas superiores, tales como las *Primulaceae* tales como *Aleuritia*, *Calendula stellata*, *Osteospermum spinescens* u *Osteospermum hyoseroides*, microorganismos tales como hongos, tales como *Aspergillus*, *Thraustochytrium*, *Phytophthora*, *Entomophthora*, *Mucor* o *Mortierella*, bacterias tales como *Shewanella*, levaduras o animales tales como nematodos, por ejemplo, *Caenorhabditis*, insectos o peces. Las variantes de polinucleótidos proceden también preferentemente de un animal del orden de los vertebrados. De forma particularmente preferente, los polinucleótidos proceden de la clase de los *Vertebrata*; *Euteleostomi*, *Actinopterygii*; *Neopterygii*; *Teleostei*; *Euteleostei*, *Protacanthopterygii*, *Salmoniformes*; *Salmonidae* u *Oncorhynchus* y, de forma muy particularmente preferente, del orden de los *Salmoniformes* tal como la familia de los *Salmonidae*, tal como del género *Salmo*, por ejemplo, de los géneros y las especies *Oncorhynchus mykiss*, *Trutta trutta* o *Salmo trutta fario*. En este caso, los polinucleótidos se pueden aislar mediante técnicas convencionales de biología molecular y la información de secuencia facilitada en el presente documento. También se pueden identificar con ayuda de algoritmos de comparación por ejemplo una secuencia homóloga o regiones de secuencia conservadas homólogas en el plano de ADN o aminoácidos. Las mismas se pueden usar como sonda de hibridación así como técnicas de hibridación convencionales (tal como se describe, por ejemplo, en Sambrook y col., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. 2ª ed., Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 1989) para el aislamiento de otras secuencias de ácido nucleico útiles en el procedimiento. Además se pueden aislar polinucleótidos o fragmentos de los mismos mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) usándose cebadores oligonucleotídicos a base de esta secuencia o de partes de la misma (por ejemplo, una molécula de ácido nucleico que comprende la secuencia completa o una parte de la misma se puede aislar mediante reacción en cadena de la polimerasa mediante el uso de cebadores oligonucleotídicos que se han creado basándose en la misma secuencia). Por ejemplo, se puede aislar ARNm de células (por ejemplo, mediante el procedimiento de extracción con tiocianato de Chirgwin y col. (1979) *Biochemistry* 18: 5294-5299) y ADNc mediante transcriptasa inversa (por ejemplo, transcriptasa inversa Moloney-MLV, disponible en Gibco/BRL, Bethesda, MD, o transcriptasa inversa AMV, disponible en Seikagaku America, Inc., St. Petersburg, FL). Se pueden crear cebadores oligonucleotídicos sintéticos para la amplificación mediante la reacción en cadena de la polimerasa a base de las secuencias de aminoácidos representadas en los números de SEC ID. Un ácido nucleico se puede amplificar mediante el uso de ADNc o, como alternativa, de ADN genómico como molde y cebadores oligonucleotídicos adecuados de acuerdo con técnicas de amplificación por PCR convencionales. El ácido nucleico amplificado de este modo se puede clonar en un vector adecuado y caracterizarse mediante análisis de secuencia de ADN. Los oligonucleótidos que se corresponden con una secuencia de nucleótidos de desaturasa se pueden preparar mediante procedimientos de síntesis convencionales, por ejemplo, con un aparato de síntesis de ADN automático.

Los polinucleótidos se pueden facilitar como polinucleótidos aislados (es decir, aislados de su origen natural, por ejemplo, el locus genómico) o en su forma modificada genéticamente (es decir, los polinucleótidos pueden estar presentes también en su locus genético natural, pero entonces se tienen que modificar genéticamente). Un polinucleótido aislado comprende preferentemente menos 5 kb, 4 kb, 3 kb, 2 kb, 1 kb, 0,5 kb o 0,1 kb de secuencia de ácido nucleico que aparece de forma natural en su vecindad. El polinucleótido de acuerdo con la invención puede estar presente como molécula de ácido nucleico monocatenaria o bicatenaria y ser ADN genómico, ADNc o ARN. Los polinucleótidos comprenden todas las orientaciones de las secuencias indicadas en los números de SEC ID, es

decir, también cadenas complementarias así como orientaciones inversas o complementarias-inversas. Además, la expresión comprende también ácidos nucleicos químicamente modificados, tales como las moléculas de ADN metiladas de origen natural, o ácidos nucleicos artificiales, por ejemplo, ácidos nucleicos biotinilados.

5 También están descritos oligonucleótidos de al menos 15 pb, preferentemente al menos 20 pb, al menos 25 pb, al menos 30 pb, al menos 35 pb o al menos 50 pb que pueden hibridar específicamente con uno de los polinucleótidos que se han mencionado anteriormente en condiciones rigurosas. Los oligonucleótidos pueden estar compuestos de ADN o ARN o ambos. Tales oligonucleótidos pueden usarse como cebador para la PCR, como oligonucleótidos antisentido que inhiben la expresión, para ARN de interferencia (ARNi) o para enfoques de quimero- o genoplastia. Están descritos procedimientos de ARNi, por ejemplo, en Fire y col., Nature (1998) 391: 806-811; Fire, Trends Genet. 15, 358-363 (1999); Sharp, RNA interference 2001. Genes Dev. 15, 485-490 (2001); Hammond y col. Nature Rev. Genet. 2, 1110-1119 (2001); Tuschl, Chem. Biochem. 2, 239-245 (2001); Hamilton y col., Science 286, 950-952 (1999); Hammond y col., Nature 404, 293-296 (2000); Zamore y col., Cell 101, 25-33 (2000); Bernstein y col., Nature 409, 363-366 (2001); Elbashir y col., Genes Dev. 15, 188-200 (2001); documento WO 01/29058; documento WO 99/32619; o Elbashir y col., 2001 Nature 411: 494-498 y sirven para inhibir la expresión génica mediante degradación del ARNm. Los enfoques de quimero- o genoplastia sirven para la modificación *in vivo* (por ejemplo, la inclusión de mutaciones puntuales) en genes en sus loci endógenos. Están desvelados procedimientos correspondientes en los documentos US5.565.350, US5.756.325, US5.871.984, US5.731.181, US5.795.972, US6.573.046, US6.211.351, US6.586.184, US6.271.360 y US6.479.292.

20 Ventajosamente se ha mostrado que los polinucleótidos se pueden emplear de forma particularmente eficaz para la producción recombinante de ácidos grasos poliinsaturados en células huésped y organismos transgénicos. En particular, los polipéptidos codificados por los polinucleótidos con actividad Δ -12-desaturasa, Δ -4-desaturasa, Δ -5-desaturasa, Δ -5-elongasa, Δ -6-desaturasa y Δ -6-elongasa pueden convertir ácidos grasos C_{18} , C_{20} y C_{22} con uno, dos, tres, cuatro o cinco enlaces dobles y preferentemente ácidos grasos C_{18} poliinsaturados con uno, dos o tres enlaces dobles tales como $C_{18}:1^{\Delta 9}$, $C_{18}:2^{\Delta 9,12}$ o $C_{18}:3^{\Delta 9,12,15}$, ácidos grasos C_{20} poliinsaturados con tres o cuatro enlaces dobles tales como $C_{20}:3^{\Delta 8,11,14}$ o $C_{20}:4^{\Delta 8,11,14,17}$ o ácidos grasos C_{22} poliinsaturados con cuatro o cinco enlaces dobles tales como $C_{22}:4^{\Delta 7,10,13,16}$ o $C_{22}:5^{\Delta 7,10,13,16,19}$. Preferentemente, los ácidos grasos se desaturan en fosfolípidos o ésteres de ácidos grasos-CoA, ventajosamente en el éster de ácido graso-CoA. De este modo es posible una producción económica sencilla de estos ácidos grasos poliinsaturados especialmente en sistemas eucariotas. Los ácidos grasos insaturados producidos mediante los polinucleótidos de acuerdo con la invención se pueden formular entonces como composiciones de aceites, lípidos y ácidos grasos y emplearse correspondientemente.

La presente invención se refiere además a un vector que comprende el polinucleótido de acuerdo con la invención.

35 El término "vector" indica una molécula de ácido nucleico que puede transportar otra molécula de ácido nucleico, tal como los polinucleótidos de acuerdo con la invención, a la cual está unida. Un tipo de vector es un plásmido que representa un bucle de ADN bicatenario circular en el que se pueden ligar segmentos de ADN adicionales. Otro tipo de vector es un vector vírico, pudiéndose ligar segmentos de ADN adicionales en el genoma vírico. Determinados vectores se pueden replicar de forma autónoma en una célula huésped en la que se han introducido (por ejemplo, vectores bacterianos con origen de replicación bacteriano). Otros vectores se integran ventajosamente durante la introducción en la célula huésped en el genoma de una célula huésped y, por ello, se replican junto con el genoma del huésped. Además, determinados vectores pueden controlar la expresión de genes con los que están asociados funcionalmente. En el presente documento, estos vectores se denominan también vectores de expresión. Habitualmente, los vectores de expresión que son adecuados para las técnicas de recombinación de ADN tienen la forma de plásmidos. En la presente descripción, los términos plásmido y vector se pueden usar de forma intercambiable, ya que el plásmido es la forma de vector usada más frecuentemente. Sin embargo, la invención ha de comprender estas otras formas de vectores de expresión, tales como vectores víricos que ejercen funciones similares. Además, el término vector ha de comprender también otros vectores que son conocidos por el experto, tales como fagos, virus, tales como SV40, CMV, TMV, transposones, elementos de IS, fásmidos, fagémidos, cósmidos, ADN lineal o circular, cromosomas artificiales. Finalmente, el término comprende también construcciones para la recombinación específica, es decir, homóloga, o la inserción heteróloga de polinucleótidos.

50 Los vectores se pueden introducir en células procariontas o eucariotas mediante técnicas convencionales de transformación o transfección. Los términos "transformación" y "transfección", conjugación y transducción, tal como se usan en el presente documento, han de comprender múltiples procedimientos conocidos en el estado de la técnica para la introducción de ácido nucleico extraño (por ejemplo, ADN) en una célula huésped, incluyendo coprecipitación con fosfato cálcico o cloruro cálcico, transfección mediada por DEAE-dextrano, lipofección, competencia natural, transferencia mediada químicamente, electroporación o bombardeo con partículas. Se pueden encontrar procedimientos adecuados para la transformación o transfección de células huésped, incluyendo células vegetales, en Sambrook y col. (Molecular Cloning: A Laboratory Manual., 2ª ed., Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 1989) y otros manuales de laboratorio tales como Methods in Molecular Biology, 1995, tomo 44, Agrobacterium protocols, editores: Gartland y Davey, Humana Press, Totowa, New Jersey.

El experto en general conoce vectores de clonación adecuados. A esto pertenecen en particular vectores que se pueden replicar en sistemas microbianos, por tanto, sobre todo vectores que garantizan una clonación eficaz en levadura u hongos y que posibilitan la transformación estable de plantas. Se han de mencionar en particular distintos sistemas de vector adecuados para la transformación mediada por ADN-T, binarios y cointegrados. Tales sistemas de vector, por norma general, están caracterizados por que incluyen al menos los genes *vir* necesarios para la transformación mediada por *Agrobacterium* así como las secuencias limitantes de ADN-T (T-DNA-Border). Preferentemente, estos sistemas de vector comprenden también otras regiones de regulación *cis* tales como promotores y terminadores y/o marcadores de selección con los que se pueden identificar correspondientemente organismos transformados. Mientras que en el caso de sistemas de vector co-integrados, los genes *vir* y secuencias de ADN-T están dispuestos sobre el mismo vector, los sistemas binarios se basan en al menos dos vectores, de los cuales uno lleva genes *vir*, pero ningún ADN-T y un segundo, ADN-T, pero ningún gen *vir*. Por ello, los últimos vectores son relativamente pequeños, fáciles de manipular y de replicar tanto en *E. coli* como en *Agrobacterium*. A estos vectores binarios pertenecen vectores de las series pBIB-HYG, pPZP, pBecks, pGreen. Preferentemente de acuerdo con la invención se usan Bin19, pBI101, pBinAR, pGPTV y pCAMBIA. Una compilación de vectores binarios y su uso la indican Hellens y col, Trends in Plant Science (2000) 5, 446-451. Los vectores con los polinucleótidos de acuerdo con la invención insertados se pueden propagar de forma estable en microorganismos, en particular *Escherichia coli* y *Agrobacterium tumefaciens*, en condiciones selectivas y posibilitan una transferencia de ADN heterólogo en plantas o microorganismos. Mediante los vectores de clonación, los polinucleótidos de acuerdo con la invención se pueden introducir en organismos tales como microorganismos o plantas y usarse, por tanto, para la transformación de plantas. Están publicados vectores adecuados para esto en: Plant Molecular Biology and Biotechnology (CRC Press, Boca Raton, Florida), capítulos 6/7, pág. 71-119 (1993); F. F. White, Vectors for Gene Transfer in Higher Plants; en: Transgenic Plants, tomo 1, Engineering and Utilization, ed.: Kung y R. Wu, Academic Press, 1993, 15-38; B. Jenens y col., Techniques for Gene Transfer, en: Transgenic Plants, tomo 1, Engineering and Utilization, ed.: Kung y R. Wu, Academic Press (1993), 128-143; Potrykus, Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Molec. Biol. 42 (1991), 205-225).

Preferentemente, en el caso del vector se trata de un vector de expresión. En el caso del vector de expresión de acuerdo con la invención, el polinucleótido está presente en unión operativa (es decir, funcional) en relación con una secuencia de control de la expresión. La secuencia de control de la expresión, junto con el polinucleótido y opcionalmente otros elementos de secuencia del vector, se denomina también casete de expresión. Gracias a la secuencia de control de la expresión se asegura que se pueda expresar el polinucleótido después de la introducción por transformación o transfección en una célula huésped. La secuencia de control de la expresión que se debe usar contiene, preferentemente, elementos de regulación *cis* tales como secuencias de ácido nucleico de promotor y/o potenciador que son reconocidas por la maquinaria de transfección de las células huésped. La expresión comprende además otros elementos de control de la expresión, por ejemplo, señales de poliadenilación y secuencias que estabilizan el ARN. Estas secuencias de regulación están descritas, por ejemplo, en Goeddel: Gene Expression Technology: Methods in Enzymology 185, Academic Press, San Diego, CA (1990), o véase: Gruber y Crosby, en: Methods in Plant Molecular Biology and Biotechnology, CRC Press, Boca Raton, Florida, ed.: Glick y Thompson, capítulo 7, 89-108, incluyendo las citas bibliográficas de las mismas. Las secuencias de control de la expresión comprenden aquellas que controlan la expresión constitutiva de una secuencia de nucleótidos en muchos tipos de células huésped y aquellas que controlan la expresión directa de la secuencia de nucleótidos solo en determinadas células huésped en determinadas condiciones. El experto sabe que el diseño del vector de expresión puede depender de factores tales como la selección de la célula huésped que se debe transformar, el alcance de la expresión de la proteína deseada, etc. Los polinucleótidos de acuerdo con la invención pueden estar presentes en una o varias copias en el casete de expresión o el vector de expresión de acuerdo con la invención (por ejemplo, en forma de varios casetes de expresión). A este respecto, las secuencias o factores de regulación tal como se ha descrito anteriormente pueden influir positivamente de forma preferente en la expresión génica de los genes introducidos y, por tanto, aumentar la misma. De este modo, una intensificación de los elementos reguladores se puede realizar ventajosamente en el plano de la transcripción al usarse señales de transcripción fuertes tales como promotores y/o "potenciadores". Pero además es posible también una intensificación de la traducción al mejorarse, por ejemplo, la estabilidad del ARNm. Son otras secuencias de control de la expresión en el sentido de la presente invención terminadores de la traducción en el extremo 3' de los polinucleótidos a traducir. En este caso se puede usar, por ejemplo, el terminador OCS1. Al igual que para los promotores, aquí para cada polinucleótido que debe expresarse se debe usar una secuencia de terminador diferente.

Las secuencias de control de la expresión o secuencias de regulación preferentes están presentes en promotores, tales como el promotor *cos*, *tac*, *trp*, *tet*, *trp-tet*, *lpp*, *lac*, *lpp-lac*, *lacIq*, T7, T5, T3, *gal*, *trc*, *ara*, SP6, λ -PR o λ -PL y se aplican ventajosamente en bacterias gram negativas. Están presentes otras secuencias de regulación ventajosas, por ejemplo, en los promotores gram positivos *amy* y SPO2, en los promotores de levadura u hongo ADC1, MF α , AC, P-60, CYC1, GAPDH, TEF, rp28, ADH o en los promotores de plantas CaMV/35S [Franck y col., Cell 21 (1980) 285-294], PRP1 [Ward y col., Plant. Mol. Biol. 22 (1993)], SSU, OCS, *lib4*, *usp*, STLS1, B33, *nos* o en el promotor de ubiquitina o faseolina. En este contexto también son ventajosos promotores inducibles tal como los promotores descritos en el documento EP-A-0 388 186 (inducible por bencilsulfonamida), Plant J. 2, 1992: 397-404 (Gatz y col., inducible por tetraciclina), el documento EP-A-0 335 528 (inducible por ácido abscísico) o el documento WO 93/21334 (inducible por etanol o ciclohexenol). Otros promotores de plantas adecuados son el promotor de la FBPasa citosólica o el promotor ST-LSI de la patata (Stockhaus y col., EMBO J. 8, 1989, 2445), el promotor de la

fosforribosilfosfatoamidotransferasa de *Glycine max* (número de acceso a Genbank U87999) o el promotor específico de nódulos descrito en el documento EP-A-0 249 676. Son promotores particularmente ventajosos los promotores que posibilitan la expresión en tejidos que intervienen en la biosíntesis de ácidos grasos. Son muy particularmente ventajosos los promotores específicos de semillas, tales como el promotor de USP de acuerdo con la realización, pero también otros promotores tales como el promotor de LeB4, DC3, faseolina o napina. Otros promotores particularmente ventajosos son promotores específicos de semillas que se pueden usar para plantas monocotiledóneas o dicotiledóneas y que están descritos en el documento US 5.608.152 (promotor de napina de colza), el documento WO 98/45461 (promotor de oleosina de *Arabidopsis*), el documento US 5.504.200 (promotor de faseolina de *Phaseolus vulgaris*), el documento WO 91/13980 (promotor de Bce4 de *Brassica*), de Bäumlein y col., Plant J., 2, 2, 1992: 233-239 (promotor de LeB4 de una leguminosa), siendo adecuados estos promotores para dicotiledóneas. Los siguientes promotores son adecuados, por ejemplo, para monocotiledóneas, el promotor lpt-2 o lpt-1 de cebada (documentos WO 95/15389 y WO 95/23230), el promotor de hordeína de cebada y otros promotores adecuados descritos en el documento WO 99/16890. En principio es posible usar todos los promotores naturales con sus secuencias de regulación, tal como las mencionadas anteriormente, como secuencias de control de la expresión. También es posible usar adicionalmente o solo promotores sintéticos, en particular, cuando median en una expresión específica de semilla, tal como se describe, por ejemplo, en el documento WO 99/16890.

Para conseguir un contenido particularmente elevado de PUFA, sobre todo en plantas transgénicas, los polinucleótidos de la presente invención deben expresarse preferentemente con especificidad de semilla en semillas de oleaginosas. Para esto se pueden usar promotores específicos de semillas o aquellos promotores que son activos en el embrión y/o en el endospermo. Los promotores específicos de semilla pueden aislarse en principio tanto de plantas dicotiledóneas como de monocotiledóneas. A continuación se indican promotores preferentes ventajosos: USP (= proteína de semilla desconocida (unknown seed protein)) y vicilina (*Vicia faba*) [Bäumlein y col., Mol. Gen Genet., 1991, 225(3)], napina (colza) [documento US 5.608.152], proteína portadora de acilo (colza) [documentos US 5.315.001 y WO 92/18634], oleosina (*Arabidopsis thaliana*) [documentos WO 98/45461 y WO 93/20216], faseolina (*Phaseolus vulgaris*) [documento US 5.504.200], Bce4 [documento WO 91/13980], leguminosas B4 (promotor de LegB4) [Bäumlein y col., Plant J., 2,2, 1992], Lpt2 y Lpt1 (cebada) [documentos WO 95/15389 y WO95/23230], promotores específicos de semillas de arroz, maíz y trigo [documento WO 99/16890], Amy32b, Amy 6-6 y aleaurina [documento US 5.677.474], Bce4 (colza) [documento US 5.530.149], glicinina (soja) [documento EP 571 741], fosfoenol-piruvatocarboxilasa (soja) [documento JP 06/62870], ADR12-2 (soja) [documento WO 98/08962], isocitratoliasa (colza) [documento US 5.689.040] o α -amilasa (cebada) [documento EP 781 849].

La expresión génica en plantas se puede facilitar también a través de un promotor inducible químicamente (véase una revisión en Gatz 1997, Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol., 48: 89-108). Los promotores inducibles químicamente son adecuados en particular cuando se desea que se produzca la expresión génica con especificidad de tiempo. Son ejemplos de tales promotores un promotor inducible por ácido salicílico (documento WO 95/19443), un promotor inducible por tetraciclina (Gatz y col. (1992) Plant J. 2, 397-404) y un promotor inducible por etanol.

Para asegurar una integración estable de los distintos genes de biosíntesis en la planta transgénica a través de varias generaciones, cada uno de los polinucleótidos de acuerdo con la invención debería expresarse bajo el control de un promotor propio, preferentemente uno diferente, ya que los motivos de secuencia repetitivos pueden conducir a inestabilidad del ADN-T o a acontecimientos de recombinación. A este respecto, el casete de expresión está estructurado ventajosamente de tal manera que a un promotor le sigue un punto de corte adecuado para la inserción del ácido nucleico que va a expresarse, ventajosamente en un poliengarce, a continuación eventualmente se encuentra un terminador detrás del poliengarce. Esta secuencia se repite varias veces, preferentemente tres, cuatro o cinco veces, de tal manera que se agrupan hasta cinco genes en una construcción y, de este modo, se pueden introducir para la expresión en la planta transgénica. Ventajosamente se repite la secuencia hasta tres veces. Las secuencias de ácido nucleico se insertan para la expresión a través del punto de corte adecuado, por ejemplo, en el poliengarce, detrás del promotor. Ventajosamente, cada secuencia de ácido nucleico tiene su propio promotor y eventualmente su propio terminador. Tales construcciones ventajosas se desvelan, por ejemplo, en el documento DE 10102337 o DE 10102338. Pero también es posible insertar varias secuencias de ácido nucleico detrás de un promotor y, eventualmente, delante de un terminador. A este respecto, el lugar de inserción o la secuencia de los ácidos nucleicos insertados en el casete de expresión no tiene una importancia decisiva, es decir, una secuencia de ácido nucleico puede estar insertada en primer o último lugar en el casete sin que por ello se influya esencialmente en la expresión. En el casete de expresión se pueden usar ventajosamente diferentes promotores, tales como, por ejemplo, el promotor de USP, LegB4 o DC3 y diferentes terminadores. Pero también es posible usar solamente un tipo de promotor en el casete. Sin embargo, esto puede conducir a acontecimientos de recombinación indeseados.

Los vectores de expresión recombinantes usados pueden estar diseñados para la expresión en células procariontas o eucariotas. Esto es ventajoso ya que con frecuencia se llevan a cabo etapas intermedias de la construcción del vector por motivos de simplicidad en microorganismos. Por ejemplo, los genes de Δ -12-desaturasa, Δ -6-desaturasa, Δ -6-elongasa, Δ -5-desaturasa, Δ -5-elongasa y/o Δ -4-desaturasa se pueden expresar en células bacterianas, células de insecto (mediante el uso de vector de expresión de baculovirus), células de levadura y de otros hongos (véase Romanos, M. A., y col. (1992) "Foreign gene expression in yeast: a review", Yeast 8: 423-488; van den Hondel, C. A. M. J. J., y col. (1991) "Heterologous gene expression in filamentous fungi", en: More Gene Manipulations in Fungi, J. W. Bennet y L. L. Lasure, ed., pág. 396-428: Academic Press: San Diego; y van den Hondel, C. A. M. J. J. y Punt, P.

J. (1991) "Gene transfer systems and vector development for filamentous fungi, en: Applied Molecular Genetics of Fungi, Peberdy, J. F., y col., ed., pág. 1-28, Cambridge University Press: Cambridge), algas (Falciatore y col., 1999, Marine Biotechnology.1, 3: 239-251), ciliados de los tipos: *Holotrichia*, *Peritrichia*, *Spirotrichia*, *Suctorina*, *Tetrahymena*, *Paramecium*, *Colpidium*, *Glaucoma*, *Platyophrya*, *Potomacus*, *Desaturaseudocohnilembus*, *Euplotes*, *Engelmanniella* y *Stylonychia*, en particular del género *Stylonychia lemnae*, con vectores según un procedimiento de transformación tal como se describe en el documento WO 98/01572, así como preferentemente en células de plantas pluricelulares (véase Schmidt, R. y Willmitzer, L. (1988) "High efficiency Agrobacterium tumefaciens-mediated transformation of Arabidopsis thaliana leaf and cotyledon explants" Plant Cell Rep.: 583-586; Plant Molecular Biology and Biotechnology, C Press, Boca Raton, Florida, capítulos 6/7, pág. 71-119 (1993); F. F. White, B. Jenes y col., Techniques for Gene Transfer, en: Transgenic Plants, tomo 1, Engineering and Utilization, ed.: Kung y R. Wu, Academic Press (1993), 128-43; Potrykus, Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Molec. Biol. 42 (1991), 205-225 (y bibliografía citada allí)). Se exponen además células huésped adecuadas en Goeddel, Gene Expression Technology: Methods in Enzymology 185, Academic Press, San Diego, CA (1990). El vector de expresión recombinante como alternativa, por ejemplo mediante el uso de secuencias de regulación del promotor T7 y T7-polimerasa, se puede transcribir y traducir *in vitro*.

La expresión de proteínas en procariontes se realiza la mayoría de las veces con vectores que contienen promotores constitutivos o inducibles que controlan la expresión de proteínas de fusión o de no fusión. Los vectores de expresión de fusión típicos son, entre otros, pGEX (Pharmacia Biotech Inc; Smith, D. B. y Johnson, K. S. (1988) Gene 67: 31-40), pMAL (New England Biolabs, Beverly, MA) y pRIT5 (Pharmacia, Piscataway, NJ), en los que la glutatión-S-transferasa (GST), proteína de unión a maltosa E o proteína A se fusiona a la proteína diana recombinante. Son ejemplos de vectores de expresión de *E. coli* no de fusión inducibles adecuados, entre otros, pTrc (Amann y col. (1988) Gene 69: 301-315) y pET 11d (Studier y col., Gene Expression Technology: Methods in Enzymology 185, Academic Press, San Diego, California (1990) 60-89). La expresión del gen diana del vector pTrc se basa en la transcripción por la ARN polimerasa del huésped por un promotor de fusión híbrido trp-lac. La expresión del gen diana del vector pET 11d se basa en la transcripción de un promotor de fusión T7-gn10-lac, que es mediada por una ARN polimerasa vírica coexpresada (T7 gn1). Esta polimerasa vírica se facilita por las cepas huésped BL21 (DE3) o HMS174 (DE3) por un profago λ residente que alberga un gen de T7 gn1 bajo el control transcripcional del promotor lacUV 5. Otros vectores adecuados en organismos procariontes son conocidos por el experto, estos vectores son, por ejemplo, en *E. coli* pLG338, pACYC184, la serie pBR, tal como pBR322, la serie pUC, tal como pUC18 o pUC19, la serie M113mp, pKC30, pRep4, pHS1, pHS2, pPLc236, pMBL24, pLG200, pUR290, pIN-III113-B1, λ gt11 o pBdCl, en *Streptomyces* pIJ101, pIJ364, pIJ702 o pIJ361, en *Bacillus* pUB110, pC194 o pBD214, en *Corynebacterium* pSA77 o pAJ667.

En otra forma de realización, el vector de expresión es un vector de expresión de levadura. Los ejemplos de vectores para la expresión en la levadura *S. cerevisiae* comprenden pYeDesaturasec1 (Baldari y col. (1987) Embo J. 6: 229-234), pMFa (Kurjan y Herskowitz (1982) Cell 30: 933-943), pJRY88 (Schultz y col. (1987) Gene 54: 113-123) así como pYES2 (Invitrogen Corporation, San Diego, CA). Los vectores y procedimientos para la construcción de vectores que son adecuados para el uso en otros hongos, tales como los hongos filamentosos, comprenden aquellos que se han descrito detalladamente en: van den Hondel, C. A. M. J. J. y Punt, P. J. (1991) "Gene transfer systems and vector development for filamentous fungi, en: Applied Molecular Genetics of fungi, J. F. Peberdy y col., ed., pág. 1-28, Cambridge University Press: Cambridge o en: More Gene Manipulations in Fungi [J. W. Bennet y L. L. Lasure, ed., pág. 396-428: Academic Press: San Diego]. Otros vectores de levadura adecuados son, por ejemplo, pAG-1, YEp6, YEp13 o pEMBLE23.

Como alternativa, los polinucleótidos de la presente invención se pueden expresar también en células de insecto mediante el uso de vectores de expresión de baculovirus. Los vectores de baculovirus que están disponibles para la expresión de proteínas en células de insecto cultivadas (por ejemplo, células Sf9), comprenden la serie pAc (Smith y col. (1983) Mol. Cell Biol. 3: 2156-2165) y la serie pVL (Lucklow y Summers (1989) Virology 170: 31-39).

Los vectores de expresión de plantas preferentes comprenden aquellos que están descritos detalladamente en: Becker, D., Kemper, E., Schell, J. y Masterson, R. (1992) "New plant binary vectors with selectable markers located proximal to the left border", Plant Mol. Biol. 20: 1195-1197; y Bevan, M. W. (1984) "Binary Agrobacterium vectors for plant transformation", Nucl. Acids Res. 12: 8711-8721; Vectors for Gene Transfer in Higher Plants; en: Transgenic Plants, tomo 1, Engineering and Utilization, ed.: Kung y R. Wu, Academic Press, 1993, pág. 15-38. Un casete de expresión de plantas contiene, preferentemente, secuencias de control de la expresión que pueden controlar la expresión génica en células vegetales y que están unidas funcionalmente, de tal manera que cada secuencia puede cumplir su función, tal como la terminación de la transcripción, por ejemplo por señales de poliadenilación. Son señales de poliadenilación preferentes aquellas que proceden del ADN-T de *Agrobacterium tumefaciens*, como el gen 3 conocido como octopinsintasa del plásmido Ti pTiACH5 (Gielen y col., EMBO J. 3 (1984) 835 y siguientes) o equivalentes funcionales del mismo, pero también todos los otros terminadores activos funcionalmente en plantas son adecuados. Ya que la expresión génica de plantas muy frecuentemente no está limitada a los planos de la transcripción, un casete de expresión de plantas contiene ventajosamente otras secuencias unidas funcionalmente, tales como potenciadores de la traducción, por ejemplo la secuencia intensificadora (overdrive) que contiene la secuencia líder no traducida 5' del virus del mosaico del tabaco que aumenta la relación proteína/RNA (Gallie y col., 1987, Nucl. Acids Research 15: 8693-8711). La expresión génica de plantas tiene que estar unida, tal como se ha

descrito anteriormente, funcionalmente a un promotor adecuado que lleve a cabo la expresión génica de una forma puntual, con especificidad de célula o de tejido. Los promotores útiles son promotores constitutivos (Benfey y col., EMBO J. 8 (1989) 2195-2202), tales como aquellos que proceden de virus de plantas tales como 35S CAMV (Franck y col., Cell 21 (1980) 285-294), 19S CaMV (véase también los documentos US 5352605 y WO 84/02913) o promotores de plantas tal como el descrito en el documento US 4.962.028 de la subunidad pequeña de rubisco. Otras secuencias preferentes para el uso para la unión funcional en casetes de expresión génica en plantas son secuencias de direccionamiento que son necesarias para el control del producto génico hasta su compartimento celular correspondiente (véase una revisión en Kermodé, Crit. Rev. Plant Sci. 15, 4 (1996) 285-423 y bibliografía citada allí), por ejemplo, a la vacuola, el núcleo celular, todos los tipos de plástidos, tales como aminoplastos, cloroplastos, cromoplastos, el espacio extracelular, las mitocondrias, el retículo endoplásmico, oleoplastos, peroxisomas y otros compartimentos de células vegetales.

La expresión génica de plantas se puede facilitar también, tal como se ha descrito anteriormente, a través de un promotor inducible químicamente (véase una revisión en Gatz 1997, Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol., 48: 89-108). Los promotores inducibles químicamente son adecuados en particular cuando se desea que se produzca la expresión génica con especificidad de tiempo. Los ejemplos de tales promotores son un promotor inducible por ácido salicílico (documento WO 95/19443), un promotor inducible por tetraciclina (Gatz y col. (1992) Plant J. 2, 397-404) y un promotor inducible por etanol. También promotores que reaccionen a condiciones de estrés biótico o abiótico son promotores adecuados, por ejemplo, el promotor del gen PRP1 inducido por patógeno (Ward y col., Plant. Mol. Biol. 22 (1993) 361-366), el promotor hsp80 inducible por calor del tomate (documento US 5.187.267), el promotor de alfa-amilasa inducible por frío de la patata (documento WO 96/12814) o el promotor pinll inducible por heridas (documento EP-A-0 375 091).

En particular se prefieren aquellos promotores que causan la expresión génica en tejidos y órganos en los que tiene lugar la biosíntesis de ácidos grasos, lípidos y aceite, en células de semillas, tales como las células del endospermo y del embrión en desarrollo. Son promotores adecuados el promotor del gen de napina de la 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 oleosina de *Arabidopsis* (documento WO 98/45461), el promotor de faseolina de *Phaseolus vulgaris* (documento US 5.504.200), el promotor de Bce4 de *Brassica* (documento WO 91/13980) o el promotor de legumina B4 (LeB4; Baeumlein y col., 1992, Plant Journal, 2 (2): 233-9) así como promotores que causan la expresión específica de semilla en plantas monocotiledóneas, tales como maíz, cebada, trigo, centeno, arroz, etc. Son promotores a tener en cuenta adecuados el promotor del gen lpt2 o lpt1 de cebada (documentos WO 95/15389 y WO 95/23230) o los descritos en el documento WO 99/16890 (promotores del gen de hordeína de cebada, el gen de glutelina de arroz, el gen de oricina de arroz, el gen de prolamina de arroz, el gen de gliadina de trigo, el gen de glutelina de trigo, el gen de zeína de maíz, el gen de glutelina de avena, el gen de casirina de sorgo, el gen de secalina de centeno). También son particularmente adecuados promotores que causan la expresión específica de plástidos, ya que los plástidos son el compartimento en el que se sintetizan los precursores así como algunos productos finales de la biosíntesis de los lípidos. Los promotores adecuados tales como el promotor de ARN polimerasa vírica están descritos en los documentos WO 95/16783 y WO 97/06250 y en el promotor clpP de *Arabidopsis*, descrito en el documento WO 99/46394.

Los vectores que se han mencionado anteriormente ofrecen solo una pequeña visión general de posibles vectores adecuados. El experto conoce otros plásmidos y están descritos, por ejemplo, en: Cloning Vectors (ed. Pouwels, P. H. y col., Elsevier, Amsterdam-New York-Oxford, 1985, ISBN 0 444 904018). Otros sistemas de expresión adecuados para células procariontas y eucariotas véase en los capítulos 16 y 17 de Sambrook, J., Fritsch, E. F. y Maniatis, T., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2ª edición, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 1989.

El vector de expresión, tal como se ha descrito anteriormente, puede comprender también otros genes que se han de introducir en los organismos. Es posible y preferente introducir en los organismos huésped genes de regulación, tales como genes para inductores, represores o enzimas que intervienen mediante su actividad enzimática en la regulación de uno o varios genes de una ruta de biosíntesis y expresarlos allí. Estos genes pueden ser de origen heterólogo u homólogo. Los genes o polinucleótidos heterólogos proceden de un organismo de origen que se diferencia del organismo de destino en el que se han de introducir los genes o polinucleótidos. En caso de genes o polinucleótidos homólogos, el organismo de destino y el organismo de origen son iguales. Preferentemente, por tanto, el vector comprende al menos otro polinucleótido que codifica otra enzima que está incluida en la biosíntesis de lípidos o ácidos grasos. La enzima está seleccionada, preferentemente, del grupo compuesto por: acil-CoA-deshidrogenasa(s), acil-ACP[= acyl carrier protein]-desaturasa(s), acil-ACP-tioesterasa(s), ácido graso-acil-transferasa(s), acil-CoA:lisofosfolípido-aciltransferasa(s), ácido graso-sintasa(s), ácido graso-hidroxilasa(s), acetil-coenzima A-carboxilasa(s), acil-coenzima A-oxidasa(s), ácido graso-desaturasa(s), ácido graso-acetilenasa(s), lipoxigenasa(s), triacilglicerol-lipasa(s), óxido de aleno-sintasa(s), hidroperóxido-liasa(s), ácido graso-elongasa(s), $\Delta 4$ -desaturasa(s), $\Delta 5$ -desaturasa(s), $\Delta 6$ -desaturasa(s), $\Delta 8$ -desaturasa(s), $\Delta 9$ -desaturasa(s), $\Delta 12$ -desaturasa(s), $\Delta 5$ -elongasa(s), $\Delta 6$ - elongasa(s) y $\Delta 9$ -elongasa(s).

La invención se refiere también a una célula huésped que comprende el polinucleótido de acuerdo con la invención o el vector de acuerdo con la invención.

Las células huésped en el sentido de la presente invención pueden ser, en principio, todas las células eucariotas o procariotas. Pueden ser células primarias de animales, plantas o microorganismos pluricelulares, por ejemplo, de aquellos que están mencionados en otro punto en la descripción. Además, la expresión comprende también líneas celulares que se pueden obtener de estos organismos.

5 Pero las células huésped en el sentido de la invención pueden ser también microorganismos unicelulares, por ejemplo, bacterias u hongos. Los microorganismos particularmente preferentes son hongos seleccionados del grupo de las familias *Chaetomiaceae*, *Choanephoraceae*, *Cryptococcaceae*, *Cunninghamellaceae*, *Dematiaceae*, *Moniliaceae*, *Mortierellaceae*, *Mucoraceae*, *Pythiaceae*, *Sacharomycetaceae*, *Saprolegniaceae*, *Schizosacharomycetaceae*, *Sodariaceae* o *Tuberculariaceae*. Otros microorganismos preferentes están
10 seleccionados del grupo: *Choanephoraceae* tal como los géneros *Blakeslea*, *Choanephora* por ejemplo los géneros y las especies *Blakeslea trispora*, *Choanephora cucurbitarum*, *Choanephora infundibulifera* var. *cucurbitarum*, *Mortierellaceae* tal como el género *Mortierella* por ejemplo los géneros y las especies *Mortierella isabellina*, *Mortierella polycephala*, *Mortierella ramanniana*, *Mortierella vinacea*, *Mortierella zonata*, *Pythiaceae* tal como los géneros *Phytium*, *Phytophthora* por ejemplo los géneros y las especies *Pythium debaryanum*, *Pythium intermedium*,
15 *Pythium irregulare*, *Pythium megalacanthum*, *Pythium paroecandrum*, *Pythium sylvaticum*, *Pythium ultimum*, *Phytophthora cactorum*, *Phytophthora cinnamomi*, *Phytophthora citricola*, *Phytophthora citrophthora*, *Phytophthora cryptogea*, *Phytophthora drechsleri*, *Phytophthora erythroseptica*, *Phytophthora lateralis*, *Phytophthora megasperma*, *Phytophthora nicotianae*, *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica*, *Phytophthora palmivora*, *Phytophthora parasitica*, *Phytophthora syringae*, *Sacharomycetaceae* tal como los géneros *Hansenula*, *Pichia*, *Sacharomycodes*, *Yarrowia* por ejemplo los géneros y las especies *Hansenula anomala*, *Hansenula californica*,
20 *Hansenula canadensis*, *Hansenula capsulata*, *Hansenula ciferrii*, *Hansenula glucozyma*, *Hansenula henricii*, *Hansenula holstii*, *Hansenula minuta*, *Hansenula nonfermentans*, *Hansenula philodendri*, *Hansenula polymorpha*, *Hansenula saturnus*, *Hansenula subpelliculosa*, *Hansenula wickerhamii*, *Hansenula wingei*, *Pichia alcoholophila*, *Pichia angusta*, *Pichia anomala*, *Pichia bispora*, *Pichia burtonii*, *Pichia canadensis*, *Pichia capsulata*, *Pichia carsonii*,
25 *Pichia cellobiosa*, *Pichia ciferrii*, *Pichia farinosa*, *Pichia fermentans*, *Pichia finlandica*, *Pichia glucozyma*, *Pichia guilliermondii*, *Pichia haplophila*, *Pichia henricii*, *Pichia holstii*, *Pichia jadinii*, *Pichia lindnerii*, *Pichia membranaefaciens*, *Pichia methanolica*, *Pichia minuta* var. *minuta*, *Pichia minuta* var. *nonfermentans*, *Pichia norvegensis*, *Pichia ohmeri*, *Pichia pastoris*, *Pichia philodendri*, *Pichia pini*, *Pichia polymorpha*, *Pichia quercuum*, *Pichia rhodanensis*, *Pichia sargentensis*, *Pichia stipitis*, *Pichia strasburgensis*, *Pichia subpelliculosa*, *Pichia toletana*,
30 *Pichia trehalophila*, *Pichia vini*, *Pichia xyloxa*, *Saccharomyces acetii*, *Saccharomyces baillii*, *Saccharomyces bayanus*, *Saccharomyces bisporus*, *Saccharomyces capensis*, *Saccharomyces carlsbergensis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces cerevisiae* var. *ellipsoideus*, *Saccharomyces chevalieri*, *Saccharomyces delbrueckii*, *Saccharomyces diastaticus*, *Saccharomyces drosophilaram*, *Saccharomyces elegans*, *Saccharomyces ellipsoideus*, *Saccharomyces fermentati*, *Saccharomyces florentinus*, *Saccharomyces fragilis*, *Saccharomyces heterogenicus*, *Saccharomyces hienipiensis*, *Saccharomyces inusitatus*, *Saccharomyces italicus*, *Saccharomyces kluyveri*, *Saccharomyces krusei*,
35 *Saccharomyces lactis*, *Saccharomyces marxianus*, *Saccharomyces microellipsoideus*, *Saccharomyces montanus*, *Saccharomyces norbensis*, *Saccharomyces oleaceus*, *Saccharomyces paradoxus*, *Saccharomyces pastorianus*, *Saccharomyces pretoriensis*, *Saccharomyces rosei*, *Saccharomyces rouxii*, *Saccharomyces uvarum*, *Saccharomycodes ludwigii*, *Yarrowia lipolytica*, *Schizosacharomycetaceae* tal como los géneros *Schizosaccharomyces* por ejemplo las especies *Schizosaccharomyces japonicus* var. *japonicus*, *Schizosaccharomyces japonicus* var. *versatilis*, *Schizosaccharomyces malidevorans*, *Schizosaccharomyces octosporus*, *Schizosaccharomyces pombe* var. *malidevorans*, *Schizosaccharomyces pombe* var. *pombe*, *Thraustochytriaceae* tal como los géneros *Althornia*, *Aplanochytrium*, *Japonochytrium*, *Schizochytrium*, *Thraustochytrium* por ejemplo las especies *Schizochytrium aggregatum*, *Schizochytrium limacinum*, *Schizochytrium mangrovei*, *Schizochytrium minutum*, *Schizochytrium octosporum*, *Thraustochytrium aggregatum*, *Thraustochytrium amoeboidum*, *Thraustochytrium antacticum*, *Thraustochytrium arudimentale*, *Thraustochytrium aureum*,
40 *Thraustochytrium benthicola*, *Thraustochytrium globosum*, *Thraustochytrium indicum*, *Thraustochytrium kerguelense*, *Thraustochytrium kinnei*, *Thraustochytrium motivum*, *Thraustochytrium multirudimentale*, *Thraustochytrium pachydermum*, *Thraustochytrium proliferum*, *Thraustochytrium roseum*, *Thraustochytrium rossii*, *Thraustochytrium striatum* o *Thraustochytrium visurgense*.

También preferentes como microorganismos son bacterias seleccionadas del grupo de las familias *Bacillaceae*, *Enterobacteriaceae* o *Rhizobiaceae*. De forma particularmente preferente mencionan las siguientes bacterias seleccionadas del grupo: *Bacillaceae* tal como el género *Bacillus*, por ejemplo los géneros y las especies *Bacillus acidocaldarius*, *Bacillus acidoterrestris*, *Bacillus alcalophilus*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus amylolyticus*,
55 *Bacillus brevis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus circulans*, *Bacillus coagulans*, *Bacillus sphaericus* subsp. *fusiformis*, *Bacillus galactophilus*, *Bacillus globisporus*, *Bacillus globisporus* subsp. *marinus*, *Bacillus halophilus*, *Bacillus lentimorbus*, *Bacillus lentus*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus polymyxa*, *Bacillus psychrosaccharolyticus*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus sphaericus*, *Bacillus subtilis* subsp. *spizizenii*, *Bacillus subtilis* subsp. *subtilis* o *Bacillus thuringiensis*; *Enterobacteriaceae* tal como los géneros *Citrobacter*, *Edwardsiella*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Salmonella* o *Serratia*, por ejemplo los géneros y las especies *Citrobacter amalonaticus*, *Citrobacter diversus*, *Citrobacter freundii*, *Citrobacter genomospecies*, *Citrobacter gilleni*, *Citrobacter intermedium*, *Citrobacter koseri*, *Citrobacter murlinae*, *Citrobacter sp.*, *Edwardsiella hoshinae*, *Edwardsiella ictaluri*, *Edwardsiella tarda*, *Erwinia alni*, *Erwinia amylovora*, *Erwinia ananatis*, *Erwinia aphidicola*, *Erwinia billingiae*, *Erwinia cacticida*, *Erwinia cancerogena*, *Erwinia carnegeiana*, *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*, *Erwinia carotovora* subsp.

betavasculorum, *Erwinia carotovora* subsp. *odorifera*, *Erwinia carotovora* subsp. *wasabiae*, *Erwinia chrysanthemi*,
Erwinia cypripedii, *Erwinia dissolvens*, *Erwinia herbicola*, *Erwinia mallotivora*, *Erwinia milletiae*, *Erwinia nigrifluens*,
Erwinia nimipressuralis, *Erwinia persicina*, *Erwinia psidii*, *Erwinia pyrifoliae*, *Erwinia quercina*, *Erwinia rhapontici*,
5 *Erwinia rubrificans*, *Erwinia salicis*, *Erwinia stewartii*, *Erwinia tracheiphila*, *Erwinia uredovora*, *Escherichia*
adecarboxylata, *Escherichia anindolica*, *Escherichia aurescens*, *Escherichia blattae*, *Escherichia coli*, *Escherichia coli*
var. communiior, *Escherichia coli-mutabile*, *Escherichia fergusonii*, *Escherichia hermannii*, *Escherichia sp.*,
Escherichia vulneris, *Klebsiella aerogenes*, *Klebsiella edwardsii* subsp. *atlantae*, *Klebsiella ornithinolytica*, *Klebsiella*
oxytoca, *Klebsiella planticola*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella pneumoniae* subsp. *pneumoniae*, *Klebsiella sp.*,
10 *Klebsiella terrigena*, *Klebsiella trevisanii*, *Salmonella abony*, *Salmonella arizonae*, *Salmonella bongori*, *Salmonella*
choleraesuis subsp. *arizonae*, *Salmonella choleraesuis* subsp. *bongori*, *Salmonella choleraesuis* subsp.
choleraesuis, *Salmonella choleraesuis* subsp. *diarizonae*, *Salmonella choleraesuis* subsp. *houtenae*, *Salmonella*
choleraesuis subsp. *indica*, *Salmonella choleraesuis* subsp. *salamae*, *Salmonella daressalaam*, *Salmonella enterica*
subsp. *houtenae*, *Salmonella enterica* subsp. *salamae*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella gallinarum*, *Salmonella*
15 *heidelberg*, *Salmonella panama*, *Salmonella senftenberg*, *Salmonella typhimurium*, *Serratia entomophila*, *Serratia*
ficaria, *Serratia fonticola*, *Serratia grimesii*, *Serratia liquefaciens*, *Serratia marcescens*, *Serratia marcescens* subsp.
marcescens, *Serratia marinorubra*, *Serratia odorifera*, *Serratia plymuthensis*, *Serratia plymuthica*, *Serratia*
proteamaculans, *Serratia proteamaculans* subsp. *quinovora*, *Serratia quinivorans* o *Serratia rubidaea*; *Rhizobiaceae*
tal como los géneros *Agrobacterium*, *Carbophilus*, *Chelatobacter*, *Ensifer*, *Rhizobium*, *Sinorhizobium* por ejemplo los
20 géneros y las especies *Agrobacterium atlanticum*, *Agrobacterium ferrugineum*, *Agrobacterium gelatinovorum*,
Agrobacterium larrymoorei, *Agrobacterium meteori*, *Agrobacterium radiobacter*, *Agrobacterium rhizogenes*,
Agrobacterium rubi, *Agrobacterium stellulatum*, *Agrobacterium tumefaciens*, *Agrobacterium vitis*, *Carbophilus*
carboxidus, *Chelatobacter heintzii*, *Ensifer adhaerens*, *Ensifer arboris*, *Ensifer fredii*, *Ensifer kostiensis*, *Ensifer*
kummerowiae, *Ensifer medicae*, *Ensifer meliloti*, *Ensifer saheli*, *Ensifer terangae*, *Ensifer xinjiangensis*, *Rhizobium*
25 *ciceri* *Rhizobium etli*, *Rhizobium fredii*, *Rhizobium galegae*, *Rhizobium gallicum*, *Rhizobium giardinii*, *Rhizobium*
hainanense, *Rhizobium huakuii*, *Rhizobium huautlense*, *Rhizobium indigoferae*, *Rhizobium japonicum*, *Rhizobium*
leguminosarum, *Rhizobium loessense*, *Rhizobium loti*, *Rhizobium lupini*, *Rhizobium mediterraneum*, *Rhizobium*
meliloti, *Rhizobium mongolense*, *Rhizobium phaseoli*, *Rhizobium radiobacter*, *Rhizobium rhizogenes*, *Rhizobium rubi*,
Rhizobium sullae, *Rhizobium tianshanense*, *Rhizobium trifolii*, *Rhizobium tropici*, *Rhizobium undicola*, *Rhizobium*
vitis, *Sinorhizobium adhaerens*, *Sinorhizobium arboris*, *Sinorhizobium fredii*, *Sinorhizobium kostiense*, *Sinorhizobium*
30 *kummerowiae*, *Sinorhizobium medicae*, *Sinorhizobium meliloti*, *Sinorhizobium morelense*, *Sinorhizobium saheli* o
Sinorhizobium xinjiangense.

Además están mencionadas células huésped útiles en: Goeddel, Gene Expression Technology: Methods in
Enzymology 185, Academic Press, San Diego, CA (1990). Las cepas de expresión que se pueden usar, por ejemplo
35 aquellas que presentan una menor actividad proteasa, están descritas en: Gottesman, S., Gene Expression
Technology: Methods in Enzymology 185, Academic Press, San Diego, California (1990) 119-128. A esto pertenecen
células vegetales y determinados tejidos, órganos y partes de plantas en todas sus formas de manifestación, tales
como anteras, fibras, pelos radiculares, tallos, embriones, tilomas, cotiledones, pedículos, material de cosecha, tejido
vegetal, tejido reproductivo y cultivos celulares que están derivados de la planta transgénica en sí y/o que se pueden
usar para hacer emerger la planta transgénica.

40 Los polinucleótidos o vectores se pueden introducir con procedimientos de transformación o transfección conocidos
en el estado de la técnica en la célula huésped, tal como se ha descrito anteriormente. El experto conoce también
condiciones y medios para el cultivo de las células huésped.

Preferentemente, la célula huésped de acuerdo con la invención comprende adicionalmente al menos otra enzima
45 que está incluida en la biosíntesis de lípidos o ácidos grasos. Las enzimas preferentes ya se han mencionado en
otro lugar en la descripción. La enzima puede estar presente endógenamente en la célula huésped, es decir, la
célula huésped ya expresa de forma natural un gen que codifica una enzima correspondiente. Como alternativa se
puede introducir también un polinucleótido heterólogo en la célula huésped que codifica la enzima. En el estado de
la técnica son conocidos procedimientos y medidas adecuados para la expresión de un polinucleótido heterólogo y
50 están descritos en relación con los polinucleótidos, vectores y células huésped de acuerdo con la invención en el
presente documento.

La invención se refiere también a un procedimiento para la producción de un polipéptido con actividad desaturasa o
elongasa que comprende las etapas:

(a) expresión de un polinucleótido de acuerdo con la invención en una célula huésped; y

(b) obtención del polipéptido que se ha codificado por el polinucleótido de la célula huésped.

55 En este caso se puede obtener el polipéptido mediante todos los procedimientos habituales para la purificación de
proteínas. Los procedimientos comprenden, por ejemplo, cromatografía de afinidad, cromatografía de tamiz
molecular, cromatografía líquida de alta presión o incluso precipitación de proteínas, eventualmente con anticuerpos
específicos. A pesar de que esto es preferente, el procedimiento no tiene que facilitar necesariamente una
preparación pura del polipéptido.

Por tanto, la invención se refiere también a un polipéptido que es codificado por el polinucleótido de acuerdo con la invención o que se puede obtener mediante el procedimiento de acuerdo con la invención que se ha mencionado anteriormente.

5 El término "polipéptido" indica tanto un polipéptido esencialmente puro como una preparación de polipéptido que presenta también otros componentes o impurezas. El término se usa también para proteínas de fusión o agregados proteicos que comprenden el polipéptido de acuerdo con la invención y adicionalmente otros componentes. El término indica también polipéptidos modificados químicamente. Las modificaciones químicas incluyen en este contexto modificaciones artificiales o modificaciones de origen natural, por ejemplo, modificaciones post-traduccionales tales como fosforilación, miristilación, glucosilación, etc. Los términos polipéptido, péptido o proteína son intercambiables y se usan correspondientemente en la descripción y en el estado de la técnica. Los polipéptidos de acuerdo con la invención tienen las actividades biológicas que se han mencionado anteriormente, es decir, actividades desaturasa o elongasa, y pueden influir en la biosíntesis de ácidos grasos poliinsaturados (PUFA), preferentemente en los PUFA de cadena larga (LCPUFA), tal como se ha descrito en el presente documento.

10 Además, la invención se refiere a un organismo transgénico no humano que comprende el polinucleótido, el vector o la célula huésped de la presente invención. Preferentemente, en el caso del organismo transgénico no humano se trata de un animal, una planta o un microorganismo multicelular.

15 Por el término "transgénico" se ha de entender que se introduce un polinucleótido heterólogo, es decir, un polinucleótido que no aparece de forma natural en el respectivo organismo, en el organismo. Esto se puede conseguir mediante inserción aleatoria del polinucleótido o mediante recombinación homóloga. Evidentemente, en lugar del polinucleótido se puede introducir también el vector de acuerdo con la invención. Los procedimientos para la introducción de polinucleótidos o vectores con el fin de la inserción aleatoria o la recombinación homóloga son conocidos en el estado de la técnica y también se describen a continuación con más detalle. Las células huésped que contienen el polinucleótido o el vector pueden introducirse también en un organismo y generar de este modo un organismo transgénico. Pero entonces, en el caso de un organismo de este tipo se trata de un organismo quimérico en el que únicamente las células que se derivan de las células introducidas son transgénicas, es decir, comprenden el polinucleótido heterólogo.

20 Preferentemente, los organismos transgénicos no humanos son organismos productores de aceite, es decir, que se usan para la producción de aceites, tales como hongos tales como *Mortierella* o *Thraustochytrium*, algas tales como *Nephroselmis*, *Pseudoscourfielda*, *Prasinococcus*, *Scherffelia*, *Tetraselmis*, *Mantoniella*, *Ostreococcus*, *Crypthecodinium*, *Phaeodactylum* o plantas.

25 Como plantas transgénicas se pueden usar básicamente todas las plantas, es decir, tanto plantas dicotiledóneas como monocotiledóneas. Preferentemente se trata de plantas de frutos oleaginosos que contienen grandes cantidades de compuestos lipídicos, tales como cacahuete, colza, canola, girasol, azafranillo (*Carthamus tinctoria*), amapola, mostaza, cáñamo, ricino, oliva, sésamo, caléndula, *Punica*, onagra, candelaria, cardo, rosas silvestres, avellana, almendra, macadamia, aguacate, laurel, calabaza, lino, soja, pistachos, borraja, árboles (palmera de aceite, coco o nuez) o frutos del campo tales como maíz, trigo, centeno, avena, triticale, arroz, cebada, algodón, tapioca, pimienta, clavelón, plantas *Solanaceae* tales como patata, tabaco, berenjena y tomate, especies de *Vicia*, guisante, alfalfa o plantas de arbusto (café, cacao, té), especies de *Salix* así como hierbas vivaces y frutos de campo forrajeros. Son plantas de acuerdo con la invención preferentes plantas de frutos oleaginosos tales como cacahuete, colza, canola, girasol, azafranillo, amapola, mostaza, cáñamo, ricino, oliva, caléndula, *Punica*, onagra, calabaza, lino, soja, borraja, árboles (palmera de aceite, coco). Particularmente preferentes son plantas ricas en ácido graso C18:2 y/o C18:3 tales como girasol, cártamo, tabaco, candelaria, sésamo, algodón, calabaza, amapola, onagra, nuez, lino, cáñamo, cardo o cártamo. Se prefieren muy en particular plantas tales como cártamo, girasol, amapola, onagra, nuez, lino o cáñamo. Pero en principio se consideran todas las plantas que están en disposición de sintetizar ácidos grasos, tales como todas las plantas dicotiledóneas o monocotiledóneas, algas o musgos. Las plantas ventajosas están seleccionadas del grupo de las familias de plantas *Adelotheciaceae*, *Anacardiaceae*, *Asteraceae*, *Apiaceae*, *Betulaceae*, *Boraginaceae*, *Brassicaceae*, *Bromeliaceae*, *Caricaceae*, *Cannabaceae*, *Convolvulaceae*, *Chenopodiaceae*, *Crypthecodiniaceae*, *Cucurbitaceae*, *Ditrichaceae*, *Elaeagnaceae*, *Ericaceae*, *Euphorbiaceae*, *Fabaceae*, *Geraniaceae*, *Gramineae*, *Juglandaceae*, *Lauraceae*, *Leguminosae*, *Linaceae*, *Prasinophyceae* o plantas hortícolas o plantas decorativas tales como clavelones.

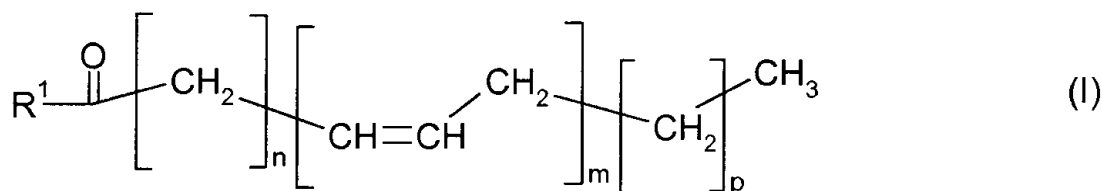
30 De forma particularmente preferente se mencionan las siguientes plantas, seleccionadas del grupo: *Adelotheciaceae* tal como los géneros *Physcomitrella*, por ejemplo los géneros y las especies *Physcomitrella patens*, *Anacardiaceae* tal como los géneros *Pistacia*, *Mangifera*, *Anacardium*, por ejemplo los géneros y las especies *Pistacia vera* [pistacho], *Mangifer indica* [mango] o *Anacardium occidentale* [anacardo], *Asteraceae* tal como los géneros *Calendula*, *Carthamus*, *Centaurea*, *Cichorium*, *Cynara*, *Helianthus*, *Lactuca*, *Locusta*, *Tagetes*, *Valeriana*, por ejemplo los géneros y las especies *Calendula officinalis* [caléndula], *Carthamus tinctorius* [cártamo, azafranillo], *Centaurea cyanus* [aciano], *Cichorium intybus* [usillo], *Cynara scolymus* [alcachofa], *Helianthus annuus* [girasol], *Lactuca sativa*, *Lactuca crispera*, *Lactuca esculenta*, *Lactuca scariola* L. ssp. *sativa*, *Lactuca scariola* L. var. *integrata*, *Lactuca scariola* L. var. *integrifolia*, *Lactuca sativa* subsp. *romana*, *Locusta communis*, *Valeriana locusta* [lechuga], *Tagetes lucida*, *Tagetes erecta* o *Tagetes tenuifolia* [damasquina], *Apiaceae* tal como el género *Daucus*, por ejemplo el género y la especie *Daucus carota* [zanahoria], *Betulaceae* tal como el género *Corylus*, por ejemplo los géneros y

las especies *Corylus avellana* o *Corylus colurna* [avellana], *Boraginaceae* tal como el género *Borago*, por ejemplo el género y la especie *Borago officinalis* [borraja], *Brassicaceae* tal como los géneros *Brassica*, *Camelina*, *Melanosinapis*, *Sinapis*, *Arabadopsis*, por ejemplo los géneros y las especies *Brassica napus*, *Brassica rapa* ssp. [colza], *Sinapis arvensis* *Brassica juncea*, *Brassica juncea* var. *juncea*, *Brassica juncea* var. *crispifolia*, *Brassica juncea* var. *foliosa*, *Brassica nigra*, *Brassica sinapioides*, *Camelina sativa*, *Melanosinapis communis* [mostaza], *Brassica oleracea* [remolacha forrajera] o *Arabidopsis thaliana*, *Bromeliaceae* tal como los géneros *Anana*, *Bromelia* (piña), por ejemplo los géneros y las especies *Anana comosus*, *Ananas ananas* o *Bromelia comosa* [piña], *Caricaceae* tal como el género *Carica* tal como el género y la especie *Carica papaya* [papaya], *Cannabaceae* tal como el género *Cannabis* tal como el género y la especie *Cannabis sativa* [cáñamo], *Convolvulaceae* tal como los géneros *Ipomea*, *Convolvulus*, por ejemplo los géneros y las especies *Ipomoea batatas*, *Ipomoea pandurata*, *Convolvulus batatas*, *Convolvulus tiliaceus*, *Ipomoea fastigiata*, *Ipomoea tiliacea*, *Ipomoea triloba* o *Convolvulus panduratus* [boniato, batata], *Chenopodiaceae* tal como el género *Beta* tal como los géneros y las especies *Beta vulgaris*, *Beta vulgaris* var. *altissima*, *Beta vulgaris* var. *Vulgaris*, *Beta maritima*, *Beta vulgaris* var. *perennis*, *Beta vulgaris* var. *conditiva* o *Beta vulgaris* var. *esculenta* [remolacha azucarera], *Cryptocodiniaceae* tal como el género *Cryptocodium*, por ejemplo el género y la especie *Cryptocodium cohnii*, *Cucurbitaceae* tal como el género *Cucurbita*, por ejemplo los géneros y las especies *Cucurbita maxima*, *Cucurbita mixta*, *Cucurbita pepo* o *Cucurbita moschata* [calabaza], *Cymbellaceae* tal como los géneros *Amphora*, *Cymbella*, *Okedenia*, *Phaeodactylum*, *Reimeria*, por ejemplo el género y la especie *Phaeodactylum tricorutum*, *Ditrichaceae* tal como los géneros *Ditrichaceae*, *Astomiopsis*, *Ceratodon*, *Chrysoblastella*, *Ditrichum*, *Distichium*, *Ecclremidium*, *Lophidion*, *Philibertiella*, *Pleuridium*, *Saelania*, *Trichodon*, *Skottsbergia*, por ejemplo los géneros y las especies *Ceratodon antarcticus*, *Ceratodon columbiae*, *Ceratodon heterophyllum*, *Ceratodon purpurascens*, *Ceratodon purpureus*, *Ceratodon purpureus* ssp. *convolutus*, *Ceratodon purpureus* ssp. *stenocarpus*, *Ceratodon purpureus* var. *rotundifolius*, *Ceratodon ratodon*, *Ceratodon stenocarpus*, *Chrysoblastella chilensis*, *Ditrichum ambiguum*, *Ditrichum brevisetum*, *Ditrichum crispatisimum*, *Ditrichum difficile*, *Ditrichum falcifolium*, *Ditrichum flexicaule*, *Ditrichum giganteum*, *Ditrichum heteromaltum*, *Ditrichum lineare*, *Ditrichum lineare*, *Ditrichum montanum*, *Ditrichum montanum*, *Ditrichum pallidum*, *Ditrichum punctulatum*, *Ditrichum pusillum*, *Ditrichum pusillum* var. *tortile*, *Ditrichum rhynchostegium*, *Ditrichum schimperi*, *Ditrichum tortile*, *Distichium capillaceum*, *Distichium hagenii*, *Distichium inclinatum*, *Distichium macounii*, *Ecclremidium floridanum*, *Ecclremidium whiteleggei*, *Lophidion strictus*, *Pleuridium acuminatum*, *Pleuridium alternifolium*, *Pleuridium holdridgei*, *Pleuridium mexicanum*, *Pleuridium ravenelii*, *Pleuridium subulatum*, *Saelania glaucescens*, *Trichodon borealis*, *Trichodon cylindricus* o *Trichodon cylindricus* var. *oblongus*, *Elaeagnaceae* tal como el género *Elaeagnus*, por ejemplo el género y la especie *Olea europaea* [oliva], *Ericaceae* tal como el género *Kalmia*, por ejemplo los géneros y las especies *Kalmia latifolia*, *Kalmia angustifolia*, *Kalmia microphylla*, *Kalmia polifolia*, *Kalmia occidentalis*, *Cistus chamaerhodendros* o *Kalmia lucida* [laurel de la sierra], *Euphorbiaceae* tal como los géneros *Manihot*, *Janipha*, *Jatropha*, *Ricinus*, por ejemplo los géneros y las especies *Manihot utilissima*, *Janipha manihot*, *Jatropha manihot*, *Manihot aipil*, *Manihot dulcis*, *Manihot*, *Manihot melanobasis*, *Manihot esculenta* [mandioca] o *Ricinus communis* [ricino], *Fabaceae* tal como los géneros *Pisum*, *Albizia*, *Cathormion*, *Feuillea*, *Inga*, *Pithecolobium*, *Acacia*, *Mimosa*, *Medicago*, *Glycine*, *Dolichos*, *Phaseolus*, *Soja*, por ejemplo los géneros y las especies *Pisum sativum*, *Pisum arvense*, *Pisum humile* [guisante], *Albizia berteriana*, *Albizia julibrissin*, *Albizia lebbeck*, *Acacia berteriana*, *Acacia littoralis*, *Albizia berteriana*, *Albizia berteriana*, *Cathormion berteriana*, *Feuillea berteriana*, *Inga fragrans*, *Pithecolobium berterianum*, *Pithecolobium fragrans*, *Pithecolobium berterianum*, *Pseudalbizia berteriana*, *Acacia julibrissin*, *Acacia nemu*, *Albizia nemu*, *Feuillea julibrissin*, *Mimosa julibrissin*, *Mimosa speciosa*, *Sericandra julibrissin*, *Acacia lebbeck*, *Acacia macrophylla*, *Albizia lebbeck*, *Feuillea lebbeck*, *Mimosa lebbeck*, *Mimosa speciosa* [árbol de la seda], *Medicago sativa*, *Medicago falcata*, *Medicago varia* [alfalfa] *Glycine max* *Dolichos soja*, *Glycine gracilis*, *Glycine hispida*, *Phaseolus max*, *Soja hispida* o *Soja max* [semilla de soja], *Funariaceae* tal como los géneros *Aphanorrhagma*, *Entosthodon*, *Funaria*, *Physcomitrella*, *Physcomitrium*, por ejemplo los géneros y las especies *Aphanorrhagma serratum*, *Entosthodon attenuatus*, *Entosthodon bolanderi*, *Entosthodon bonplandii*, *Entosthodon californicus*, *Entosthodon drummondii*, *Entosthodon jamesonii*, *Entosthodon leibergii*, *Entosthodon neoscoticus*, *Entosthodon rubrisetus*, *Entosthodon spathulifolius*, *Entosthodon tucsoni*, *Funaria americana*, *Funaria bolanderi*, *Funaria calcarea*, *Funaria californica*, *Funaria calvescens*, *Funaria convoluta*, *Funaria flavicans*, *Funaria groutiana*, *Funaria hygrometrica*, *Funaria hygrometrica* var. *arctica*, *Funaria hygrometrica* var. *calvescens*, *Funaria hygrometrica* var. *convoluta*, *Funaria hygrometrica* var. *muralis*, *Funaria hygrometrica* var. *utahensis*, *Funaria microstoma*, *Funaria microstoma* var. *obtusifolia*, *Funaria muhlenbergii*, *Funaria orcuttii*, *Funaria planoconvexa*, *Funaria polaris*, *Funaria ravenelii*, *Funaria rubriseta*, *Funaria serrata*, *Funaria sonorae*, *Funaria sublimbatus*, *Funaria tucsoni*, *Physcomitrella californica*, *Physcomitrella patens*, *Physcomitrella readeri*, *Physcomitrium australe*, *Physcomitrium californicum*, *Physcomitrium collenchymatum*, *Physcomitrium coloradense*, *Physcomitrium cupuliferum*, *Physcomitrium drummondii*, *Physcomitrium eurystomum*, *Physcomitrium flexifolium*, *Physcomitrium hookeri*, *Physcomitrium hookeri* var. *serratum*, *Physcomitrium immersum*, *Physcomitrium kellermanii*, *Physcomitrium megalocarpum*, *Physcomitrium pyriforme*, *Physcomitrium pyriforme* var. *serratum*, *Physcomitrium rufipes*, *Physcomitrium sandbergii*, *Physcomitrium subsphaericum*, *Physcomitrium washingtoniense*, *Geraniaceae* tal como los géneros *Pelargonium*, *Cocos*, *Oleum*, por ejemplo los géneros y las especies *Cocos nucifera*, *Pelargonium grossularioides* u *Oleum cocois* [coco], *Gramineae* tal como el género *Saccharum*, por ejemplo el género y la especie *Saccharum officinarum*, *Juglandaceae* tal como los géneros *Juglans*, *Wallia*, por ejemplo los géneros y las especies *Juglans regia*, *Juglans ailanthifolia*, *Juglans sieboldiana*, *Juglans cinerea*, *Wallia cinerea*, *Juglans bixbyi*, *Juglans californica*, *Juglans hindsii*, *Juglans intermedia*, *Juglans jamaicensis*, *Juglans major*, *Juglans microcarpa*, *Juglans nigra* o *Wallia nigra* [nuez], *Lauraceae* tal como los géneros *Persea*, *Laurus*, por ejemplo los géneros y las especies *Laurus nobilis* [laurel], *Persea americana*, *Persea gratissima* o *Persea persea* [aguacate], *Leguminosae* tal

como el género *Arachis*, por ejemplo el género y la especie *Arachis hypogaea* [cacahuete], *Linaceae* tal como los géneros *Linum*, *Adenolinum*, por ejemplo los géneros y las especies *Linum usitatissimum*, *Linum humile*, *Linum austriacum*, *Linum bienne*, *Linum angustifolium*, *Linum catharticum*, *Linum flavum*, *Linum grandiflorum*, *Adenolinum grandiflorum*, *Linum lewisii*, *Linum narbonense*, *Linum perenne*, *Linum perenne var. lewisii*, *Linum pratense* o *Linum trigynum* [lino], *Lythraieae* tal como el género *Punica*, por ejemplo el género y la especie *Punica granatum* [granada], *Malvaceae* tal como el género *Gossypium*, por ejemplo los géneros y las especies *Gossypium hirsutum*, *Gossypium arboreum*, *Gossypium barbadense*, *Gossypium herbaceum* o *Gossypium thurberi* [algodón], *Marchantiaceae* tal como el género *Marchantia*, por ejemplo los géneros y las especies *Marchantia berteroana*, *Marchantia foliacea*, *Marchantia macropora*, *Musaceae* tal como el género *Musa*, por ejemplo los géneros y las especies *Musa nana*, *Musa acuminata*, *Musa paradisiaca*, *Musa* spp. [plátano], *Onagraceae* tal como los géneros *Camissonia*, *Oenothera*, por ejemplo los géneros y las especies *Oenothera biennis* o *Camissonia brevipes* [onagra], *Palmae* tal como el género *Elaeis*, por ejemplo el género y la especie *Elaeis guineensis* [palmera de aceite], *Papaveraceae* tal como el género *Papaver*, por ejemplo los géneros y las especies *Papaver orientale*, *Papaver rhoeas*, *Papaver dubium* [amapola], *Pedaliaceae* tal como el género *Sesamum*, por ejemplo el género y la especie *Sesamum indicum* [sésamo], *Piperaceae* tal como los géneros *Piper*, *Artanthe*, *Peperomia*, *Steffensia*, por ejemplo los géneros y las especies *Piper aduncum*, *Piper amalago*, *Piper angustifolium*, *Piper auritum*, *Piper betel*, *Piper cubeba*, *Piper longum*, *Piper nigrum*, *Piper retrofractum*, *Artanthe adunca*, *Artanthe elongata*, *Peperomia elongata*, *Piper elongatum*, *Steffensia elongata* [pimienta de cayena], *Poaceae* tal como los géneros *Hordeum*, *Secale*, *Avena*, *Sorghum*, *Andropogon*, *Holcus*, *Panicum*, *Oryza*, *Zea* (maíz), *Triticum*, por ejemplo los géneros y las especies *Hordeum vulgare*, *Hordeum jubatum*, *Hordeum murinum*, *Hordeum secalinum*, *Hordeum distichon*, *Hordeum aegiceras*, *Hordeum hexastichon*, *Hordeum hexastichum*, *Hordeum irregulare*, *Hordeum sativum*, *Hordeum secalinum* [cebada], *Secale cereale* [centeno], *Avena sativa*, *Avena fatua*, *Avena byzantina*, *Avena fatua var. sativa*, *Avena hybrida* [avena], *Sorghum bicolor*, *Sorghum halepense*, *Sorghum saccharatum*, *Sorghum vulgare*, *Andropogon drummondii*, *Holcus bicolor*, *Holcus sorghum*, *Sorghum aethiopicum*, *Sorghum arundinaceum*, *Sorghum caffrorum*, *Sorghum cernuum*, *Sorghum dochna*, *Sorghum drummondii*, *Sorghum durra*, *Sorghum guineense*, *Sorghum lanceolatum*, *Sorghum nervosum*, *Sorghum saccharatum*, *Sorghum subglabrescens*, *Sorghum verticilliflorum*, *Sorghum vulgare*, *Holcus halepensis*, *Sorghum miliaceum*, *Panicum militaceum* [mijo], *Oryza sativa*, *Oryza latifolia* [arroz], *Zea mays* [maíz] *Triticum aestivum*, *Triticum durum*, *Triticum turgidum*, *Triticum hybernum*, *Triticum macha*, *Triticum sativum* o *Triticum vulgare* [trigo], *Porphyridiaceae* tal como los géneros *Chrootheca*, *Flintiella*, *Petrovanella*, *Porphyridium*, *Rhodella*, *Rhodorus*, *Vanhoeffenia*, por ejemplo el género y la especie *Porphyridium cruentum*, *Proteaceae* tal como el género *Macadamia*, por ejemplo el género y la especie *Macadamia integrifolia* [macadamia], *Prasinophyceae* tal como los géneros *Nephroselmis*, *Prasinococcus*, *Scherffelia*, *Tetraselmis*, *Mantoniella*, *Ostreococcus*, por ejemplo los géneros y las especies *Nephroselmis olivacea*, *Prasinococcus capsulatus*, *Scherffelia dubia*, *Tetraselmis chui*, *Tetraselmis suecica*, *Mantoniella squamata*, *Ostreococcus tauri*, *Rubiaceae* tal como el género *Coffea*, por ejemplo los géneros y las especies *Coffea* spp., *Coffea arabica*, *Coffea canephora* o *Coffea liberica* [café], *Scrophulariaceae* tal como el género *Verbascum*, por ejemplo los géneros y las especies *Verbascum blattaria*, *Verbascum chaixii*, *Verbascum densiflorum*, *Verbascum lagurus*, *Verbascum longifolium*, *Verbascum lychnitis*, *Verbascum nigrum*, *Verbascum olympicum*, *Verbascum phlomoides*, *Verbascum phoenicum*, *Verbascum pulverulentum* o *Verbascum thapsus* [candelaria], *Solanaceae* tal como los géneros *Capsicum*, *Nicotiana*, *Solanum*, *Lycopersicon*, por ejemplo los géneros y las especies *Capsicum annuum*, *Capsicum annuum var. glabriusculum*, *Capsicum frutescens* [pimienta], *Capsicum annuum* [pimentón], *Nicotiana tabacum*, *Nicotiana alata*, *Nicotiana attenuata*, *Nicotiana glauca*, *Nicotiana langsdorffii*, *Nicotiana obtusifolia*, *Nicotiana quadrivalvis*, *Nicotiana repanda*, *Nicotiana rustica*, *Nicotiana sylvestris* [tabaco], *Solanum tuberosum* [patata], *Solanum melongena* [berenjena], *Lycopersicon esculentum*, *Lycopersicon lycopersicum*, *Lycopersicon pyriforme*, *Solanum integrifolium* o *Solanum lycopersicum* [tomate], *Sterculiaceae* tal como el género *Theobroma*, por ejemplo el género y la especie *Theobroma cacao* [cacao] o *Theaceae* tal como el género *Camellia*, por ejemplo el género y la especie *Camellia sinensis* [té].

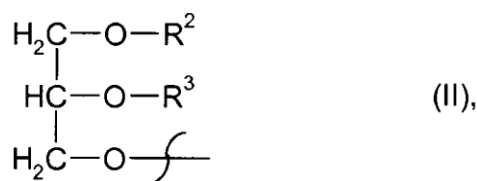
Los microorganismos multicelulares que se pueden emplear como organismos transgénicos no humanos son, por ejemplo, protistas o diatomeas seleccionados del grupo de las familias *Dinophyceae*, *Turaniellidae* u *Oxytrichidae* tal como los géneros y las especies: *Cryptocodinium cohnii*, *Phaeodactylum tricorutum*, *Stylonychia mytilus*, *Stylonychia pustulata*, *Stylonychia putrina*, *Stylonychia notophora*, *Stylonychia* sp., *Colpidium campylum* o *Colpidium* sp.

La invención se refiere a un procedimiento para la preparación de una sustancia que presenta la estructura que se muestra en la siguiente fórmula general I

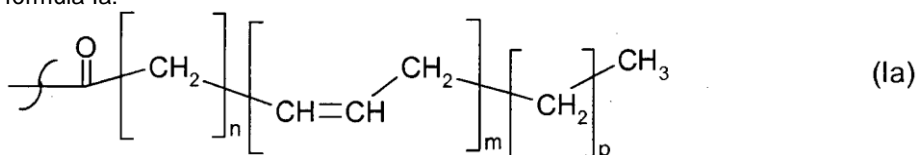


siendo las variables y los sustituyentes los siguientes

R¹= hidroxilo, coenzima A (tioéster), lisofosfatidilcolina, lisofosfatidiletanolamina, lisofosfatidilglicerol, lisodifosfatidilglicerol, lisofosfatidilserina, lisofosfatidilinositol, esfingobase o un radical de fórmula II

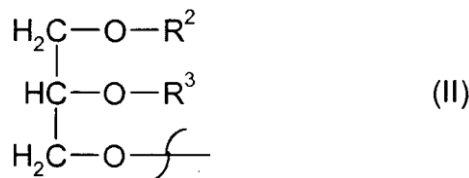


- 5 R²= hidrógeno, lisofosfatidilcolina, lisofosfatidiletanolamina, lisofosfatidilglicerol, lisodifosfatidilglicerol, lisofosfatidilserina, lisofosfatidilinositol o alquil-C₂-C₂₄-carbonilo saturado o insaturado,
R³= hidrógeno, alquil-C₂-C₂₄-carbonilo saturado o insaturado o R² y R³ son independientemente entre sí un radical de fórmula la:



- 10 n = 2, 3, 4, 5, 6, 7 o 9, m = 2, 3, 4, 5 o 6 y p = 0 o 3;
y comprendiendo el procedimiento el cultivo de (i) una célula huésped de acuerdo con la invención o (ii) de un organismo transgénico no humano de acuerdo con la invención en condiciones que permiten la biosíntesis de la sustancia. Preferentemente, a este respecto, la sustancia que se ha mencionado anteriormente se facilita en una cantidad de al menos el 1 % en peso en relación con el contenido total de los lípidos en la célula huésped o en el organismo transgénico.

R¹ representa en la fórmula general I un resto hidroxilo, coenzima A (tioéster), liso-fosfatidilcolina, liso-fosfatidiletanolamina, liso-fosfatidilglicerol, liso-difosfatidilglicerol, liso-fosfatidilserina, liso-fosfatidilinositol, esfingobase o un resto de fórmula general II



- 20 Los restos que se han mencionado anteriormente de R¹ están unidos siempre en forma de sus tioésteres a los compuestos de fórmula general I.

R² representa en la fórmula general hidrógeno, liso-fosfatidilcolina, liso-fosfatidiletanolamina, liso-fosfatidilglicerol, liso-difosfatidilglicerol, liso-fosfatidilserina, liso-fosfatidilinositol o alquil-C₂-C₂₄-carbonilo saturado o insaturado.

- 25 Como restos alquilo se mencionan cadenas de alquil-C₂-C₂₄-carbonilo saturadas o insaturadas, sustituidas o no sustituidas tales como etilcarbonilo, *n*-propilcarbonilo, *n*-butilcarbonilo, *n*-pentilcarbonilo, *n*-hexilcarbonilo, *n*-heptilcarbonilo, *n*-octilcarbonilo, *n*-nonilcarbonilo, *n*-decilcarbonilo, *n*-undecilcarbonilo, *n*-dodecilcarbonilo, *n*-tridecilcarbonilo, *n*-tetradecilcarbonilo, *n*-pentadecilcarbonilo, *n*-hexadecilcarbonilo, *n*-heptadecilcarbonilo, *n*-octadecilcarbonilo, *n*-nonadecilcarbonilo, *n*-eicosilcarbonilo, *n*-docosanilcarbonilo o *n*-tetracosanilcarbonilo que contienen uno o varios enlaces dobles. Se prefieren restos alquil-C₁₀-C₂₂-carbonilo saturados o insaturados tales como *n*-decilcarbonilo, *n*-undecilcarbonilo, *n*-dodecilcarbonilo, *n*-tridecilcarbonilo, *n*-tetradecilcarbonilo, *n*-pentadecilcarbonilo, *n*-hexadecilcarbonilo, *n*-heptadecilcarbonilo, *n*-octadecilcarbonilo, *n*-nonadecilcarbonilo, *n*-eicosilcarbonilo, *n*-docosanilcarbonilo o *n*-tetracosanilcarbonilo que contienen uno o varios enlaces dobles. Se prefieren en particular restos alquil-C₁₀-C₂₂-carbonilo saturados y/o insaturados tales como restos alquil-C₁₀-carbonilo, alquil-C₁₁-carbonilo, alquil-C₁₂-carbonilo, alquil-C₁₃-carbonilo, alquil-C₁₄-carbonilo, alquil-C₁₆-carbonilo, alquil-C₁₈-carbonilo, alquil-C₂₀-carbonilo o alquil-C₂₂-carbonilo que contienen uno o varios enlaces dobles. Son muy particularmente preferentes restos alquil-C₁₆-C₂₂-carbonilo saturados o insaturados tales como restos alquil-C₁₆-carbonilo, alquil-C₁₈-carbonilo, alquil-C₂₀-carbonilo o alquil-C₂₂-carbonilo que contienen uno o varios enlaces dobles. Estos restos ventajosos pueden contener dos, tres, cuatro, cinco o seis enlaces dobles. Los restos particularmente ventajosos con 20 o 22 átomos de carbono en la cadena de ácido graso contienen hasta seis enlaces dobles, ventajosamente tres, cuatro, cinco o seis enlaces dobles, de forma particularmente preferente cinco o seis enlaces dobles. Todos los restos mencionados se derivan de los correspondientes ácidos grasos.

R³ representa en la fórmula general II hidrógeno, alquil-C₂-C₂₄-carbonilo saturado o insaturado.

Como restos alquilo se mencionan cadenas de alquil-C₂-C₂₄-carbonilo saturadas o insaturadas, sustituidas o no sustituidas tales como etilcarbonilo, *n*-propilcarbonilo, *n*-butilcarbonilo, *n*-pentilcarbonilo *n*-hexilcarbonilo, *n*-heptilcarbonilo, *n*-octilcarbonilo, *n*-nonilcarbonilo, *n*-decilcarbonilo, *n*-undecilcarbonilo, *n*-dodecilcarbonilo, *n*-tridecilcarbonilo, *n*-tetradecilcarbonilo, *n*-pentadecilcarbonilo, *n*-hexadecilcarbonilo, *n*-heptadecilcarbonilo *n*-octadecilcarbonilo, *n*-nonadecilcarbonilo, *n*-eicosilcarbonilo, *n*-docosanilcarbonilo o *n*-tetracosanilcarbonilo que contienen uno o varios enlaces dobles. Se prefieren restos alquil-C₁₀-C₂₂-carbonilo saturados o insaturados tales como *n*-decilcarbonilo, *n*-undecilcarbonilo, *n*-dodecilcarbonilo, *n*-tridecilcarbonilo, *n*-tetradecilcarbonilo, *n*-pentadecilcarbonilo, *n*-hexadecilcarbonilo, *n*-heptadecilcarbonilo, *n*-octadecilcarbonilo, *n*-nonadecilcarbonilo, *n*-eicosilcarbonilo, *n*-docosanilcarbonilo o *n*-tetracosanilcarbonilo que contienen uno o varios enlaces dobles. Se prefieren en particular restos alquil-C₁₀-C₂₂-carbonilo saturados y/o insaturados tales como alquil-C₁₀-carbonilo, alquil-C₁₁-carbonilo, alquil-C₁₂-carbonilo, alquil-C₁₃-carbonilo, alquil-C₁₄-carbonilo, alquil-C₁₆-carbonilo, alquil-C₁₈-carbonilo, alquil-C₂₀-carbonilo o alquil-C₂₂-carbonilo que contienen uno o varios enlaces dobles. Se prefieren muy en particular restos alquil-C₁₆-C₂₂-carbonilo saturados o insaturados tales como restos alquil-C₁₆-carbonilo, alquil-C₁₈-carbonilo, alquil-C₂₀-carbonilo o alquil-C₂₂-carbonilo que contienen uno o varios enlaces dobles. Estos restos ventajosos pueden contener dos, tres, cuatro, cinco o seis enlaces dobles. Los restos particularmente ventajosos con 20 o 22 átomos de carbono en la cadena de ácido graso contienen hasta seis enlaces dobles, ventajosamente tres, cuatro, cinco o seis enlaces dobles, de forma particularmente preferente cinco o seis enlaces dobles. Todos los restos mencionados se derivan de los correspondientes ácidos grasos.

Los restos que se han mencionado anteriormente de R¹, R² y R³ pueden estar sustituidos con grupos hidroxilo y/o epoxi y/o pueden contener enlaces triples.

Ventajosamente, los ácidos grasos poliinsaturados preparados en el procedimiento de acuerdo con la invención contienen al menos dos, ventajosamente tres, cuatro, cinco o seis enlaces dobles. De forma particularmente ventajosa, los ácidos grasos contienen cuatro, cinco o seis enlaces dobles. Los ácidos grasos preparados en el procedimiento tienen ventajosamente 18, 20 o 22 átomos de C en la cadena de ácido graso, preferentemente los ácidos grasos contienen 20 o 22 átomos de carbono en la cadena de ácido graso. Ventajosamente, los ácidos grasos saturados se hacen reaccionar poco o en absoluto con los ácidos nucleicos usados en el procedimiento. Por poco se ha de entender que, en comparación con ácidos grasos poliinsaturados, los ácidos grasos saturados se hacen reaccionar con menos del 5 % de la actividad, ventajosamente menos del 3 %, de forma particularmente ventajosa con menos del 2 %, de forma muy particularmente preferente con menos del 1; 0,5; 0,25 o 0,125 %. Estos ácidos grasos preparados se pueden preparar como único producto en el procedimiento o estar presente en una mezcla de ácidos grasos.

Ventajosamente, los sustituyentes R² o R³ en las fórmulas generales I y II representan, independientemente entre sí, alquil-C₁₈-C₂₂-carbonilo saturado o insaturado, de forma particularmente preferente representan, independientemente entre sí, alquil-C₁₈-, C₂₀- o C₂₂-carbonilo insaturado con al menos dos enlaces dobles.

Los ácidos grasos poliinsaturados preparados en el procedimiento están unidos ventajosamente en lípidos de membrana y/o triacilglicéridos, pero pueden aparecer también como ácidos grasos libres o unidos en forma de otros ésteres de ácido graso en los organismos. A este respecto pueden estar presentes como "productos puros" o ventajosamente en forma de mezclas de distintos ácidos grasos o mezclas de diferentes glicéridos. A este respecto, los distintos ácidos grasos unidos en los triacilglicéridos se pueden derivar de ácidos grasos de cadena corta con 4 a 6 átomos de C, ácidos grasos de cadena media con 8 a 12 átomos de C o ácidos grasos de cadena larga con 14 a 24 átomos de C, se prefieren los ácidos grasos de cadena larga, se prefieren en particular los ácidos grasos de cadena larga LCPUFA de ácidos grasos C₁₈, C₂₀ y/o C₂₂.

En el procedimiento de acuerdo con la invención se preparan ventajosamente ésteres de ácidos grasos con moléculas de ácidos grasos C₁₈, C₂₀ y/o C₂₂ poliinsaturadas con al menos dos enlaces dobles en el éster de ácido graso, ventajosamente con al menos tres, cuatro, cinco o seis enlaces dobles en el éster de ácido graso, de forma particularmente ventajosa al menos cinco o seis enlaces dobles en el éster de ácido graso y conducen, ventajosamente, a la síntesis de ácido linoleico (=LA, C18:2^{A9,12}), ácido γ -linolénico (=GLA, C18:3^{A6,9,12}), ácido estearidónico (= SDA, C18:4^{A6,9,12,15}), ácido dihomo- γ -linolénico (=DGLA, 20:3^{A8,11,14}), ácido ω -3-eicosatetraenoico (= ETA, C20:4^{A5,8,11,14}), ácido araquidónico (ARA, C20:4^{A5,8,11,14}), ácido eicosapentaenoico (EPA, C20:5^{A5,8,11,14,17}), ácido ω -6-docosapentaenoico (C22:5^{A4,7,10,13,16}), ácido ω -6-docosatetraenoico (C22:4^{A7,10,13,16}), ácido ω -3-docosapentaenoico (= DPA, C22:5^{A7,10,13,16,19}), ácido docosahexaenoico (= DHA, C22:6^{A4,7,10,13,16,19}) o sus mezclas, preferentemente ARA, EPA y/o DHA. De forma muy particularmente preferente se preparan ácidos grasos ω -3 tales como EPA y/o DHA.

Los ésteres de ácido graso con moléculas de ácido graso C₁₈, C₂₀ y/o C₂₂ poliinsaturadas se pueden aislar de organismos que se han usado para la producción de los ésteres de ácidos grasos, en forma de un aceite o lípido, por ejemplo, en forma de compuestos tales como esfingolípidos, fosfoglicéridos, lípidos, glucolípidos tales como glucoesfingolípidos, fosfolípidos tales como fosfatidiletanolamina, fosfatidilcolina, fosfatidilserina, fosfatidilglicerol, fosfatidilinositol o difosfatidilglicerol, monoacilglicéridos, diacilglicéridos, triacilglicéridos u otros ésteres de ácidos grasos tales como los ésteres de acetilcoenzima A que contienen los ácidos grasos poliinsaturados con al menos dos, tres, cuatro, cinco o seis, preferentemente cinco o seis enlaces dobles, ventajosamente se aíslan en la forma de sus diacilglicéridos, triacilglicéridos y/o en forma de la fosfatidilcolina, de forma particularmente preferente en

forma de los triacilglicéridos. Además de estos ésteres, los ácidos grasos poliinsaturados están contenidos también como ácidos grasos libres o unidos en otros compuestos en los organismos, ventajosamente en las plantas. Por norma general, los distintos compuestos que se han mencionado anteriormente (ésteres de ácidos grasos y ácidos grasos libres) están presentes en los organismos en una distribución aproximada del 80 al 90 % en peso de triglicéridos, del 2 al 5 % en peso de diglicéridos, del 5 al 10 % en peso de monoglicéridos, del 1 al 5 % en peso de ácidos grasos libres, del 2 al 8 % en peso de fosfolípidos, complementándose la suma de los distintos compuestos hasta el 100 % en peso.

En el procedimiento de acuerdo con la invención, los LCPUFA producidos se producen con un contenido de al menos el 3 % en peso, ventajosamente de al menos el 5 % en peso, preferentemente de al menos el 8 % en peso, de forma particularmente preferente de al menos el 10 % en peso, de forma muy particularmente preferente de al menos el 15 % en peso en relación con todos los ácidos grasos en los organismos transgénicos, ventajosamente en una planta transgénica. A este respecto se hacen reaccionar ventajosamente ácidos grasos C₁₈ y/o C₂₀ que están presentes en los organismos huésped en al menos el 10 %, ventajosamente al menos el 20 %, de forma particularmente ventajosa al menos el 30 %, de forma muy particularmente ventajosa al menos el 40 % hasta dar los correspondientes productos tales como DPA o DHA, por nombrar a modo de ejemplo solo dos. Ventajosamente se producen los ácidos grasos en forma unida. Con ayuda de los ácidos nucleicos usados en el procedimiento de acuerdo con la invención, estos ácidos grasos insaturados se pueden llevar a la posición sn1, sn2 y/o sn3 de los triglicéridos producidos ventajosamente. Ya que en el procedimiento de acuerdo con la invención los compuestos de partida ácido linoleico (C18:2) o ácido linoléico (C18:3) pasan por varias etapas de reacción, los productos finales del procedimiento tales como, por ejemplo, ácido araquidónico (ARA), ácido eicosapentaenoico (EPA), ácido ω-6-docosapentaenoico o DHA no se producen como productos puros absolutos, siempre están contenidas también pequeñas trazas de los precursores en el producto final. Si en el organismo de partida o en la planta de partida están presentes, por ejemplo, tanto ácido linoleico como ácido linoléico, entonces los productos finales tales como ARA, EPA o DHA están presentes como mezclas. Ventajosamente, los precursores no deberían ascender a más del 20 % en peso, preferentemente no más del 15 % en peso, de forma particularmente preferente no más del 10 % en peso, de forma muy particularmente preferente no más del 5 % en peso en relación con la cantidad del respectivo producto final. Ventajosamente, en una planta transgénica como productos finales se unen solamente ARA, EPA o solamente DHA en el procedimiento de acuerdo con la invención o se producen como ácidos libres. Si los compuestos ARA, EPA y DHA se producen simultáneamente, se producen ventajosamente en una proporción de al menos 1:1:2 (EPA:ARA:DHA), ventajosamente de al menos 1:1:3, preferentemente de 1:1:4, de forma particularmente preferente 1:1:5.

Los ésteres de ácidos grasos o mezclas de ácidos grasos que se han producido según el procedimiento de acuerdo con la invención contienen ventajosamente del 6 al 15 % de ácido palmítico, del 1 al 6 % de ácido esteárico; el 7 - 85 % de ácido oleico; del 0,5 al 8 % de ácido vaccénico, del 0,1 al 1 % de ácido araquidónico, del 7 al 25 % de ácidos grasos saturados, del 8 al 85 % de ácidos grasos monoinsaturados y del 60 al 85 % de ácidos grasos poliinsaturados, respectivamente en relación con el 100 % y en relación con el contenido total de ácidos grasos de los organismos. Como ácido graso poliinsaturado ventajoso, en los ésteres de ácidos grasos o mezclas de ácidos grasos está contenido preferentemente al menos el 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 0,6; 0,7; 0,8; 0,9 o el 1 % en relación con el contenido total de ácidos grasos de ácido araquidónico. Además, los ésteres de ácidos grasos o mezclas de ácidos grasos que se han producido según el procedimiento de acuerdo con la invención contienen, ventajosamente, ácidos grasos seleccionados del grupo de los ácidos grasos ácido erúico (ácido 13-docosaenoico), ácido esterculínico (ácido 9,10-metileno octadec-9-enoico), ácido malvalínico (ácido 8,9-metileno heptadec-8-enoico), ácido chaulmógrico (ácido ciclo-penten-dodecanoico), ácido graso de furano (ácido 9,12-epoxi-octadeca-9,11-dienoico), ácido vernónico (ácido 9,10-epoxioctadec-12-enoico), ácido tarínico (6-octadecenoico), ácido 6-nonadecenoico, ácido santalbínico (ácido t11-octadecen-9-inoico), ácido 6,9-octadecenoico, ácido pirulínico (ácido t10-heptadecen-8-inoico), ácido crepenínico (ácido 9-octadecen-12-inoico), ácido 13,14-dihidroorofeínico, ácido octadecen-13-ene-9,11-diinoico, ácido petroselénico (ácido *cis*-6-octadecenoico), ácido 9c,12t-octadecadienoico, ácido calendúlico (ácido 8t10t12c-octadecatrienoico), ácido catalpínico (ácido 9t11t13c-octadecatrienoico), ácido eleosteárico (ácido 9c11t13t-octadecatrienoico), ácido jacárico (ácido 8c10t12c-octadecatrienoico), ácido punícico (ácido 9c11t13c-octadecatrienoico), ácido parinárico (ácido 9c11t13t15c-octadecatetraenoico), ácido pinolénico (ácido todo-*cis*-5,9,12-octadecatrienoico), ácido labalénico (ácido 5,6-octadecadienalénico), ácido ricinoleico (ácido 12-hidroxioleico) y/o ácido coriólico (ácido 13-hidroxi-9c,11t-octadecadienoico). Los ácidos grasos que se han mencionado anteriormente aparecen en los ésteres de ácidos grasos o mezclas de ácidos grasos preparados según el procedimiento de acuerdo con la invención, por norma general, ventajosamente solo en trazas, es decir, aparecen en relación con los ácidos grasos totales en menos del 30 %, preferentemente en menos del 25 %, 24 %, 23 %, 22 % o 21 %, de forma particularmente preferente en menos del 20 %, 15 %, 10 %, 9 %, 8 %, 7 %, 6 % o 5 %, de forma muy particularmente preferente en menos del 4 %, 3 %, 2 % o 1 %. Ventajosamente, los ésteres de ácidos grasos o mezclas de ácidos grasos preparados según el procedimiento de acuerdo con la invención contienen menos del 0,1 % en relación con los ácidos grasos totales o ningún ácido butírico, ningún colesterol, ningún ácido clupanodónico (= ácido docosapentaenoico, C22:5^{Δ4,8,12,15,21}) así como ningún ácido nisínico (ácido tetracosahexaenoico, C23:6^{Δ3,8,12,15,18,21}). Gracias a las secuencias de ácido nucleico de acuerdo con la invención o las secuencias de ácido nucleico usadas en el procedimiento de acuerdo con la invención se puede conseguir un aumento del rendimiento de ácidos grasos poliinsaturados de al menos el 50 %, ventajosamente de al menos el 80 %, de forma particularmente ventajosa de al menos el 100 %, de forma muy particularmente ventajosa de al

menos el 150 % frente al organismo de partida no transgénico, por ejemplo, una levadura, un alga, un hongo o una planta tal como *Arabidopsis* o lino en la comparación en el análisis de CG, véase los ejemplos.

También se pueden representar según el procedimiento que se ha descrito anteriormente ácidos grasos poliinsaturados químicamente puros o composiciones de ácidos grasos. Para esto, los ácidos grasos o las composiciones de ácidos grasos se aíslan del organismo, tal como los microorganismos o las plantas o del medio de cultivo en el que o sobre el que se han cultivado los organismos, o del organismo y del medio de cultivo de forma conocida, por ejemplo, mediante extracción, destilación, cristalización, cromatografía o combinaciones de estos procedimientos. Estos ácidos grasos o composiciones de ácidos grasos químicamente puros son ventajosos para aplicaciones en el ámbito de la industria alimentaria, de la industria cosmética y, en particular, la industria farmacéutica.

En principio se pueden usar todos los genes del metabolismo de los ácidos grasos o de los lípidos ventajosamente en combinación con el o los polinucleótidos inventivos (en el sentido de la presente solicitud, el plural ha de incluir el singular y viceversa) en el procedimiento para la producción de ácidos grasos poliinsaturados, ventajosamente se usan genes del metabolismo de los ácidos grasos o de los lípidos seleccionados del grupo acil-CoA-deshidrogenasa(s), acil-ACP [= acyl carrier protein]-desaturasa(s), acil-ACP-tioesterasa(s), ácido graso-acil-transferasa(s), acil-CoA:lisofofolípido-aciltransferasas, ácido graso-sintasa(s), ácido graso-hidroxilasa(s), acetil-coenzima A-carboxilasa(s), acil-coenzima A-oxidasa(s), ácido graso-desaturasa(s), ácido graso-acetilinasas, lipoxigenasas, triacilglicerol-lipasas, óxido de aleno-sintasas, hidroperóxido-liasas o ácido graso-elongasa(s). De forma particularmente preferente se usan genes seleccionados del grupo de las Δ -4-desaturasas, Δ -5-desaturasas, Δ -6-desaturasas, Δ -9-desaturasas, Δ -12-desaturasas, Δ -6-elongasas o Δ -5-elongasas en combinación con los polinucleótidos de acuerdo con la invención, pudiéndose usar genes individuales o varios genes en combinación.

Ventajosamente, las desaturasas usadas en el procedimiento de acuerdo con la invención transforman sus respectivos sustratos en forma de los ésteres de CoA-ácidos grasos. Esto conduce, cuando previamente ha tenido lugar una etapa de elongación, ventajosamente a un rendimiento de producto aumentado. Por ello, los respectivos productos de desaturación se sintetizan en mayores cantidades, ya que la etapa de elongación por norma general se realiza en los ésteres de CoA-ácidos grasos, mientras que la etapa de desaturación se realiza sobre todo en los fosfolípidos o en los triglicéridos. Por tanto, no es necesaria una reacción de sustitución que había hecho necesaria otra reacción enzimática posiblemente limitante entre los ésteres de CoA-ácidos grasos y los fosfolípidos o triglicéridos.

Gracias a la actividad enzimática de los polipéptidos usados en el procedimiento de acuerdo con la invención se pueden preparar los más diversos ácidos grasos poliinsaturados en el procedimiento de acuerdo con la invención. En función de la selección de los organismos usados para el procedimiento de acuerdo con la invención, tales como las plantas preferentes, se pueden preparar mezclas de los distintos ácidos grasos poliinsaturados o ácidos grasos poliinsaturados individuales tales como EPA o ARA en forma libre o unida. En función de qué composición de ácidos grasos exista en la planta de partida (ácidos grasos C18:2 o C18:3), de este modo se generan ácidos grasos que se derivan de ácidos grasos C18:2, tales como GLA, DGLA o ARA o, aquellos que se derivan de ácidos grasos C18:3, tales como SDA, ETA o EPA. Si en la planta usada para el procedimiento existe como ácido graso insaturado solamente ácido linoleico (= LA, C18:2^{Δ9,12}), entonces como productos del procedimiento se pueden producir solamente GLA, DGLA y ARA que pueden estar presentes como ácidos grasos libres o de forma unida. Si en la planta usada en el procedimiento está presente como ácido graso insaturado solo ácido α -linoléico (=ALA, C18:3^{Δ9,12,15}) tal como, por ejemplo, en lino, entonces como productos del procedimiento se pueden producir solamente SDA, ETA, EPA y/o DHA que pueden estar presentes, tal como se ha descrito anteriormente, como ácidos grasos libres o de forma unida. Mediante la modificación de la actividad de las enzimas que intervienen en la síntesis Δ -5-desaturasa, Δ -6-desaturasa, Δ -4-desaturasa, Δ -12-desaturasa, Δ -5-elongasa y/o Δ -6-elongasa se pueden producir ventajosamente de forma dirigida en los organismos que se han mencionado anteriormente en las plantas que se han mencionado anteriormente solo productos individuales. Gracias a la actividad de la Δ -6-desaturasa y Δ -6-elongasa se generan, por ejemplo, GLA y DGLA o SDA y ETA, en función de la planta de partida y el ácido graso insaturado. Preferentemente se producen DGLA o ETA o sus mezclas. Si la Δ -5-desaturasa, la Δ -5-elongasa y la Δ -4-desaturasa se introducen adicionalmente en los organismos, ventajosamente en la planta, entonces se generan adicionalmente ARA, EPA y/o DHA. Ventajosamente se sintetizan solamente ARA, EPA o DHA o sus mezclas, dependiendo de los ácidos grasos existentes en el organismo o en la planta que sirve como sustancia de partida para la síntesis. Ya que se trata de cadenas de biosíntesis, los respectivos productos finales no están presentes en los organismos como sustancias puras. Están contenidas siempre también cantidades reducidas de los compuestos precursores en el producto final. Estas cantidades reducidas ascienden a menos del 20 % en peso, ventajosamente a menos del 15 % en peso, de forma particularmente ventajosa a menos del 10 % en peso, de forma muy particularmente ventajosa a menos del 5, 4, 3, 2 o el 1 % en peso en relación con el producto final DGLA, ETA o sus mezclas o ARA, EPA, DHA o sus mezclas, ventajosamente EPA o DHA o sus mezclas.

Además de la producción de los ácidos grasos de partida para los polipéptidos usados en el procedimiento de acuerdo con la invención directamente en el organismo, los ácidos grasos se pueden alimentar también desde el exterior. Por motivos económicos se prefiere la producción en el organismo. Son sustratos preferentes el ácido linoleico (C18:2^{Δ9,12}), el ácido γ -linoléico (C18:3^{Δ6,9,12}), el ácido eicosadienoico (C20:2^{Δ11,4}), el ácido dihomo- γ -

linoléico (C20:3^{A8,11,14}), el ácido araquidónico (C20:4^{A5,8,11,14}), el ácido docosatetraenoico (C22:4^{A7,10,13,16}) y el ácido docosapentaenoico (C22:5^{A4,7,10,13,15}).

5 Para el aumento del rendimiento en el procedimiento descrito para la preparación de aceites y/o triglicéridos con un contenido ventajosamente elevado de ácidos grasos poliinsaturados es ventajoso aumentar la cantidad de producto de partida para la síntesis de ácidos grasos, esto se puede conseguir, por ejemplo, mediante la introducción en el organismo de un ácido nucleico que codifica un polipéptido con Δ -12-desaturasa. Esto es particularmente ventajoso en organismos productores de aceite tales como la familia de las *Brassicaceae*, tal como el género *Brassica*, por ejemplo colza; la familia de las *Elaeagnaceae* tal como el género *Elaeagnus*, por ejemplo el género y la especie *Olea europaea* o de la familia *Fabaceae* tal como el género *Glycine*, por ejemplo el género y la especie *Glycine max*, que presentan un elevado contenido en ácido oleico. Ya que estos organismos presentan solo un contenido reducido de ácido linoleico (Mikoklajczak y col., Journal of the American Oil Chemical Society, 38, 1961, 678 - 681), es ventajoso el uso de las Δ -12-desaturasas mencionadas para la preparación del producto de partida ácido linoleico.

15 Ventajosamente, en el procedimiento de acuerdo con la invención se usan las secuencias de ácido nucleico que se han mencionado anteriormente o sus derivados u homólogos que codifican polipéptidos que poseen todavía la actividad enzimática de las proteínas codificadas por las secuencias de ácido nucleico. Estas secuencias se clonan individualmente o en combinación con los polinucleótidos de acuerdo con la invención en construcciones de expresión y se usan para la introducción y para la expresión en organismos. Estas construcciones de expresión posibilitan, gracias a su construcción, una síntesis óptima ventajosa de los ácidos grasos poliinsaturados producidos en el procedimiento de acuerdo con la invención.

20 En una forma de realización preferente, el procedimiento comprende además la etapa de la obtención de una célula o de un organismo entero que contiene las secuencias de ácido nucleico usadas en el procedimiento, transformándose la célula y/o el organismo con un polinucleótido de acuerdo con la invención, una construcción génica o un vector tal como se describe a continuación, en solitario o en combinación con otras secuencias de ácido nucleico que codifican proteínas del metabolismo de los ácidos grasos o de los lípidos. En otra forma de realización preferente, este procedimiento comprende además la etapa de la obtención de los aceites, lípidos o ácidos grasos libres del organismo o del cultivo. En el caso del cultivo se puede tratar, por ejemplo, de un cultivo de fermentación tal como, por ejemplo, en el caso del cultivo de microorganismos tales como, por ejemplo, *Mortierella*, *Thalassiosira*, *Mantoniella*, *Ostreococcus*, *Saccharomyces* o *Thraustochytrium* o de uno de invernadero o un cultivo en campo de una planta. La célula producida de este modo o el organismo producido de este modo es ventajosamente una célula de un organismo productor de aceite, tal como una planta de fruto oleaginoso tal como, por ejemplo, cacahuete, colza, canola, lino, cáñamo, cacahuete, soja, azafranillo, cáñamo, girasoles o borraja.

Por cultivo se ha de entender, por ejemplo, el cultivo en el caso de células, tejidos u órganos vegetales sobre o en un medio de cultivo o de la planta entera sobre o en un sustrato, por ejemplo, en hidrocultivo, tierra para macetas o en un campo agrícola.

35 Como organismos o células huésped para el procedimiento de acuerdo con la invención son adecuados aquellos que están en disposición de sintetizar ácidos grasos, especialmente ácidos grasos insaturados, o que son adecuados para la expresión de genes recombinantes. A modo de ejemplo se mencionan plantas tales como *Arabidopsis*, *Asteraceae* tales como *Calendula* o plantas de cultivo tales como soja, cacahuete, ricino, girasol, maíz, algodón, lino, colza, coco, palmera de aceite, azafranillo (*Carthamus tinctorius*) o semilla de cacao, microorganismos tales como hongos, por ejemplo, el género *Mortierella*, *Thraustochytrium*, *Saprolegnia*, *Phytophthora* o *Pythium*, bacterias tales como el género *Escherichia* o *Shewanella*, levaduras tales como el género *Saccharomyces*, cianobacterias, ciliados, algas tales como *Mantoniella* o *Ostreococcus* o protozoos tales como dinoflagelados tales como *Thalassiosira* o *Cryptocodinium*. Se prefieren organismos que pueden sintetizar de forma natural aceite en grandes cantidades, tales como hongos tales como *Mortierella alpina*, *Pythium insidiosum*, *Phytophthora infestans* o plantas tales como soja, colza, coco, palmera de aceite, azafranillo, lino, cáñamo, ricino, caléndula, cacahuete, semilla de cacao o girasol o levaduras tales como *Saccharomyces cerevisiae*, se prefieren en particular soja, lino, colza, azafranillo, girasol, caléndula, *Mortierella* o *Saccharomyces cerevisiae*. En principio, como organismos huésped además de los organismos transgénicos que se han mencionado anteriormente son adecuados también animales transgénicos, ventajosamente animales no humanos, por ejemplo, *C. elegans*. Otras células huésped y organismos adecuados ya se han descrito previamente de forma exhaustiva.

55 Las plantas transgénicas que contienen los ácidos grasos poliinsaturados sintetizados en el procedimiento de acuerdo con la invención se pueden comercializar ventajosamente de forma directa sin que se tengan que aislar los aceites, lípidos o ácidos grasos sintetizados. Por plantas se ha de entender en el procedimiento de acuerdo con la invención plantas enteras así como todas las partes vegetales, órganos vegetales o partes vegetales tales como hoja, peciolo, semillas, raíz, tubérculos, anteras, fibras, pelos radiculares, tallos, embriones, tilomas, cotiledones, pedículos, material de cosecha, tejido vegetal, tejido reproductivo, cultivos celulares que están derivados de la planta transgénica y/o que se pueden usar para hacer emerger la planta transgénica. La semilla comprende, a este respecto, todas las partes de la semilla tales como las cáscaras de la semilla, células de la epidermis y de la semilla, endospermo o tejido embrionario. Pero los compuestos producidos en el procedimiento de acuerdo con la invención se pueden aislar también de los organismos, ventajosamente plantas, en forma de sus aceites, grasas, lípidos y/o ácidos grasos libres. Los ácidos grasos poliinsaturados producidos mediante este procedimiento se pueden recoger

mediante recogida de los organismos del cultivo en el que crecen o del campo. Esto se puede realizar mediante prensado o extracción de las partes vegetales, preferentemente de las semillas de las plantas. A este respecto se pueden obtener los aceites, grasas, lípidos y/o ácidos grasos libres mediante el denominado golpeo en frío o prensado en frío sin suministro de calor mediante prensado. Para que se puedan disgregar las partes vegetales, en especial las semillas, más fácilmente, previamente se trituran, vaporizan o tuestan. Las semillas pretratadas de este modo, a continuación se pueden prensar o se pueden extraer con disolventes tales como hexano caliente. A continuación se retira de nuevo el disolvente. En el caso de microorganismos, los mismos después de la recogida, por ejemplo, se extraen directamente sin más etapas de trabajo o después de la disgregación se extraen a través de distintos procedimientos conocidos por el experto. De este modo se pueden aislar más del 96 % de los compuestos producidos en el procedimiento. A continuación se continúan procesando, es decir, refinando los productos obtenidos de este modo. A este respecto, en primer lugar se retiran, por ejemplo, los mucílagos vegetales y las sustancias opacificantes. La denominada retirada de mucílago se puede realizar enzimáticamente o, por ejemplo, de forma química/física mediante adición de ácido tal como ácido fosfórico. A continuación, los ácidos grasos libres se retiran mediante tratamiento con una base, por ejemplo, hidróxido sódico. El producto obtenido para la retirada de la lejía que ha permanecido en el producto se lava exhaustivamente con agua y se seca. Para retirar los colorantes todavía contenidos en el producto, los productos se someten a un blanqueamiento con, por ejemplo, arcilla activada o carbón activo. Al final, el producto todavía se desodoriza, por ejemplo con vapor de agua.

Ventajosamente, los PUFA o LCPUFA producidos mediante este procedimiento son moléculas de ácido graso C₁₈, C₂₀ o C₂₂, ventajosamente moléculas de ácido graso C₂₀ o C₂₂ con al menos dos enlaces dobles en la molécula de ácido graso, preferentemente tres, cuatro, cinco o seis enlaces dobles. Estas moléculas de ácido graso C₁₈, C₂₀ o C₂₂ se pueden aislar del organismo en forma de un aceite, lípido o un ácido graso libre. Los organismos adecuados son, por ejemplo, los que se han mencionado anteriormente. Son organismos preferentes las plantas transgénicas.

Por tanto, una forma de realización de la invención son aceites, lípidos o ácidos grasos o fracciones de los mismos que se han producido mediante el procedimiento que se ha descrito anteriormente, de forma particularmente preferente aceites, lípidos o una composición de ácidos grasos que comprenden PUFA y que se derivan de plantas transgénicas.

Estos aceites, lípidos o ácidos grasos contienen, tal como se ha descrito anteriormente, ventajosamente del 6 al 15 % de ácido palmítico, del 1 al 6 % de ácido esteárico; el 7 - 85 % de ácido oleico; del 0,5 al 8 % de ácido vaccénico, del 0,1 al 1 % de ácido araquidónico, del 7 al 25 % de ácidos grasos saturados, del 8 al 85 % de ácidos grasos monoinsaturados y del 60 al 85 % de ácidos grasos poliinsaturados, respectivamente en relación con el 100 % y en relación con el contenido total de ácidos grasos de los organismos. Como ácido graso poliinsaturado ventajoso, en los ésteres de ácidos grasos o mezclas de ácidos grasos está contenido preferentemente al menos el 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 0,6; 0,7; 0,8; 0,9 o el 1 % en relación con el contenido total de ácidos grasos de ácido araquidónico. Además, los ésteres de ácidos grasos o mezclas de ácidos grasos que se han producido según el procedimiento de acuerdo con la invención contienen, ventajosamente, ácidos grasos seleccionados del grupo de los ácidos grasos ácido erúrico (ácido 13-docosaenoico), ácido esterculínico (ácido 9,10-metileno octadec-9-enoico), ácido malvalínico (ácido 8,9-metileno heptadec-8-enoico), ácido chaulmógrico (ácido ciclopenten-dodecanoico), ácido graso de furano (ácido 9,12-epoxi-octadeca-9,11-dienoico), ácido vernónico (ácido 9,10-epoxioctadec-12-enoico), ácido tarínico (6-octadecinoico), ácido 6-nonadecinoico, ácido santalbínico (ácido t11-octadecen-9-inoico), ácido 6,9-octadeceninoico, ácido pirulínico (ácido t10-heptadecen-8-inoico), ácido crepenínico (ácido 9-octadecen-12-inoico), ácido 13,14-dihidroorofeínico, ácido octadecen-13-ene-9,11-diinoico, ácido petroselénico (ácido *cis*-6-octadecenoico), ácido 9c,12t-octadecadienoico, ácido calendúlico (ácido 8t10t12c-octadecatrienoico), ácido catalpínico (ácido 9t11t13c-octadecatrienoico), ácido eleosteárico (ácido 9c11t13t-octadecatrienoico), ácido jacárico (ácido 8c10t12c-octadecatrienoico), ácido punícico (ácido 9c11t13c-octadecatrienoico), ácido parinárico (ácido 9c11t13t15c-octadecatetraenoico), ácido pinolénico (ácido todo-*cis*-5,9,12-octadecatrienoico), ácido labalénico (ácido 5,6-octadecadienalénico), ácido ricinoleico (ácido 12-hidroxioléico) y/o ácido coriólico (ácido 13-hidroxi-9c,11t-octadecadienoico). Los ácidos grasos que se han mencionado anteriormente aparecen en los ésteres de ácidos grasos o mezclas de ácidos grasos preparados según el procedimiento de acuerdo con la invención, por norma general, ventajosamente solo en trazas, es decir, aparecen en relación con los ácidos grasos totales en menos del 30 %, preferentemente en menos del 25 %, 24 %, 23 %, 22 % o 21 %, de forma particularmente preferente en menos del 20 %, 15 %, 10 %, 9 %, 8 %, 7 %, 6 % o 5 %, de forma muy particularmente preferente en menos del 4 %, 3 %, 2 % o 1 %. Ventajosamente, los ésteres de ácidos grasos o mezclas de ácidos grasos preparados según el procedimiento de acuerdo con la invención contienen menos del 0,1 % en relación con los ácidos grasos totales o ningún ácido butírico, ningún colesterol, ningún ácido clupanodónico (= ácido docosapentaenoico, C₂₂:5^{A4,8,12,15,21}) así como ningún ácido nisínico (ácido tetracosahexaenoico, C₂₃:6^{A3,8,12,15,18,21}).

Preferentemente, los aceites, lípidos o ácidos grasos de acuerdo con la invención contienen al menos el 0,5 %, 1 %, 2 %, 3 %, 4 % o 5 %, ventajosamente al menos el 6 %, 7 %, 8 %, 9 % o 10 %, de forma particularmente ventajosa al menos el 11 %, 12 %, 13 %, 14 % o 15 % de ARA o al menos el 0,5 %, 1 %, 2 %, 3 %, 4 % o 5 %, ventajosamente al menos el 6 % o 7 %, de forma particularmente ventajosa al menos el 8 %, 9 % o 10 % de EPA y/o DHA en relación con el contenido total de ácidos grasos del organismo de producción, ventajosamente una planta, de forma particularmente ventajosa una planta de frutos oleaginosos tales como soja, colza, coco, palmera de aceite, azafranillo, lino, cáñamo, ricino, caléndula, cacahuete, semilla de cacao, girasol o las plantas de frutos oleaginosos

adicionales mono- o dicotiledóneas que se han mencionado anteriormente.

Otra forma de realización de acuerdo con la invención es el uso del aceite, lípido, de los ácidos grasos y/o de la composición de ácidos grasos en piensos, alimentos, productos cosméticos o productos farmacéuticos. Los aceites, lípidos, ácidos grasos o mezclas de ácidos grasos de acuerdo con la invención se pueden usar de la forma conocida por el experto para la mezcla con otros aceites, lípidos, ácidos grasos o mezclas de ácidos grasos de origen animal tales como, por ejemplo, aceites de pescado. También estos aceites, lípidos, ácidos grasos o mezclas de ácidos grasos que están compuestos de constituyentes vegetales y animales se pueden usar para la producción de piensos, alimentos, productos cosméticos o productos farmacéuticos.

Por el término "aceite", "lípido" o "grasa" se entiende una mezcla de ácidos grasos que contiene un ácido o ácidos grasos insaturados, saturados, preferentemente esterificados. Se prefiere que el aceite, lípido o grasa tenga un alto contenido de ácido o ácidos grasos poliinsaturados libres o ventajosamente esterificados, en particular ácido linoleico, ácido γ -linolénico, ácido dihomo- γ -linolénico, ácido araquidónico, ácido α -linolénico, ácido estearidónico, ácido eicosatetraenoico, ácido eicosapentaenoico, ácido docosapentaenoico o ácido docosahexaenoico. Ventajosamente, la parte de ácidos grasos esterificados insaturados es aproximadamente el 30 %, más preferente es una parte del 50 %, aún más preferente es una parte del 60 %, 70 %, 80 % o más. Para la determinación se puede determinar, por ejemplo, la parte de ácido graso después de la transformación de los ácidos grasos en los ésteres de metilo mediante transesterificación mediante cromatografía de gases. El aceite, lípido o grasa puede contener distintos ácidos grasos saturados o insaturados diferentes, por ejemplo, ácido calendúlico, ácido palmítico, ácido palmitoleico, ácido esteárico, ácido oleico, etc. En particular, en función del organismo de partida, la parte de los distintos ácidos grasos puede variar en el aceite o la grasa.

En el caso de los ácidos grasos poliinsaturados producidos en el procedimiento con, ventajosamente, al menos dos enlaces dobles se trata, tal como se ha descrito anteriormente, por ejemplo, de esfingolípidos, fosfoglicéridos, lípidos, glucolípidos, fosfolípidos, monoacilglicerol, diacilglicerol, triacilglicerol u otros ésteres de ácidos grasos.

A partir de los ácidos grasos poliinsaturados producidos de este modo en el procedimiento de acuerdo con la invención con, ventajosamente, al menos cinco o seis enlaces dobles se pueden liberar los ácidos grasos poliinsaturados contenidos, por ejemplo, mediante un tratamiento con álcali, por ejemplo, KOH o NaOH acuosos o hidrólisis ácida ventajosamente en presencia de un alcohol tal como metanol o etanol o a través de una escisión enzimática y aislarse, por ejemplo, a través de separación de fases y acidificación posterior a través de, por ejemplo, H_2SO_4 . La liberación de los ácidos grasos se puede realizar también directamente sin el tratamiento que se ha descrito anteriormente.

Los ácidos nucleicos usados en el procedimiento, después de la introducción en un organismo, ventajosamente una célula vegetal o planta, se pueden encontrar en un plásmido independiente o ventajosamente estar integrados en el genoma de la célula huésped. En caso de la integración en el genoma, la integración puede ser aleatoria o realizarse mediante tal recombinación que el gen nativo se sustituye por la copia introducida, por lo que se modula la producción del compuesto deseado por la célula, o mediante el uso de un gen en "trans" de tal manera que el gen está unido funcionalmente con una unidad de expresión funcional que contiene al menos una secuencia que garantiza la expresión de un gen y al menos una secuencia que garantiza la poliadenilación de un gen transcrito de forma funcional. Ventajosamente, los ácidos nucleicos se ponen a través de casetes de multiexpresión o construcciones para la expresión multiparalela en los organismos, ventajosamente para la expresión específica de semilla multiparalela de genes en las plantas.

Los musgos y las algas son los únicos sistemas vegetales conocidos que producen cantidades considerables de ácidos grasos poliinsaturados, tales como ácido araquidónico (ARA) y/o ácido eicosapentaenoico (EPA) y/o ácido docosahexaenoico (DHA). Los musgos contienen PUFA en lípidos de membrana, mientras que las algas, los organismos relacionados con las algas y algunos hongos acumulan también cantidades significativas de PUFA en la fracción de triacilglicerol. Por tanto, las moléculas de ácido nucleico que se aíslan de tales cepas, que acumulan los PUFA también en la fracción de triacilglicerol, son particularmente ventajosas para el procedimiento de acuerdo con la invención y, por tanto, para la modificación del sistema de producción de lípidos y de PUFA en un huésped, en particular plantas, tales como plantas de frutos oleaginosos, por ejemplo, colza, canola, lino, cáñamo, soja, girasoles, borraja. Por tanto, se pueden usar ventajosamente en el procedimiento de acuerdo con la invención.

Como sustratos de los polipéptidos de acuerdo con la invención o del polipéptido del metabolismo de los ácidos grasos o de los lípidos seleccionados del grupo de las acil-CoA-deshidrogenasa(s), acil-ACP [= acyl carrier protein]-desaturasa(s), acil-ACP-tioesterasa(s), ácido graso-acil-transferasa(s), acil-CoA:lisofosfolípido-aciltransferasa(s), ácido graso-sintasa(s), ácido graso-hidroxilasa(s), acetil-coenzima A-carboxilasa(s), acil-coenzima A-oxidasa(s), ácido graso-desaturasa(s), ácido graso-acetilenasa(s), lipoxigenasa(s), triacilglicerol-lipasa(s), óxido de aleno-sintasa(s), hidroperóxido-liasa(s) o ácido graso-elongasa(s) son adecuados preferentemente ácidos grasos C_{16} , C_{18} o C_{20} . Preferentemente, los ácidos grasos que se han hecho reaccionar como sustratos en el procedimiento se hacen reaccionar en forma de sus ésteres de acil-CoA y/o sus ésteres de fosfolípidos.

Para la producción de los PUFA de cadena larga de acuerdo con la invención, los ácidos grasos C_{18} poliinsaturados en primer lugar se tienen que desaturar por la actividad enzimática de una desaturasa y a continuación prolongarse

- a través de una elongasa en al menos dos átomos de carbono. Después de un ciclo de elongación, esta actividad enzimática conduce a ácidos grasos C₂₀ y, después de dos ciclos de elongación, a ácidos grasos C₂₂. La actividad de las desaturasas y elongasas usadas en el procedimiento de acuerdo con la invención conduce, preferentemente, a ácidos grasos C₁₈, C₂₀ y/o C₂₂, ventajosamente con al menos dos enlaces dobles en la molécula de ácido graso, preferentemente con tres, cuatro, cinco o seis enlaces dobles, de forma particularmente preferente a ácidos grasos C₂₀ y/o C₂₂ con al menos dos enlaces dobles en la molécula de ácido graso, preferentemente con tres, cuatro, cinco o seis enlaces dobles, de forma particularmente preferente con cinco o seis enlaces dobles en la molécula. Después de que haya tenido lugar una primera desaturación y la prolongación, pueden realizarse otras etapas de desaturación y elongación tales como, por ejemplo, una desaturación de este tipo en posición Δ-5 y Δ-4. Son particularmente preferentes como productos del procedimiento de acuerdo con la invención ácido dihomo-γ-linolénico, ácido araquidónico, ácido eicosapentaenoico, ácido docosapentaenoico y/o ácido docosahexaenoico. Los ácidos grasos C₂₀ con al menos dos enlaces dobles en el ácido graso se pueden prolongar mediante la actividad enzimática de acuerdo con la invención en forma del ácido graso libre o en forma de los ésteres tales como fosfolípidos, glucolípidos, esfingolípidos, fosfoglicéridos, monoacilglicerol, diacilglicerol o triacilglicerol.
- 5 En lugar de biosíntesis preferente de ácidos grasos, aceites, lípidos o grasas en las plantas usadas ventajosamente es, por ejemplo, en general, la semilla o las capas celulares de la semilla, de tal manera que es razonable una expresión específica de semilla de los ácidos nucleicos usados en el procedimiento. Sin embargo, se sugiere que la biosíntesis de ácidos grasos, aceites o lípidos no tiene que estar limitada al tejido de la semilla, sino que se puede realizar también en todas las partes restantes de la planta con especificidad de tejido, por ejemplo, en las células de la epidermis o en los tubérculos.
- 10 Si en el procedimiento de acuerdo con la invención se usan como organismos microorganismos tales como levaduras, tales como *Saccharomyces* o *Schizosaccharomyces*, hongos tales como *Mortierella*, *Aspergillus*, *Phytophthora*, *Entomophthora*, *Mucor* o *Thraustochytrium*, algas tales como *Isochrysis*, *Mantoniella*, *Ostreococcus*, *Phaeodactylum* o *Cryptocodinium*, entonces estos organismos ventajosamente se cultivan fermentativamente.
- 15 Gracias al uso de los ácidos nucleicos de acuerdo con la invención que codifican una Δ-5-elongasa, los ácidos grasos poliinsaturados producidos en el procedimiento pueden aumentarse al menos en el 5 %, preferentemente al menos el 10 %, de forma particularmente preferente al menos el 20 %, de forma muy particularmente preferente al menos el 50 % con respecto al tipo natural de los organismos que contienen de forma no recombinante los ácidos nucleicos.
- 20 Gracias al procedimiento de acuerdo con la invención, los ácidos grasos poliinsaturados producidos se pueden aumentar en los organismos usados en el procedimiento en principio de dos modos. Ventajosamente se puede aumentar el acervo de ácidos grasos poliinsaturados libres y/o la parte de los ácidos grasos poliinsaturados esterificados producidos a través del procedimiento. Ventajosamente, gracias al procedimiento de acuerdo con la invención se aumenta el acervo de ácidos grasos poliinsaturados esterificados en los organismos transgénicos.
- 25 Si en el procedimiento de acuerdo con la invención se usan como organismos microorganismos, en función del organismo huésped se crían o cultivan de la forma conocida por el experto. Por norma general, los microorganismos se cultivan en un medio líquido que contiene una fuente de carbono, la mayoría de las veces en forma de azúcares, una fuente de nitrógeno, la mayoría de las veces en forma de fuentes de nitrógeno orgánico tales como extracto de levadura o sales tales como sulfato de amonio, oligoelementos tales como sales de hierro, manganeso, magnesio y eventualmente vitaminas, a temperaturas entre 0 °C y 100 °C, preferentemente entre 10 °C y 60 °C con gasificación con oxígeno. A este respecto se puede mantener el pH del líquido nutriente en un valor fijo, es decir, regularse o no durante el cultivo. El cultivo se puede realizar de forma discontinua, semicontinua o continua. Los nutrientes se pueden disponer al comienzo de la fermentación o realimentarse de forma semicontinua o continua. Los ácidos grasos poliinsaturados producidos se pueden aislar de los organismos según procedimientos conocidos por el experto tal como se ha descrito anteriormente. Por ejemplo, mediante extracción, destilación, cristalización, eventualmente precipitación salina y/o cromatografía. Para esto, los organismos ventajosamente todavía se pueden haber disgregado previamente.
- 30 El procedimiento de acuerdo con la invención, cuando en el caso de los organismos huésped se trata de microorganismos, se lleva a cabo ventajosamente a una temperatura entre 0 °C y 95°, preferentemente entre 10 °C y 85 °C, de forma particularmente preferente entre 15 °C y 75 °C, de forma muy particularmente preferente entre 15 °C y 45 °C.
- 35 A este respecto se mantiene el valor de pH ventajosamente entre pH 4 y 12, preferentemente entre pH 6 y 9, de forma particularmente preferente entre pH 7 y 8.
- 40 El procedimiento de acuerdo con la invención se puede hacer funcionar de forma discontinua, semicontinua o continua. Se puede encontrar un resumen acerca de los procedimientos conocidos de cultivo en el libro de texto de Chmiel (Bioprozeßtechnik 1. Einführung in die Bioverfahrenstechnik (Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, 1991)) o en el libro de texto de Storhas (Bioreaktoren und periphere Einrichtungen (Vieweg Verlag, Braunschweig/Wiesbaden, 1994)).
- 45
- 50
- 55

El medio de cultivo que se ha de usar tiene que satisfacer de forma adecuada las exigencias de las respectivas cepas. Están contenidas descripciones de medios de cultivo de distintos microorganismos en el manual "Manual of Methods für General Bacteriology" der American Society für Bacteriology (Washington D. C., EEUU, 1981).

5 Estos medios que se pueden emplear de acuerdo con la invención comprenden, tal como se ha descrito anteriormente, con frecuencia una o varias fuentes de carbono, fuentes de nitrógeno, sales inorgánicas, vitaminas y/u oligoelementos.

10 Son fuentes de carbono preferentes azúcares, tales como mono-, di- o polisacáridos. Son fuentes de carbono muy buenas, por ejemplo, glucosa, fructosa, manosa, galactosa, ribosa, sorbosa, ribulosa, lactosa, maltosa, sacarosa, rafinosa, almidón o celulosa. Se puede añadir azúcar también a través de compuestos complejos, tales como melazas u otros productos secundarios del refinado del azúcar a los medios. También puede ser ventajoso añadir mezclas de distintas fuentes de carbono. Otras posibles de fuentes de carbono son aceites y grasas tales como, por ejemplo, aceite de soja, aceite de girasol, aceite de cacahuete y/o aceite de coco, ácidos grasos tales como, por ejemplo, ácido palmítico, ácido esteárico y/o ácido linoleico, alcoholes y/o polialcoholes tales como, por ejemplo, glicerol, metanol y/o etanol y/o ácidos orgánicos tales como, por ejemplo, ácido acético y/o ácido láctico.

15 Las fuentes de nitrógeno son habitualmente compuestos de nitrógeno orgánicos o inorgánicos o materiales que contienen estos compuestos. Las fuentes ilustrativas de nitrógeno comprenden amoníaco en forma líquida o gaseosa o sales de amonio tales como sulfato de amonio, cloruro de amonio, fosfato de amonio, carbonato de amonio o nitrato de amonio, nitratos, urea, aminoácidos o fuentes de nitrógeno complejas tales como agua de remojo de maíz, harina de soja, proteína de soja, extracto de levadura, extracto de carne y otros. Las fuentes de nitrógeno se pueden usar en solitario o como mezclas.

20 Los compuestos de sales inorgánicas que pueden estar contenidos en los medios comprenden las sales de cloruro, fósforo o sulfato de calcio, magnesio, sodio, cobalto, molibdeno, potasio, manganeso, cinc, cobre y hierro.

25 Como fuente de azufre para la producción de productos químicos finos que contienen azufre, en particular de metionina, se pueden usar compuestos que contienen azufre inorgánicos tales como, por ejemplo, sulfatos, sulfitos, ditionitos, tetratiónatos, tiosulfatos, sulfuros, pero también compuestos de azufre orgánicos tales como mercaptanos y tioles.

Como fuente de fósforo se pueden usar ácido fosfórico, dihidrogenofosfato de potasio o hidrogenofosfato dipotásico o las correspondientes sales que contienen sodio.

30 Los formadores de quelatos se pueden añadir al medio para mantener en solución los iones de metal. Los formadores de quelatos particularmente adecuados comprenden dihidroxifenoles, tales como catecol o protocatecuato o ácidos orgánicos tales como ácido cítrico.

35 Los medios de fermentación empleados de acuerdo con la invención para el cultivo de microorganismos contienen habitualmente también otros factores de crecimiento, tales como vitaminas o promotores del crecimiento a los que pertenecen, por ejemplo, biotina, riboflavina, tiamina, ácido fólico, ácido nicotínico, pantotenato y piridoxina. Los factores de crecimiento y las sales con frecuencia proceden de componentes de medios complejos, tales como extracto de levadura, melazas, agua de remojo de maíz y similares. Además se pueden añadir precursores adecuados al medio de cultivo. La composición exacta de los compuestos del medio depende mucho del respectivo experimento y se decide individualmente para cada caso específico. Se puede obtener información acerca de la optimización de los medios del libro de texto "Applied Microbiol. Physiology, A Practical Approach" (ed. P. M. Rhodes, P. F. Stanbury, IRL Press (1997) pág. 53-73, ISBN 0 19 963577 3). Se pueden adquirir medios de crecimiento también de proveedores comerciales tales como Standard 1 (Merck) o BHI (infusión de cerebro-corazón, DIFCO) y similares.

45 Todos los componentes de medios se esterilizan por calor (20 min a 150 kPa (1,5 bar) y 121 °C) o mediante filtración a esterilidad. Los componentes se pueden esterilizar conjuntamente o, en caso necesario, por separado. Todos los componentes de medios pueden estar presentes al comienzo del cultivo o se pueden añadir opcionalmente de forma continua o por lotes.

50 La temperatura del cultivo se encuentra normalmente entre 15 °C y 45 °C, preferentemente a de 25 °C a 40 °C y se puede mantener constante o modificarse durante el experimento. El valor de pH del medio debería encontrarse en el intervalo de 5 a 8,5, preferentemente en alrededor de 7,0. Se puede controlar el valor de pH para el cultivo durante el cultivo mediante adición de compuestos básicos tales como hidróxido sódico, hidróxido potásico, amoníaco o agua de amoníaco o compuestos ácidos tales como ácido fosfórico o ácido sulfúrico. Para el control de la formación de espuma se pueden emplear agentes antiespumantes tales como, por ejemplo, poliglicoléster de ácido graso. Para mantener la estabilidad de los plásmidos se pueden añadir al medio sustancias adecuadas de efecto selectivo, tales como, por ejemplo, antibióticos. Para mantener las condiciones aerobias se aporta oxígeno o mezclas de gas que contienen oxígeno tales como, por ejemplo, aire ambiental, al cultivo. La temperatura del cultivo se encuentra normalmente a de 20 °C a 45 °C y preferentemente a de 25 °C a 40 °C. El cultivo se prolonga hasta que se haya formado un máximo del producto deseado. Este objetivo se alcanza normalmente en el intervalo de 10 horas a 160 horas.

Los caldos de fermentación obtenidos de este modo, que contienen en particular ácidos grasos poliinsaturados, habitualmente tienen una masa seca del 7,5 al 25 % en peso.

5 A continuación se puede continuar procesando el caldo de fermentación. En función del requisito, la biomasa se puede retirar completa o parcialmente mediante procedimientos de separación tales como, por ejemplo, centrifugación, filtración, decantación o una combinación de estos procedimientos del caldo de fermentación o mantenerse por completo en el mismo. Ventajosamente, la biomasa se trata después de la separación.

10 Pero el caldo de fermentación se puede espesar o concentrar también sin separación celular con procedimientos conocidos tales como, por ejemplo, con ayuda de un rotavapor, evaporador de capa delgada, equipo de evaporación molecular por gravedad, mediante ósmosis inversa o mediante nanofiltración. Este caldo de fermentación concentrado se puede tratar finalmente para la obtención de los ácidos grasos contenidos en su interior.

15 Los polinucleótidos o polipéptidos de la presente invención que intervienen en el metabolismo de lípidos y ácidos grasos, cofactores de PUFA y enzimas o en el transporte de compuestos lipófilos a través de membranas se usan en el procedimiento de acuerdo con la invención para la modulación de la producción de PUFA en organismos transgénicos, ventajosamente en plantas tales como maíz, trigo, centeno, avena, triticale, arroz, cebada, semilla de
20 soja, cacahuete, algodón, especies de *Linum*, tales como lino oleaginoso o textil, especies de *Brassica*, tales como colza, canola y nabo, pimienta, girasol, borraja, onagra y clavelón, plantas *Solanaceae*, tales como patata, tabaco, berenjena y tomate, especies de *Vicia*, guisantes, tapioca, alfalfa, plantas de arbusto (café, cacao, té), especies de *Salix*, árboles (palmera de aceite, coco) y hierbas vivaces y frutos de campo forrajeros, directamente (por ejemplo, cuando la sobreexpresión u optimización de una proteína de biosíntesis de ácido graso tiene una influencia directa
25 sobre el rendimiento, la producción y/o la eficacia de la producción del ácido graso de organismos modificados) y/o pueden tener un efecto indirecto que conduce, a pesar de esto, a un aumento del rendimiento, la producción y/o la eficacia de la producción de los PUFA o una disminución de compuestos indeseados (por ejemplo, cuando la modulación del metabolismo de lípidos y ácidos grasos, cofactores y enzimas conduce al cambio del rendimiento, la producción y/o la eficacia de la producción o de la composición de los compuestos deseados dentro de las células, lo que puede influir a su vez en la producción de uno o varios ácidos grasos).

La combinación de distintas moléculas precursoras y enzimas de biosíntesis conduce a la producción de distintas moléculas de ácidos grasos, lo que tiene un efecto decisivo sobre la composición de los lípidos, ya que los ácidos grasos poliinsaturados (= PUFA) no se pueden incluir solamente de forma sencilla en triacilglicerol, sino también en lípidos de membrana.

30 Son particularmente adecuados para la producción de PUFA, por ejemplo, ácido estearidónico, ácido eicosapentaenoico y ácido docosahexaenoico de *Brassicaceae*, *Boraginaceae*, *Primulaceae* o *Linaceae*. Es particularmente ventajoso el lino (*Linum usitatissimum*) para la producción de PUFA con las secuencias de ácido nucleico de acuerdo con la invención, tal como se ha descrito, en combinación con otras desaturadas y elongadas.

35 La síntesis lipídica se puede dividir en dos secciones: la síntesis de ácidos grasos y su unión a sn-glicerol-3-fosfato así como la adición o modificación de un grupo de cabeza polar. Los lípidos habituales que se usan en membranas comprenden fosfolípidos, glucolípidos, esfingolípidos y fosfoglicéridos. La síntesis de ácidos grasos comienza con la transformación de acetyl-CoA en malonil-CoA por la acetyl-CoA-carboxilasa o en acetyl-ACP por la acetyltransacilasa. Después de una reacción de condensación, estas dos moléculas de producto conjuntamente forman acetoacetyl-ACP que se transforma a través de una serie de reacciones de condensación, reducción y deshidratación de tal
40 manera que se obtiene una molécula de ácido graso saturado con la longitud de cadena deseada. La producción de los ácidos grasos insaturados a partir de estas moléculas se cataliza por desaturadas específicas y, de hecho, de forma aerobia mediante oxígeno molecular o de forma anaerobia (con respecto a la síntesis de ácidos grasos en microorganismos véase F. C. Neidhardt y col. (1996) *E. coli* und *Salmonella*. ASM Press: Washington, D.C., pág. 612-636 y citas bibliográficas contenidas allí; Lengeler y col. (ed.) (1999) *Biology of Prokaryotes*. Thieme: Stuttgart,
45 Nueva York y las citas bibliográficas contenidas así como Magnuson, K. y col. (1993) *Microbiological Reviews* 57: 522-542 y las citas bibliográficas contenidas). Los ácidos grasos producidos de este modo unidos a fosfolípidos a continuación tienen que traspasarse de nuevo para las posteriores elongaciones desde los fosfolípidos al acervo de éster de CoA-ácido graso. Esto lo posibilitan las acil-CoA:liso-fosfolípido-aciltransferasas. Además, estas enzimas pueden transferir los ácidos grasos elongados de nuevo desde los ésteres de CoA a los fosfolípidos. Esta secuencia
50 de reacción se puede recorrer eventualmente varias veces.

Los precursores para la biosíntesis de PUFA son, por ejemplo, ácido oleico, ácido linoleico y linoléico. Estos ácidos grasos de carbono C₁₈ se tienen que prolongar hasta C₂₀ y C₂₂ para que se obtengan ácidos grasos del tipo de cadena eicosa y docosa. Con ayuda de las desaturadas usadas en el procedimiento, tales como las Δ-12-, Δ-4-, Δ-5- y Δ-6-desaturadas y/o las Δ-5-, Δ-6-elongadas se pueden producir ácido araquidónico, ácido eicosapentaenoico,
55 ácido docosapentaenoico o ácido docosahexaenoico, ventajosamente ácido eicosapentaenoico y/o ácido docosahexaenoico y, a continuación, usarse para fines distintos en aplicaciones de alimentos, piensos, cosméticas o farmacéuticas. Con las enzimas mencionadas se pueden producir ácidos grasos C₂₀ y/o C₂₂ con al menos dos, ventajosamente al menos tres, cuatro o seis enlaces dobles en la molécula de ácido graso, preferentemente ácidos grasos C₂₀ o C₂₂ con ventajosamente cuatro, cinco o seis enlaces dobles en la molécula de ácido graso. La desaturación se puede realizar antes o después de la elongación del correspondiente ácido graso. Por tanto, los
60

5 productos de las actividades desaturasa y la posible desaturación y elongación adicionales conducen a PUFA
preferentes con un mayor grado de desaturación, incluyendo otra elongación de ácidos grasos C₂₀ a C₂₂, a ácidos
grasos tales como ácido γ -linolénico, ácido dihomo- γ -linolénico, ácido araquidónico, ácido estearidónico, ácido
eicosatetraenoico o ácido eicosapentaenoico. Los sustratos de las desaturasas y elongasas usadas en el
10 procedimiento de acuerdo con la invención son ácidos grasos C₁₆, C₁₈ o C₂₀ tales como, por ejemplo, ácido linoleico,
ácido γ -linolénico, ácido α -linolénico, ácido dihomo- γ -linolénico, ácido eicosatetraenoico o ácido estearidónico. Los
sustratos preferentes son ácido linoleico, ácido γ -linolénico y/o ácido α -linolénico, ácido dihomo- γ -linolénico o ácido
araquidónico, ácido eicosatetraenoico o ácido eicosapentaenoico. Los ácidos grasos C₂₀ o C₂₂ sintetizados con al
menos dos, tres, cuatro, cinco o seis enlaces dobles en el ácido graso se producen en el procedimiento de acuerdo
15 con la invención en forma del ácido graso libre o en forma de sus ésteres, por ejemplo, en forma de sus glicéridos.

Por el término "glicérido" se entiende un glicerol esterificado con uno, dos o tres restos ácido carboxílico (mono-, di-
o triglicérido). Por "glicérido" se entiende también una mezcla de distintos glicéridos. El glicérido o la mezcla de
glicéridos puede contener otros aditivos, por ejemplo, ácidos grasos libres, antioxidantes, proteínas, hidratos de
carbono, vitaminas y/u otras sustancias.

15 Por un "glicérido" en el sentido del procedimiento de acuerdo con la invención se entiende además derivados
obtenidos del glicerol. A esto pertenecen, aparte de los glicéridos de ácidos grasos que se han descrito
anteriormente, también glicerofosfolípidos y gliceroglucolípidos. En el presente documento se mencionan a modo de
ejemplo preferentemente glicerofosfolípidos tales como lecitina (fosfatidilcolina), cardiolipina, fosfatidilglicerol,
fosfatidilserina y alquilacilglicerofosfolípidos.

20 Además, los ácidos grasos a continuación se tienen que transportar a distintos lugares de modificación e incluirse en
el lípido de acumulación triacilglicerol. Otra etapa importante en la síntesis lipídica es la transferencia de ácidos
grasos a los grupos de cabeza polares, por ejemplo, mediante glicerol-ácido graso-aciltransferasa (véase Frentzen,
1998, Lipid, 100(4-5): 161-166).

25 Las publicaciones acerca de la biosíntesis de ácidos grasos vegetales, desaturación, el metabolismo de los lípidos y
el transporte de membrana de compuestos que contienen grasa, la betaoxidación, la modificación de ácidos grasos
y cofactores, el almacenamiento y ensamblaje de triacilglicerol incluyendo las citas bibliográficas de las mismas
véase en los siguientes artículos: Kinney, 1997, Genetic Engineering, ed.: JK Setlow, 19: 149-166; Ohlogge y
Browse, 1995, Plant Cell 7: 957-970; Shanklin y Cahoon, 1998, Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 49: 611-
641; Voelker, 1996, Genetic Engineering, ed.: JK Setlow, 18: 111-13; Gerhardt, 1992, Prog. Lipid R. 31: 397-417;
30 Gühnemann-Schäfer y Kindl, 1995, Biochim. Biophys Acta 1256: 181-186; Kunau y col., 1995, Prog. Lipid Res. 34:
267-342; Stymne y col., 1993, en: Biochemistry and Molecular Biology of Membrane and Storage Lipids of Plants,
ed.: Murata y Somerville, Rockville, American Society of Plant Physiologists, 150-158, Murphy y Ross 1998, Plant
Journal. 13(1): 1-16.

35 Los PUFA producidos en el procedimiento comprenden un grupo de moléculas que los animales superiores ya no
pueden sintetizar y, por tanto, tienen que ingerir o que los animales superiores ya no pueden producir por sí mismos
en forma suficiente y, por tanto, tienen que ingerir de forma adicional, a pesar de que se sintetizan fácilmente por
otros organismos, tales como bacterias, por ejemplo, los gatos ya no pueden sintetizar el ácido araquidónico.

40 Por fosfolípidos en el sentido de la invención se ha de entender fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina, fosfatidilserina,
fosfatidilglicerol y/o fosfatidilinositol, ventajosamente fosfatidilcolina. Los términos producción o productividad son
conocidos en el campo técnico e incluyen la concentración del producto de fermentación (compuestos de fórmula I)
que se forma en un periodo determinado de tiempo y en un volumen determinado de fermentación (por ejemplo, kg
de producto por hora por litro). También comprende la productividad dentro de una célula vegetal o una planta, es
decir, el contenido de los ácidos grasos producidos en el procedimiento deseado en relación con el contenido de
45 todos los ácidos en esta célula o planta. La expresión eficacia de la producción comprende el tiempo que es
necesario para conseguir una determinada cantidad de producción (por ejemplo, cuánto tiempo necesita la célula
para establecer un índice de rendimiento determinado de un producto químico fino). La expresión rendimiento o
rendimiento de producto/carbono es conocida en el campo técnico y comprende la eficacia de la transformación de
la fuente de carbono en el producto (es decir, el producto químico fino). Esto se expresa habitualmente por ejemplo
50 como kg de producto por kg de fuente de carbono. Mediante aumento del rendimiento o de la producción del
compuesto se aumenta la cantidad de las moléculas obtenidas o de las moléculas obtenidas adecuadas de este
compuesto en una determinada cantidad de cultivo a lo largo de un periodo de tiempo establecido. Las expresiones
biosíntesis o ruta de biosíntesis son conocidas en el campo técnico y comprenden la síntesis de un compuesto,
preferentemente de un compuesto orgánico, por una célula a partir de compuestos intermedios, por ejemplo, en un
proceso de varias etapas y muy regulado. Las expresiones degradación o ruta de degradación son conocidas en el
55 campo técnico y comprenden la escisión de un compuesto, preferentemente de un compuesto orgánico, por una
célula en productos de degradación (dicho de forma más general, moléculas más pequeñas o menos complejas),
por ejemplo en un proceso de varias etapas y muy regulado. El término metabolismo es conocido en el campo
técnico y comprende la totalidad de las reacciones bioquímicas que tienen lugar en un organismo. El metabolismo
de un determinado compuesto (por ejemplo, el metabolismo de un ácido graso) comprende entonces la totalidad de
60 las rutas de biosíntesis, modificación y degradación de este compuesto en la célula que se refieren a este
compuesto.

Mediante el empleo de los polinucleótidos de acuerdo con la invención y opcionalmente otros polinucleótidos que codifican enzimas del metabolismo de los lípidos o ácidos grasos en el procedimiento de acuerdo con la invención se pueden conseguir distintos efectos ventajosos. De este modo, el rendimiento, la producción y/o la eficacia de la producción de los ácidos grasos poliinsaturados en una planta, preferentemente en una planta de frutos oleaginosos o en un microorganismo se puede ver influidos. La cantidad o actividad de los polipéptidos o polinucleótidos de acuerdo con la invención se puede aumentar, de tal manera que se producen mayores cantidades de los productos génicos y, por tanto, finalmente mayores cantidades de los compuestos de fórmula general I. También es posible una síntesis *de novo* en un organismo que carecía de la actividad y de la capacidad para la biosíntesis de los compuestos antes de la introducción del o de los correspondientes genes. Lo correspondiente se aplica a la combinación con otras desaturasas o elongasas u otras enzimas del metabolismo de los ácidos grasos y los lípidos. A este respecto, también el uso de distintas secuencias divergentes, es decir, diferentes a nivel de secuencia de ADN puede ser ventajoso o el uso de promotores para la expresión génica que posibilita otra expresión génica en el tiempo, por ejemplo, dependiendo del grado de maduración de una semilla o de tejido de acumulación de aceite.

Mediante la introducción de un polinucleótido de acuerdo con la invención en un organismo en solitario o en combinación con otros genes en una célula se puede aumentar no solamente el flujo de biosíntesis hasta el producto final, sino que también se puede aumentar la correspondiente composición de triacilglicerol o crearse *de novo*. Asimismo, la cantidad o actividad de otros genes que son necesarios para la importación de nutrientes que son necesarios para la biosíntesis de uno o varios ácidos grasos, aceites, lípidos polares y/o neutros puede estar aumentada, de tal manera que está aumentada la concentración de estos precursores, cofactores o compuestos intermedios dentro de las células o dentro del compartimento de almacenamiento, por lo que se aumenta adicionalmente la capacidad de las células para la producción de PUFA. Gracias a la optimización de la actividad o el aumento de la cantidad de uno o varios polinucleótidos o polipéptidos de acuerdo con la invención que intervienen en la biosíntesis de estos compuestos o mediante destrucción de la actividad de uno o varios genes que intervienen en la degradación de estos compuestos, puede ser posible aumentar el rendimiento, la producción y/o la eficacia de la producción de moléculas de ácidos grasos y lípidos de organismos, en particular de plantas. Los ácidos grasos obtenidos en el procedimiento son adecuados como material de partida para la síntesis química de otros productos de valor. Se pueden usar, por ejemplo, en combinación entre sí o en solitario para la producción de productos farmacéuticos, alimentos, piensos animales o cosméticos.

A partir de las explicaciones que se han realizado anteriormente se entiende que la invención se refiere también a un procedimiento para la preparación de una composición de aceites, lípidos o ácidos grasos que comprende las etapas del procedimiento de acuerdo con la invención y la etapa adicional de la formulación de la sustancia como composición de aceite, lípido o ácido graso.

En una forma de realización preferente de este procedimiento, la composición de aceite, lípido o ácido graso se continúa formulando hasta dar un medicamento, hasta un producto cosmético, hasta un alimento, hasta un pienso, preferentemente pienso para peces o hasta un complemento alimenticio.

Finalmente, la invención se refiere fundamentalmente al uso del polinucleótido, del vector, de la célula huésped, del polipéptido o del organismo transgénico no humano de la presente invención para la producción de una composición de aceites, lípidos o ácidos grasos. Esta se puede emplear entonces preferentemente como medicamento, producto cosmético, alimento, pienso, preferentemente pienso para peces o complemento alimenticio.

El contenido de todas citas bibliográficas, solicitudes de patente, patentes y solicitudes publicadas de patente citadas en la presente solicitud de patente por la presente se incluye por referencia en el respectivo contenido especial de la divulgación.

Figuras

La Figura 1 muestra una comparación de secuencias de las secuencias de aminoácidos de $\Delta 5$ - y $\Delta 6$ -elongasa de *O. lucimarinus*, *O. tauri* y *T. pseudonana* en la comparación ClustalW.

La Figura 2 muestra una comparación de secuencias de las secuencias de aminoácidos de $\Delta 4$ -desaturasa de *O. lucimarinus*, *O. tauri* y *T. pseudonana* en la comparación ClustalW.

La Figura 3 muestra una comparación de secuencias de las secuencias de aminoácidos de $\Delta 5$ -desaturasa de *O. lucimarinus*, *O. tauri* y *T. pseudonana* en la comparación ClustalW.

La Figura 4 muestra una comparación de secuencias de las secuencias de aminoácidos de $\Delta 6$ -desaturasa de *O. lucimarinus*, *O. tauri* y *T. pseudonana* en la comparación ClustalW.

La Figura 5 muestra una comparación de secuencias de las secuencias de aminoácidos de $\Delta 12$ -desaturasa de *O. lucimarinus*, *O. tauri* y *T. pseudonana* en la comparación ClustalW.

La Figura 6 muestra la determinación mediante cromatografía de gases de los ácidos grasos de levaduras que se han transformado con el plásmido pYES (A, B) o pYES-D5Elo(OI) (C). Se añadió el ácido graso 20:4 $\Delta 5,8,11,14$ (B, C).

La Figura 7 muestra la determinación mediante cromatografía de gases de los ácidos grasos de levaduras que se han transformado con el plásmido pYES (A, B, C) o pYES-D6Elo(OI) (D, E). Se añadieron los ácidos grasos 18:3Δ6,9,12 o 18:4Δ6,9,12,15 (B, D) o (C, E).

5 La Figura 8 muestra la determinación mediante cromatografía de gases de los ácidos grasos de levaduras que se han transformado con el plásmido pYES (A, B) o pYES-D5Des(OI_2) (C). Se añadieron los ácidos grasos 20:3Δ5,8,11,14 en (B) y (C).

La Figura 9 muestra la determinación mediante cromatografía de gases de los ácidos grasos de levaduras que se han transformado con el plásmido pYES (A) o pYES-D12Des(OI) (B).

10 La Figura 10 muestra la determinación mediante cromatografía de gases de los ácidos grasos de levadura. pYes-d5Des(OI_1) en la levadura cepa InvSc sin adición de ácidos grasos (A); pYes-d5Des(OI_1) en la levadura cepa InvSc después de la adición del ácido graso 20:3n-6 (B), pYes-d5Des(OI_1) en la levadura cepa InvSc después de la adición del ácido graso 20:4n-3 (C).

La invención se continúa aclarando mediante los siguientes ejemplos, que no se han de considerar limitantes.

Ejemplos

15 Ejemplo 1: procedimientos generales de clonación

Los procedimientos de clonación tales como, por ejemplo, escisiones por restricción, electroforesis en gel de agarosa, purificación de fragmentos de ADN, transferencia de ácidos nucleicos a membranas de nitrocelulosa y nylon, enlazado de fragmentos de ADN, transformación de células de *Escherichia coli*, cultivo de bacterias y el análisis de secuencia de ADN recombinante se llevaron a cabo tal como se describe en Sambrook y col. (1989) (Cold Spring Harbor Laboratory Press: ISBN 0-87969-309-6).

Ejemplo 2: análisis de secuencia de ADN recombinante

25 La secuenciación de moléculas de ADN recombinante se realizó con un secuenciador de ADN de fluorescencia láser de la empresa ABI según el procedimiento de Sanger (Sanger y col. (1977) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 74, 5463-5467). Los fragmentos resultantes de una reacción en cadena de la polimerasa se secuenciaron y se comprobaron para evitar errores de la polimerasa en construcciones a expresar.

Ejemplo 3: extracción de lípidos de levaduras

30 El efecto de la modificación genética en plantas, hongos, algas, ciliados o en la producción de un compuesto deseado (tal como un ácido graso) se puede determinar al cultivarse los microorganismos modificados o la planta modificada en condiciones adecuadas (tales como las que se han descrito anteriormente) y al examinar el medio y/o los componentes celulares en relación con la producción aumentada del producto deseado (es decir, de lípidos o de un ácido graso). Esta técnicas de análisis son conocidas por el experto y comprenden espectroscopía, cromatografía en capa fina, procedimientos de tinción de distinto tipo, procedimientos enzimáticos y microbiológicos así como cromatografía analítica, tal como cromatografía líquida de alto rendimiento (véase, por ejemplo, Ullman, Encyclopedia of Industrial Chemistry, tomo A2, pág. 89-90 y pág. 443-613, VCH: Weinheim (1985); Fallon, A., y col., (1987) "Applications of HPLC in Biochemistry" en: Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology, tomo 17; Rehm y col. (1993) Biotechnology, tomo 3, capítulo III: "Product recovery and purification", pág. 469-714, VCH: Weinheim; Belter, P. A., y col. (1988) Bioseparations: downstream processing for Biotechnology, John Wiley and Sons; Kennedy, J. F. y Cabral, J. M. S. (1992) Recovery processes for biological Materials, John Wiley and Sons; Shaeiwitz, J. A. y Henry, J. D. (1988) Biochemical Separations, en: Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry, tomo B3; capítulo 11, pág. 1-27, VCH: Weinheim; y Dechow, F. J. (1989) Separation and purification techniques in biotechnology, Noyes Publications).

45 Además de los procedimientos que se han mencionado anteriormente, los lípidos vegetales se extraen de material vegetal tal como se ha descrito por Cahoon y col. (1999) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 96 (22): 12935-12940, y Browse y col. (1986) Analytic Biochemistry 152: 141-145. El análisis cualitativo y cuantitativo de lípidos o ácidos grasos está descrito en Christie, William W., Advances in Lipid Methodology, Ayr/Scotland: Oily Press (Oily Press Lipid Library; 2); Christie, William W., Gas Chromatography and Lipids. A Practical Guide - Ayr, Scotland: Oily Press, 1989, Repr. 1992, IX, 307 pág. (Oily Press Lipid Library; 1); "Progress in Lipid Research, Oxford: Pergamon Press, 1 (1952) - 16 (1977) con el título: Progress in the Chemistry of Fats and Other Lipids CODEN.

50 Adicionalmente a la medición del producto final de la fermentación, también es posible analizar otros componentes de las rutas metabólicas que se usan para la producción del compuesto deseado, tales como productos intermedios y secundarios para determinar la eficacia global de la producción del compuesto. Los procedimientos de análisis comprenden mediciones de las cantidades de nutrientes en el medio (por ejemplo, azúcar, hidrocarburos, fuentes de nitrógeno, fosfato y otros iones), mediciones de la composición de la biomasa y del crecimiento, análisis de la producción de metabolitos habituales de rutas de biosíntesis y mediciones de gases que se generan durante la fermentación. Están descritos procedimientos habituales para estas mediciones en Applied Microbial Physiology; A

Practical Approach, P. M. Rhodes y P. F. Stanbury, ed., IRL Press, pág. 103-129; 131-163 y 165-192 (ISBN: 0199635773) y citas bibliográficas indicadas allí.

Un ejemplo es el análisis de ácidos grasos (abreviaturas: EMAG, éster de metilo de ácido graso; CG-EM, cromatografía líquida-espectrometría de masas; TAG, triacilglicerol; CCF, cromatografía en capa fina).

- 5 La comprobación inequívoca de la presencia de productos de ácidos grasos se puede obtener mediante análisis de organismos recombinantes según procedimientos de análisis convencionales: CG, CG-EM o CCF tal como se describe de diferente modo por Christie y las citas bibliográficas de allí (1997, en: *Advances on Lipid Methodology*, cuarta ed.: Christie, Oily Press, Dundee, 119-169; 1998, *Gaschromatographie-Massenspektrometrie-Verfahren*, *Lipide* 33: 343-353).
- 10 El material que va a analizarse se puede disgregar mediante tratamiento con ultrasonidos, molienda en el molino de vidrio, nitrógeno líquido y molienda o a través de otros procedimientos aplicables. El material se tiene que centrifugar después de la disgregación. El sedimento se resuspende en agua destilada, se calienta durante 10 min a 100 °C, se enfría sobre hielo y se centrifuga de nuevo, seguido de la extracción en ácido sulfúrico 0,5 M en metanol con el 2 % de dimetoxipropano durante 1 h a 90 °C, lo que conduce a compuestos hidrolizados de aceite y lípidos que dan como resultado lípidos transmetilados. Estos ésteres de metilo de ácidos grasos se extraen en éter de petróleo y finalmente se someten a un análisis de CG mediante el uso de una columna capilar (Chrompack, WCOT Fused Silica, CP-Wax-52 CB, 25 micróm, 0,32 mm) con un gradiente de temperaturas entre 170 °C y 240 °C durante 20 min y 5 min a 240 °C. Se tiene que definir la identidad de los ésteres de metilo de ácidos grasos obtenidos mediante el uso de patrones que se pueden obtener de fuentes comerciales (es decir, Sigma).

20 **Ejemplo 4: clonación y caracterización de genes de elongasa de *Ostreococcus lucimarinus***

Mediante búsqueda de zonas conservadas en las secuencias de proteína en genes de elongasas se han podido identificar dos secuencias con motivos correspondientes en un banco de datos de secuencias de *Ostreococcus lucimarinus*. En otra etapa se han caracterizado los genes mediante comparación de secuencias, predicción génica y la búsqueda de zonas codificantes. Se han podido encontrar las siguientes zonas codificantes:

25

Tabla 1: zonas codificantes

Nombre de gen	SEC ID	Aminoácidos
D5Elo(OI)	12	298
D6Elo(OI)	16	287

La Figura 1 muestra las similitudes de secuencia con otras algas (*Ostreococcus tauri*, *Thalassiosira pseudonana*) para las distintas secuencias de aminoácidos de elongasa en la comparación de secuencias ClustalW. Sorprendentemente, las secuencias de *O. lucimarinus* se diferencian en su secuencia de aminoácidos claramente de las demás algas.

30

Tabla 2: identidades de secuencia de elongasas individuales

Nombre de gen	SEC ID	Organismo	Identidad en %
D5Elo(OI)	28	<i>O. lucimarinus</i>	100
		<i>O. tauri</i>	77
		<i>T. pseudonana</i>	21
D6Elo(OI)	32	<i>O. lucimarinus</i>	100
		<i>O. tauri</i>	71
		<i>T. pseudonana</i>	25

La clonación se llevó a cabo del siguiente modo:

- 35 se centrifugaron 40 ml de un cultivo de *Ostreococcus lucimarinus* en la fase estacionaria y se resuspendieron en 100 µl de agua bidestilada y se almacenaron a -20 °C. A base del procedimiento de PCR se amplificaron los ADN genómicos correspondientes. Los pares de cebadores correspondientes se seleccionaron de tal manera que llevaban la secuencia consenso de levadura para traducción de alta eficacia (Kozak, Cell 1986, 44: 283-292) al lado del codón de inicio. La amplificación de los ADN se llevó a cabo, respectivamente, con 1 µl de células descongeladas, dNTP 200 µM, 2,5 U de *Taq*-polimerasa y 100 pmol de cada cebador en un volumen total de 50 µl. Las condiciones para la PCR eran las siguientes: primera desnaturalización a 95 °C durante 5 minutos, seguido de 30 ciclos a 94 °C durante 30 segundos, 55 °C durante 1 minuto y 72 °C durante 2 minutos así como

40

una última etapa de prolongación a 72 °C durante 10 minutos.

Para la caracterización de la función de las elongasas de *Ostreococcus lucimarinus* se clonaron las fases de lectura abierta de los correspondientes ADN cadena abajo del promotor GAL1 inducible por galactosa de pYES2.1/V5-His-TOPO (Invitrogen), obteniéndose pOLE1 y pOLE2.

- 5 La cepa 334 de *Saccharomyces cerevisiae* se transformó mediante electroporación (1500 V) con el vector pOLE1 o pOLE2. Como control se usa una levadura que se transforma con el vector vacío pYES2. La selección de las levaduras transformadas se realiza en placas de agar de medio mínimo completo (CMdum) con el 2 % de glucosa, pero sin uracilo. Después de la selección se seleccionan, respectivamente, tres transformantes para la expresión funcional adicional.
- 10 Para la expresión de las elongasas de OI, en primer lugar se inoculan precultivos de respectivamente 5 ml de medio líquido CMdum con el 2 % (p/v) de rafinosa, pero sin uracilo, con el transformante seleccionado y se incuban durante 2 días a 30 °C, 200 rpm. 5 ml de medio líquido CMdum (sin uracilo) con el 2 % de rafinosa y 300 µM de distintos ácidos grasos se inoculan entonces con los precultivos hasta una DO₆₀₀ de 0,05. La expresión se induce mediante la adición del 2 % (p/v) de galactosa. Los cultivos se incubaron durante otras 96 h a 20 °C.
- 15 Se analizan del siguiente modo las levaduras que se han transformado con los plásmidos pYES2, pOLE1 y pOLE2:

- las células de levadura de los cultivos principales se recogen mediante centrifugación (100 x g, 5 min, 20 °C) y se lavan con NaHCO₃ 100 mM, pH 8,0, para eliminar el resto del medio y los ácidos grasos. De los sedimentos celulares de levadura se preparan ésteres de metilo de ácido graso (EMAG) mediante metanolisis ácida. Para esto, los sedimentos celulares se incuban con 2 ml de ácido sulfúrico metanólico 1 N y el 2 % (v/v) de dimetoxipropano durante 1 h a 80 °C. La extracción de los EMAG se realiza mediante extracción doble con éter de petróleo (EP). Para la eliminación de ácidos grasos no derivatizados, las fases orgánicas se lavan respectivamente una vez con 2 ml de NaHCO₃ 100 mM, pH 8,0 y 2 ml de agua destilada. A continuación, las fases de EP se secan con Na₂SO₄, se concentran por evaporación con argón y se recogen en 100 µl de EP. Las muestras se separan en una columna capilar DB-23 (30 m, 0,25 mm, 0,25 µm, Agilent) en un cromatógrafo de gases Hewlett-Packard 6850 con un detector de ionización de llama. Las condiciones para el análisis de CGL son las siguientes: la temperatura del horno se programó en de 50 °C a 250 °C con una velocidad de 5 °C/min y finalmente 10 min a 250 °C (mantener).
- 20
- 25

- La identificación de las señales se realiza mediante comparaciones de los tiempos de retención con patrones correspondientes de ácidos grasos (Sigma). La metodología está descrita, por ejemplo, en Napier y Michaelson, 2001, *Lipids*. 36(8): 761-766; Sayanova y col., 2001, *Journal of Experimental Botany*. 52(360): 1581-1585, Sperling y col., 2001, *Arch. Biochem. Biophys.* 388(2): 293-298 y Michaelson y col., 1998, *FEBS Letters*. 439(3): 215-218.
- 30

Determinación de actividad y de sustrato de D5Elo(OI):

- Para el establecimiento de la actividad y especificidad de sustrato de d5Elo(OI) se suministraron distintos ácidos grasos (Tabla 3). A este respecto, los sustratos suministrados se pueden comprobar en grandes cantidades en todas las levaduras transgénicas. Las levaduras transgénicas muestran la síntesis de nuevos ácidos grasos, los productos de la reacción de d5Elo(OI). Esto significa que se ha expresado funcionalmente el gen d5Elo(OI).
- 35

Tabla 3: suministro de levaduras con los plásmidos pYES y pYES-D5Elo(OI)

Nombre de muestra/ácido graso suministrado	Conversión esperada	Sustrato	Producto
pYES	control	-	-
pYES-D5Elo(OI_GA) 20:4	20:4 -> 22:4	98,0	48,5
pYES-D5Elo(OI_GA) 20:4	20:4 -> 22:4	62,6	32,2

- La Figura 6 muestra los cromatogramas de los experimentos individuales. Como control, en la Figura 6A se analizó levaduras transformadas con pYES sin adición de ácidos grasos. En la Figura 1B se suministró a las levaduras transformadas con pYES el ácido graso 20:4Δ5,8,11,14. A este respecto se puede detectar el ácido graso suministrado en grandes cantidades. El mismo experimento se lleva a cabo en la Figura 6C para levaduras transformadas con el plásmido pYES-D5Elo(OI). A diferencia de la Figura 6B, en las levaduras con pYES-D5Elo(OI) se puede detectar un ácido graso adicional que se debe a la actividad de D5Elo(OI). Mediante la actividad se puede caracterizar D5Elo(OI) como Δ5-elongasa.
- 40
- 45

Resumen de los resultados para D5Elo(OI):

En los experimentos de suministro a levaduras se ha podido mostrar que el gen clonado D5Elo(OI) SEC ID 12 se ha expresado funcionalmente y posee actividad elongasa. Mediante el ácido graso suministrado se puede caracterizar D5Elo(OI) como Δ5-elongasa, es decir, los ácidos grasos C20 con un enlace doble Δ5 se prolongan

específicamente.

Determinación de actividad y de sustrato D6Elo(OI):

5 Para el establecimiento de la actividad y especificidad de sustrato de D6Elo(OI) se suministraron distintos ácidos grasos (Tabla 4). En los sustratos suministrados a este respecto se pueden comprobar en grandes cantidades en todas las levaduras transgénicas. Las levaduras transgénicas muestran la síntesis de nuevos ácidos grasos, los productos de la reacción de D6Elo(OI). Esto significa que se ha expresado funcionalmente el gen D6Elo(OI).

Tabla 4: suministro/conversión de distintos ácidos grasos mediante D6Elo(OI)

Nombre de muestra/ácido graso suministrado	Conversión esperada	Sustrato	Producto
pYES	Control	-	-
pYES-D6Elo(OI_GA) γ 18:3	γ 18:3 -> 20:3	236,5	232,1
pYES-D6Elo(OI_GA) γ 18:3	γ 18:3 -> 20:3	111,2	126,5
pYES-D6Elo(OI_GA) 18:4	18:4 -> 20:4	94,3	82,9
pYES-D6Elo(OI_GA) 18:4	18:4 -> 20:4	73,2	68,3

10 La Figura 7 muestra los cromatogramas de los experimentos individuales. Como control en la Figura 7A se analizaron levaduras transformadas con pYES sin adición de ácidos grasos. En las Figuras 7B y 7C se añadió a las levaduras transformadas con pYES el ácido graso 18:3 Δ 6,9,12 (B) o 18:4 Δ 6,9,12,15 (C). A este respecto, el ácido graso suministrado se ha podido detectar en grandes cantidades. El mismo experimento se lleva a cabo en las Figuras 7C y 7D para levaduras transformadas con el plásmido pYES-D6Elo(OI). A diferencia de las Figuras 7B y 7C, en las levaduras con pYES-D6Elo(OI) se puede detectar un ácido graso adicional que se debe a la actividad de D6Elo(OI). Mediante la actividad se puede caracterizar D6Elo(OI) como Δ 6-elongasa.

Resumen de los resultados para D6Elo(OI):

En los experimentos de suministro a levaduras se ha podido mostrar que el gen clonado D6Elo(OI) SEC ID 16 se ha expresado funcionalmente y posee actividad elongasa. Mediante el ácido graso suministrado, D6Elo(OI) se puede caracterizar como Δ 6-elongasa, es decir, ácidos grasos C18 con un enlace doble Δ 6 se prolongan específicamente.

20 **Ejemplo 5: clonación y caracterización de genes de desaturasa de *Ostreococcus lucimarinus***

Mediante búsqueda de zonas conservadas en las secuencias de proteína con ayuda de motivos conservados (cajas de his, Domergue y col. 2002, Eur. J. Biochem. 269, 4105-4113) se han podido identificar cinco secuencias con motivos correspondientes en un banco de datos de secuencias de *Ostreococcus lucimarinus* (secuencias genómicas). En otra etapa se caracterizaron los genes mediante comparación de secuencias, predicción génica y la búsqueda de regiones codificantes. Se han encontrado las siguientes regiones codificantes:

Tabla 5: regiones codificantes

Nombre del gen	SEC ID	Aminoácidos
D4Des(OI)	22	466
D5Des(OI)	26	491
D5Des_2(OI)	24	459
D6Des(OI)	30	482
D12Des(OI)	18	362
D12Des_2(OI)	20	442

30 Para la caracterización de la función de la desaturasa d6Des(OI) (= Δ -6-desaturasa) de *Ostreococcus lucimarinus* se clona la fase de lectura abierta del ADN cadena abajo del promotor GAL1 inducible por galactosa de pYES2.1/V5-His-TOPO (Invitrogen), obteniéndose el correspondiente clon pYES2.1-d6Elo(OI). De forma correspondiente se pueden clonar otros genes de desaturasa de *Ostreococcus*.

La cepa 334 de *Saccharomyces cerevisiae* se transforma mediante electroporación (1500 V) con el vector pYES2.1-d6Elo(OI). Como control se ha usado una levadura que se transforma con el vector vacío pYES2. La selección de las levaduras transformadas se realiza en placas de agar de medio mínimo completo (CMdum) con el 2 % de glucosa,

pero sin uracilo. Después de la selección se seleccionan respectivamente tres transformantes para la expresión funcional adicional.

5 Para la expresión de la d6Elo(OI) desaturasa, en primer lugar se inoculan precultivos de respectivamente 5 ml de medio líquido CMdum con el 2 % (p/v) de rafinosa, pero sin uracilo, con el transformante seleccionado y se incuban durante 2 días a 30 °C, 200 rpm. Entonces se inoculan 5 ml de medio líquido CMdum (sin uracilo) con el 2 % de rafinosa y 300 μ M de distintos ácidos grasos con los precultivos hasta una DO₆₀₀ de 0,05. La expresión se induce mediante la adición del 2 % (p/v) de galactosa. Los cultivos se incuban durante otras 96 h a 20 °C.

10 Las Figuras 2 a 5 muestran las similitudes de secuencia con otras algas (*Ostreococcus tauri*, *Thalassiosira pseudonana*) para las distintas secuencias de aminoácidos de desaturasa en la comparación de secuencias ClustalW. Sorprendentemente se diferencian las secuencias de *O. lucimarinus* en su secuencia de aminoácidos claramente de las otras algas.

Tabla 6: identidad de secuencia de desaturasas individuales

Nombre del gen	SEC ID	Organismo	Identidad en %
D4Des(OI)	22	<i>O. lucimarinus</i>	100
		<i>O. tauri</i>	69
		<i>T. pseudonana</i>	20
D5Des(OI)	26	D5Des_2(OI)	23
		<i>O. tauri_2</i>	47
		<i>T. pseudonana</i>	22
D5Des_2(OI)	24	D5Des(OI)	23
		<i>O. tauri_2</i>	14
		<i>T. pseudonana</i>	19
D6Des(OI)	30	<i>O. lucimarinus</i>	100
		<i>O. tauri</i>	62
		<i>T. pseudonana</i>	15
D12Des(OI)	18	D12Des_2(OI)	51
		<i>O. tauri</i>	82
		<i>T. pseudonana</i>	34
D12Des_2(OI)	20	D12Des(OI)	51
		<i>O. tauri</i>	47
		<i>T. pseudonana</i>	32

Los genes se caracterizan del siguiente modo:

15 para la expresión de las desaturasas en células de levadura se recogen de los cultivos principales mediante centrifugación (100 x g, 5 min, 20 °C) y se lavan con NaHCO₃ 100 mM, pH 8,0 para retirar el medio restante y ácidos grasos. Los sedimentos celulares de levadura se extraen durante 4 h con cloroformo/metanol (1:1). La fase orgánica resultante se extrae con el 0,45 % de NaCl, se seca con Na₂SO₄ y se evapora al vacío. El extracto lipídico se separa mediante cromatografía en capa fina (tanque horizontal, cloroformo:metanol:ácido acético 65:35:8) adicionalmente en las clases de lípidos fosfatidilcolina (PC), fosfatidilinositol (PI), fosfatidilserina (PS), fosfatidiletanolamina (PE) y lípidos neutros (NL). Los distintos puntos separados sobre la placa de capa fina se retiran mediante raspado. Para el análisis mediante cromatografía de gases se prepararon ésteres de metilo de ácido graso (EMAG) mediante metanolisis ácida. Para esto, los sedimentos celulares se incubaron con 2 ml de ácido sulfúrico metanólico 1 N y el 2 % (v/v) de dimetoxipropano durante 1 h a 80 °C. La extracción de los EMAG se realizó mediante extracción doble con éter de petróleo (EP). Para la retirada de ácidos grasos no derivatizados, la fase orgánica se lava respectivamente una vez con 2 ml de NaHCO₃ 100 mM, pH 8,0 y 2 ml de agua destilada. A continuación, las fases de EP se secan con Na₂SO₄, se concentran con argón y se recogen en 100 μ l de EP. Las muestras se separan en una columna capilar DB-23 (30 m, 0,25 mm, 0,25 μ m, Agilent) en un cromatógrafo de gases Hewlett-Packard 6850 con detector de ionización de llama. Las condiciones para el análisis de CGL son las siguientes: la temperatura del horno se programa en de 50 °C a 250 °C con una

20

25

30

velocidad de 5 °C/min y finalmente 10 min a 250 °C (mantener).

La identificación de las señales se realiza mediante comparaciones de los tiempos de retención con patrones correspondientes de ácidos grasos (Sigma). La metodología está descrita, por ejemplo, en Napier y Michaelson, 2001, *Lipids*. 36(8): 761-766; Sayanova y col., 2001, *Journal of Experimental Botany*. 52(360): 1581-1585, Sperling y col., 2001, *Arch. Biochem. Biophys.* 388(2): 293-298 y Michaelson y col., 1998, *FEBS Letters*. 439(3): 215-218.

Determinación de actividad y sustrato de D5Des₂ (OI):

Para el establecimiento de la actividad y especificidad de sustrato de D5Des₂ (OI) SEC ID 24 se suministraron distintos ácidos grasos (Tabla 7). A este respecto se pueden comprobar los sustratos suministrados en grandes cantidades en todas las levaduras transgénicas. Las levaduras transgénicas muestran la síntesis de nuevos ácidos grasos, los productos de la reacción de D5Des₂ (OI). Esto significa que el gen D5Des₂ (OI) se ha expresado funcionalmente.

Tabla 7: suministro/conversión de distintos ácidos grasos por D5Des(OI₂).

Nombre de muestra/ácido graso suministrado	Conversión esperada	Sustrato	Producto
pYES	Control	-	-
pYES-d5Des(OI_GA) sin AG	-		
pYES-d5Des(OI_GA) 20:3	20:3 -> 20:4ara	11,1	0,9

La Figura 8 muestra los cromatogramas de los experimentos individuales. Como control en la Figura 8A se analizaron levaduras transformadas con pYES sin adición de ácidos grasos. En la Figura 8B se añadió a las levaduras transformadas con pYES el ácido graso 3Δ⁸,11,14. A este respecto se puede detectar el ácido graso suministrado en grandes cantidades. El mismo experimento se ha llevado a cabo en la Figura 8C para levaduras transformadas con el plásmido pYES-D5Des(OI₂). A diferencia con la Figura 8B, en las levaduras con pYES-D5Des(OI₂) se puede detectar un ácido graso adicional que se debe a la actividad de D5Des(OI₂). Mediante la actividad se puede caracterizar D5Des(OI₂) como Δ⁵-desaturasa.

Resumen de los resultados de D5Des₂ (OI):

En los experimentos de suministro a levaduras se ha podido mostrar que se expresó funcionalmente el gen clonado D5Des₂ (OI) SEC ID 24 y que posee actividad desaturasa. Mediante el ácido graso suministrado se puede caracterizar D5Des₂ (OI) como Δ⁵-desaturasa, es decir, los ácidos grasos C20 con un enlace doble Δ⁸ se deshidrogenan específicamente en la posición Δ⁵.

Determinación de actividad y de sustrato de D12Des(OI):

Para el establecimiento de la actividad y de la especificidad de sustrato de D12Des(OI) SEC ID 18 se suministraron distintos ácidos grasos (Tabla 8). A este respecto se pueden comprobar los sustratos suministrados en grandes cantidades en todas las levaduras transgénicas. Las levaduras transgénicas muestran la síntesis de nuevos ácidos grasos, los productos de la reacción de D12Des(OI). Esto significa que se ha expresado funcionalmente el gen D12Des(OI).

Tabla 8: suministro/conversión de distintos ácidos grasos por D12Des(OI).

Nombre de muestra/ ácido graso suministrado	Conversión esperada	Sustrato	Producto
pYES	Control	-	-
pYES-D12Des(OI)	18:1 -> 18:2	24,9	1,1
pYES-D12Des(OI)	18:1 -> 18:2	24,1	1,0

La Figura 9 muestra los cromatogramas de los experimentos individuales. Como control, en la Figura 9A se analizaron levaduras transformadas con pYES sin adición de ácidos grasos. En la Figura 9 se analizaron levaduras transformadas con pYES-D12Des(OI). A diferencia de la Figura 9A, en las levaduras con pYES-D12Des(OI) se puede detectar un ácido graso adicional que se debe a la actividad de D12Des(OI). Mediante la actividad se puede caracterizar D12Des(OI) como Δ¹²-desaturasa.

Resumen de los resultados para D12Des(OI):

En los experimentos de suministro a levadura se ha podido mostrar que el gen clonado D12Des(OI) SEC ID 18 se ha expresado funcionalmente y posee actividad desaturasa. Mediante el espectro de ácidos grasos se puede

caracterizar D12Des(OI) como Δ 12-desaturasa, es decir, los ácidos grasos C18 con un enlace doble Δ 9 se deshidrogenan específicamente en la posición Δ 12.

Determinación de actividad y sustrato de D5Des(OI):

5 Para el establecimiento de la actividad y especificidad de sustrato de D5Des(OI) SEC ID 26 se suministraron distintos ácidos grasos (Tabla 9). A este respecto, los sustratos suministrados se pueden comprobar en grandes cantidades en todas las levaduras transgénicas. Las levaduras transgénicas muestran la síntesis de nuevos ácidos grasos, los productos de la reacción D5Des(OI). Esto significa que se ha expresado funcionalmente el gen D5Des(OI).

Tabla 9: conversión de distintos ácidos grasos por D5Des(OI)

Muestra	Conversión esperada	Sustrato	Producto	Índice de conversión [%]
d5Des(OI_febit)	20:3n-6 -> 20:4ara	29,4	12,4	29,6
d5Des(OI_febit)	20:3n-6 -> 20:4ara	19,8	10,3	34,3
d5Des(OI_febit)	20:4n-3 -> 20:5	nd	1,2	>50 %

10 La Figura 10 muestra el análisis mediante cromatografía de gases de experimentos de suministro a levaduras. Después la expresión de pYes-d5Des(OI_1) en la levadura cepa InvSc sin adición de ácidos grasos (Figura 10A) no se ha constatado ninguna conversión de los ácidos grasos presentes. La expresión de pYes-d5Des(OI_1) en la levadura cepa InvSc después de la adición del ácido graso 20:3n-6 (B) conduce a la conversión específica de 20:3n-6 hasta dar 20:4n-6 (ácido araquidónico) y la expresión de pYes-d5Des(OI_1) en la levadura cepa InvSc después de la adición de ácido graso 20:4n-3 (C) a la conversión específica de 20:4n-3 hasta dar 20:5n-3 (ácido eicosapentaenoico). La incorporación específica de enlaces dobles d5 en los ácidos grasos suministrados muestra la actividad d5 desaturasa de d5Des(OI).

Resumen de los resultados para D5Des(OI):

20 En los experimentos de suministro a levadura se ha podido mostrar que se ha expresado funcionalmente el gen clonado D5Des(OI) SEC ID 26 y que posee actividad desaturasa. Mediante el espectro de ácidos grasos se puede caracterizar D5Des(OI) como Δ 5-desaturasa, es decir, los ácidos grasos C20 con un enlace doble Δ 8 se deshidrogenan específicamente en la posición Δ 5.

LISTADO DE SECUENCIAS

- 25 <110> BASF Plant Science GmbH
- <120> Procedimiento para la producción de ácidos grasos poliinsaturados en organismos transgénicos
- 30 <130> BPS64509EPDIV1
- <140>
- <141>
- 35 <160> 44
- <170> PatentIn versión 3.1
- <210> 1
- 40 <211> 1696
- <212> ADN
- <213> *Ostreococcus lucimarinus*
- <220>
- 45 <223> Delta-12 desaturasa
- <220>
- <221> CDS
- <222> (374)..(1462)
- 50 <400> 1

ES 2 531 391 T3

```

cctttgtaac gccccgattc gttcgcgcgt ttcgctcgcc tcgctccgc cttcgcgcct      60
cgcgggataa ggctctcccg tcgctcgtc gcgttcgcac tcaccggcgc tcgctcgctc      120
accgctttcc cgcggcaccg cgatccacga acgacagtcg cgcgtcatgc tccgcgtctt      180
gacgtccccg cgcgctcgcg cgctccccgc cgccgcgttc tctcgtcga cgacgtcacg      240
tcgctatcgc gcgctcgcg cccgcgccgc gcgctccgac gccgcgacga cctacgacac      300
gtcgcgacac gaacaactgc gctcgggctt gaacgccaaag gcgctgaacg ccgaggcgaa      360

gacgttccccg acg atg caa gag gtg ctg cgc gcg atc ccg agg gag tgc      409
                Met Gln Glu Val Leu Arg Ala Ile Pro Arg Glu Cys
                1           5           10
ttc gag cgg gac acg gga aag tcg ctc gcg tac gcg gcg tgc tcg acg      457
Phe Glu Arg Asp Thr Gly Lys Ser Leu Ala Tyr Ala Ala Cys Ser Thr
                15           20           25
gcg atc acg ctg gcg tgc ggc gcg ctg gcg tgg gcg tgc gtg ccg gtg      505
Ala Ile Thr Leu Ala Cys Gly Ala Leu Ala Trp Ala Cys Val Pro Val
                30           35           40

```

ES 2 531 391 T3

acg gcg gcg tat tgg ccg gtg tgg gtg gcg tac gcg ttc gtg acg gga 553
 Thr Ala Ala Tyr Trp Pro Val Trp Val Ala Tyr Ala Phe Val Thr Gly
 45 50 55 60
 acg gcg gcg acc ggg tgc tgg gtc gcg gcg cac gag tgc gga cac ggc 601
 Thr Ala Ala Thr Gly Cys Trp Val Ala Ala His Glu Cys Gly His Gly
 65 70 75
 gcg ttt agc gac gat aaa acg att caa gac gcg gtg gga tac gcg ctg 649
 Ala Phe Ser Asp Asp Lys Thr Ile Gln Asp Ala Val Gly Tyr Ala Leu
 80 85 90
 cac tcg ttg ttg ttg gtg ccg tat ttt tcg tgg cag cgg tcg cac gcg 697
 His Ser Leu Leu Leu Val Pro Tyr Phe Ser Trp Gln Arg Ser His Ala
 95 100 105
 gtg cat cac tcg agg act aat cac gtg ctc gag gga gag acg cac gtg 745
 Val His His Ser Arg Thr Asn His Val Leu Glu Gly Glu Thr His Val
 110 115 120
 ccg gcg cgg ttg ggg acg gag gac gcg aac gtg atg ttc aag ttg cgc 793
 Pro Ala Arg Leu Gly Thr Glu Asp Ala Asn Val Met Phe Lys Leu Arg
 125 130 135 140
 ggg ttg ctc ggc gaa ggg ccg ttt acg ttt ttg aac ctc gtc gga gtg 841
 Gly Leu Leu Gly Glu Gly Pro Phe Thr Phe Leu Asn Leu Val Gly Val
 145 150 155
 ttc gcc ttg ggg tgg ccg att tat ttg ctc acc ggc gcc agc ggt ggg 889
 Phe Ala Leu Gly Trp Pro Ile Tyr Leu Leu Thr Gly Ala Ser Gly Gly
 160 165 170
 ccg gtt cgc ggg aac acg aac cac ttc ttg ccg ttc atg ggc gag aag 937
 Pro Val Arg Gly Asn Thr Asn His Phe Leu Pro Phe Met Gly Glu Lys
 175 180 185
 ggt aag cac gcg ttg ttc ccg ggg aag tgg gcg aag aag gtt tgg cag 985
 Gly Lys His Ala Leu Phe Pro Gly Lys Trp Ala Lys Lys Val Trp Gln
 190 195 200
 agc gac gtc ggc gtc gtg gcg gtt ttg gga gcg ctc gcg gcg tgg gcg 1033
 Ser Asp Val Gly Val Val Ala Val Leu Gly Ala Leu Ala Ala Trp Ala
 205 210 215 220
 gcg cac agc ggt gtc gcc acc gtc atg gcg ctc tac gtc gga ccg tac 1081
 Ala His Ser Gly Val Ala Thr Val Met Ala Leu Tyr Val Gly Pro Tyr
 225 230 235
 atg gtg acc aac ttt tgg ctc gtc ctg tac acg tgg ttg cag cac act 1129
 Met Val Thr Asn Phe Trp Leu Val Leu Tyr Thr Trp Leu Gln His Thr
 240 245 250
 gac gtg gac gtg ccg cac ttt gag ggc gac gac tgg aac ttg gtc aag 1177
 Asp Val Asp Val Pro His Phe Glu Gly Asp Asp Trp Asn Leu Val Lys
 255 260 265
 ggc gcg ttt atg acg att gat ccg tac ggg cca gtg ttt gac ttt 1225
 Gly Ala Phe Met Thr Ile Asp Arg Pro Tyr Gly Pro Val Phe Asp Phe
 270 275 280
 ttg cac cac cgc atc ggc agc acg cac gtc gcg cat cac atc aac cac 1273
 Leu His His Arg Ile Gly Ser Thr His Val Ala His His Ile Asn His
 285 290 295 300
 acc atc ccg cac tac cac gcc aag aag gcc acc gag gcg ttg caa aag 1321
 Thr Ile Pro His Tyr His Ala Lys Lys Ala Thr Glu Ala Leu Gln Lys
 305 310 315
 gcg ttc ccg gat ctg tac ctg tat gac ccg acg ccc atc gcc acg gcg 1369
 Ala Phe Pro Asp Leu Tyr Leu Tyr Asp Pro Thr Pro Ile Ala Thr Ala
 320 325 330
 act tgg cgc gtc ggc agc aag tgc atc gcc gtc gtc aag aag ggc gac 1417
 Thr Trp Arg Val Gly Ser Lys Cys Ile Ala Val Val Lys Lys Gly Asp
 335 340 345
 gag tgg gtg ttc acg gac aag cag ctc gac ccg gtc gcg gcg tga 1462
 Glu Trp Val Phe Thr Asp Lys Gln Leu Asp Pro Val Ala Ala
 350 355 360
 gcgcgcgtgt gacgaggata ttaagtttta gttagagaga cgagcattgt gattatgatt 1522

 atatacgtgc gtgtttatctt cacatgctgg aattcgccga agagcgaaac ggcgtattgt 1582

 atcaccgctc gccccgcgag cgctctgctt cgtgtcgacg cgagaaaaat gtgcgctgct 1642

 cggttttcga gcggcacaga gatcgaatga tctacagata ttaatcgcgt ttgt 1696

<210> 2
<211> 362

5

<212> PRT
 <213> *Ostreococcus lucimarinus*

<400> 2

5

```

Met Gln Glu Val Leu Arg Ala Ile Pro Arg Glu Cys Phe Glu Arg Asp
 1      5      10      15      20      25      30      35      40      45      50      55      60      65      70      75      80
Thr Gly Lys Ser Leu Ala Tyr Ala Ala Cys Ser Thr Ala Ile Thr Leu
 20      25      30      35      40      45      50      55      60      65      70      75      80      85      90      95      100
Ala Cys Gly Ala Leu Ala Trp Ala Cys Val Pro Val Thr Ala Ala Tyr
 35      40      45      50      55      60      65      70      75      80      85      90      95      100      105      110      115
Trp Pro Val Trp Val Ala Tyr Ala Phe Val Thr Gly Thr Ala Ala Thr
 50      55      60      65      70      75      80      85      90      95      100      105      110      115      120      125      130
Gly Cys Trp Val Ala Ala His Glu Cys Gly His Gly Ala Phe Ser Asp
 65      70      75      80      85      90      95      100      105      110      115      120      125      130      135      140      145
Asp Lys Thr Ile Gln Asp Ala Val Gly Tyr Ala Leu His Ser Leu Leu
 85      90      95      100      105      110      115      120      125      130      135      140      145      150      155      160      165
Leu Val Pro Tyr Phe Ser Trp Gln Arg Ser His Ala Val His His Ser
 100      105      110      115      120      125      130      135      140      145      150      155      160      165      170      175      180
Arg Thr Asn His Val Leu Glu Gly Glu Thr His Val Pro Ala Arg Leu
 115      120      125      130      135      140      145      150      155      160      165      170      175      180      185      190      195
Gly Thr Glu Asp Ala Asn Val Met Phe Lys Leu Arg Gly Leu Leu Gly
 130      135      140      145      150      155      160      165      170      175      180      185      190      195      200      205      210
Glu Gly Pro Phe Thr Phe Leu Asn Leu Val Gly Val Phe Ala Leu Gly
 145      150      155      160      165      170      175      180      185      190      195      200      205      210      215      220      225
Trp Pro Ile Tyr Leu Leu Thr Gly Ala Ser Gly Gly Pro Val Arg Gly
 165      170      175      180      185      190      195      200      205      210      215      220      225      230      235      240      245
Asn Thr Asn His Phe Leu Pro Phe Met Gly Glu Lys Gly Lys His Ala
 180      185      190      195      200      205      210      215      220      225      230      235      240      245      250      255      260
Leu Phe Pro Gly Lys Trp Ala Lys Lys Val Trp Gln Ser Asp Val Gly
 195      200      205      210      215      220      225      230      235      240      245      250      255      260      265      270      275
Val Val Ala Val Leu Gly Ala Leu Ala Ala Trp Ala Ala His Ser Gly
 210      215      220      225      230      235      240      245      250      255      260      265      270      275      280      285      290
Val Ala Thr Val Met Ala Leu Tyr Val Gly Pro Tyr Met Val Thr Asn
 225      230      235      240      245      250      255      260      265      270      275      280      285      290      295      300      305
Phe Trp Leu Val Leu Tyr Thr Trp Leu Gln His Thr Asp Val Asp Val
 245      250      255      260      265      270      275      280      285      290      295      300      305      310      315      320      325
Pro His Phe Glu Gly Asp Asp Trp Asn Leu Val Lys Gly Ala Phe Met
 260      265      270      275      280      285      290      295      300      305      310      315      320      325      330      335      340
Thr Ile Asp Arg Pro Tyr Gly Pro Val Phe Asp Phe Leu His His Arg
 275      280      285      290      295      300      305      310      315      320      325      330      335      340      345      350      355
Ile Gly Ser Thr His Val Ala Thr Glu Ala Leu Gln Lys Ala Phe Pro Asp
 290      295      300      305      310      315      320      325      330      335      340      345      350      355      360      365      370
Tyr His Ala Lys Lys Ala Thr Glu Ala Leu Gln Lys Ala Phe Pro Asp
 305      310      315      320      325      330      335      340      345      350      355      360      365      370      375      380      385
Leu Tyr Leu Tyr Asp Pro Thr Pro Ile Ala Thr Ala Thr Trp Arg Val
 325      330      335      340      345      350      355      360      365      370      375      380      385      390      395      400      405
Gly Ser Lys Cys Ile Ala Val Val Lys Lys Gly Asp Glu Trp Val Phe
 340      345      350      355      360      365      370      375      380      385      390      395      400      405      410      415      420
Thr Asp Lys Gln Leu Asp Pro Val Ala Ala
 355      360      365      370      375      380      385      390      395      400      405      410      415      420      425      430      435
    
```

<210> 3
 <211> 2039
 <212> ADN
 <213> *Ostreococcus lucimarinus*

10

<220>
 <223> Delta-12 desaturasa

15

<220>
 <221> CDS
 <222> (572)..(1900)

20

<400> 3

cgttctcgcc ctcgcgcgcg tcgcgaccga cgttctctac gcttaccgac gcgcccgcgt 60
 ccgcgaccgc gcgtctggcg cgtgctcgag cgtgccgctc attcgcccgc ccgcccgcgc 120
 gcgcgcgcggt cgcgccgatc ccgcgggcgcg ctcgccgacg cgcgttcgcc gcgcgcgcgc 180
 gctcgatcga ccactcgcgc gcgccgaggc gcgacgcagt gcgggcgcgc gcgccgaggc 240
 gcggtcggtc ggtcggtcgc cgcgtgatcg cgggcgctcc gatgatggcc atccaaagcg 300
 ctcgaatgcg tggagcgacg cgatatcagc ctgcgaatgt tcacataaca taactctgac 360
 tgcgaatgtc cgaacacgcg gcgttcgcg tgcggtcct ccgcgttcgt cgcgcacacg 420
 cgcgcgcgcg aacgacgccc gacgtcgacg cgagcgacga gcgacgcaa gtttttacgg 480
 cgagaatcgc gcgcccag gacgcacgcg cgcccaggac gtctcgacgc gacgcgcacg 540
 acgcaaacgc ggatagcga cgcgaggac g atg atg acg acg gca aac gtc 592
 Met Met Thr Thr Ala Asn Val
 1 5
 tgc cgc gtc gcc gcg acg cgc gcg atg acg acg tgc acg acg tgc acg 640
 Ser Arg Val Ala Ala Thr Arg Ala Met Thr Thr Ser Thr Thr Ser Thr
 10 15 20
 cga cgc gtg atg gcg agt aaa tac atc gcg cga acg gcg acg acg acg 688
 Arg Arg Val Met Ala Ser Lys Tyr Ile Ala Arg Thr Ala Thr Thr Thr
 25 30 35
 acg acg gat gcg cgc gga cgg gcg cac cga cgc gcg ggc gcg atc gcg 736
 Thr Thr Asp Ala Arg Gly Arg Ala His Arg Arg Ala Gly Ala Ile Ala
 40 45 50 55
 ctc ggt ggg ttt gaa gat ctt ccc agg agc ggg ctg gag gga cag gcg 784
 Leu Gly Gly Phe Glu Asp Leu Pro Arg Ser Gly Leu Glu Gly Gln Ala
 60 65 70
 ctc acg ttc ccg cac aag aag gag ttc cct tgc cgc gcg gcg gtg ttg 832
 Leu Thr Phe Pro His Lys Lys Glu Phe Pro Ser Arg Ala Ala Val Leu
 75 80 85
 tca aac att ccc gat gaa tgc ttc aag aag gat acg gcc aag tgc ttg 880
 Ser Asn Ile Pro Asp Glu Cys Phe Lys Lys Asp Thr Ala Lys Ser Leu
 90 95 100
 atg tac gcc gcg gtg tgc acg gca atg acg gtg ggg tgc ggc ttg atc 928
 Met Tyr Ala Ala Val Ser Thr Ala Met Thr Val Gly Cys Gly Leu Ile
 105 110 115
 gcc gcg gcg aca ttg ccg ttg cag gcg gcg tgg tgg ccg gcg tgg ctt 976
 Ala Ala Ala Thr Leu Pro Leu Gln Ala Ala Trp Trp Pro Ala Trp Leu
 120 125 130 135
 gcg tac gcc gcg gtg aac ggt acg atc gcc act gga tgc tgg gtg atc 1024
 Ala Tyr Ala Ala Val Asn Gly Thr Ile Ala Thr Gly Cys Trp Val Ile
 140 145 150
 gcg cac gag tgc ggc cat aac gcg ttc agc gat aac cga ttc att caa 1072
 Ala His Glu Cys Gly His Asn Ala Phe Ser Asp Asn Arg Phe Ile Gln
 155 160 165
 gac gcg gtc ggg tac gcg ttg cac tgc gcg ctc ctc gtg ccg tac ttt 1120
 Asp Ala Val Gly Tyr Ala Leu His Ser Ala Leu Leu Val Pro Tyr Phe
 170 175 180
 tcc tgg cag gcg tgc cac gct gtc cac cac tca cga acg aac cac ttg 1168
 Ser Trp Gln Arg Ser His Ala Val His His Ser Arg Thr Asn His Leu
 185 190 195
 acg gaa gga gaa acg cac gtg ccg tac gtc aag ggc gaa ttg aag ggt 1216
 Thr Glu Gly Glu Thr His Val Pro Tyr Val Lys Gly Glu Leu Lys Gly

ES 2 531 391 T3

Met Met Thr Thr Ala Asn Val Ser Arg Val Ala Ala Thr Arg Ala Met
1 5 10 15
Thr Thr Ser Thr Thr Ser Thr Arg Arg Val Met Ala Ser Lys Tyr Ile
20 25 30
Ala Arg Thr Ala Thr Thr Thr Thr Asp Ala Arg Gly Arg Ala His
35 40 45
Arg Arg Ala Gly Ala Ile Ala Leu Gly Gly Phe Glu Asp Leu Pro Arg
50 55 60
Ser Gly Leu Glu Gly Gln Ala Leu Thr Phe Pro His Lys Lys Glu Phe
65 70 75 80
Pro Ser Arg Ala Ala Val Leu Ser Asn Ile Pro Asp Glu Cys Phe Lys
85 90 95
Lys Asp Thr Ala Lys Ser Leu Met Tyr Ala Ala Val Ser Thr Ala Met
100 105 110
Thr Val Gly Cys Gly Leu Ile Ala Ala Thr Leu Pro Leu Gln Ala
115 120 125
Ala Trp Trp Pro Ala Trp Leu Ala Tyr Ala Ala Val Asn Gly Thr Ile
130 135 140
Ala Thr Gly Cys Trp Val Ile Ala His Glu Cys Gly His Asn Ala Phe
145 150 155 160
Ser Asp Asn Arg Phe Ile Gln Asp Ala Val Gly Tyr Ala Leu His Ser
165 170 175
Ala Leu Leu Val Pro Tyr Phe Ser Trp Gln Arg Ser His Ala Val His
180 185 190
His Ser Arg Thr Asn His Leu Thr Glu Gly Glu Thr His Val Pro Tyr
195 200 205
Val Lys Gly Glu Leu Lys Gly Asp Leu Asn Leu Lys Ala Lys Lys Asn
210 215 220
Leu Gly Glu Gly Pro Phe Ala Ile Leu Gln Leu Val Thr His Leu Val
225 230 235 240
Phe Gly Trp Pro Ala Tyr Leu Leu Thr Gly Ala Thr Gly Gly Ser Ala
245 250 255
Arg Gly Val Thr Asn His Phe Leu Pro Asn Ile Asn Thr Gly Ala Leu
260 265 270
Glu Leu Phe Pro Gly Ser Trp Lys Lys Lys Val Tyr Tyr Ser Asp Ile
275 280 285
Gly Val Phe Ala Phe Val Gly Val Leu Ala Ala Trp Val Ala Gln Cys
290 295 300
Gly Trp Ala Pro Phe Val Ala Leu Tyr Leu Gly Pro Tyr Leu Phe Val
305 310 315 320
Asn Phe Trp Leu Val Leu Tyr Thr Trp Leu Gln His Thr Asp Val Asp
325 330 335
Val Gln His Leu Ala Ala Asp Glu Trp Ser Tyr Ile Lys Gly Ala Phe
340 345 350 355
Leu Thr Ile Asp Arg Pro Tyr Gly Pro Val Phe Asp Phe Leu His His
360 365
Arg Ile Gly Ser Thr His Val Ala His His Val Glu Cys Ala Ile Pro
370 375 380
His Tyr Lys Ala Val Glu Ala Thr Glu Ala Leu Lys Thr Lys Tyr Pro
385 390 395 400
Glu Tyr Tyr Leu Tyr Asp Pro Thr Pro Ile Trp Ala Ala Met Met Arg
405 410 415
Val Ala Ser Lys Cys Val Ala Val Glu Lys Arg Gly Glu Gly Lys Gly
420 425 430
Ala Met Trp Thr Phe Thr Asp Gly Thr Ala
435 440

<210> 5
<211> 1737
5 <212> ADN
<213> *Ostreococcus lucimarinus*

<220>
10 <223> Delta-4 desaturasa

<220>

ES 2 531 391 T3

<221> CDS
<222> (218)..(1618)

<400> 5

5

```
gCGcaccgTc gCGcgcgcgt tcgcgacgac gacgacgTcg agcgcgaggt gTgattatcg      60
ccgTcgagcg acgacgacgc gCGcgcgacgac gagcgcggTg cgcgcggacg cgcggcgcgC      120
gCGatcgggg aggtatgcga tcgTtccgcg atcgatcgag ggcgaaggga acgcccgcgT      180
```

ES 2 531 391 T3

cgctcgaaaga	agcgtcgagg	gcgaggaggg	ggagaag	atg	atg	tcc	ctg	gag	gcg											235			
										Met	Met	Ser	Leu	Glu	Ala								
										1				5									
aga	cg	gag	gcg	ctg	agg	ttg	ccg	cg	ccg	gac	gtc	gcg	gcg	ccg	ggg						283		
Arg	Arg	Glu	Ala	Leu	Arg	Leu	Pro	Arg	Pro	Asp	Val	Ala	Ala	Pro	Gly								
			10					15					20										
atg	gag	gat	ccg	tgg	aac	gat	gag	aag	tgg	caa	aag	gtg	aag	tgg	acg							331	
Met	Glu	Asp	Pro	Trp	Asn	Asp	Glu	Lys	Trp	Gln	Lys	Val	Lys	Trp	Thr								
		25					30					35											
gtg	ttt	cga	gac	gtg	gcg	tac	gac	ctc	gga	ccg	ttc	ttt	gag	aag	cat								379
Val	Phe	Arg	Asp	Val	Ala	Tyr	Asp	Leu	Gly	Pro	Phe	Phe	Glu	Lys	His								
	40					45					50												
ccg	ggc	ggg	aac	tgg	ttg	ttg	aac	ctc	gcc	atc	ggt	cg	gac	tgc	acg								427
Pro	Gly	Gly	Asn	Trp	Leu	Leu	Asn	Leu	Ala	Ile	Gly	Arg	Asp	Cys	Thr								
	55				60				65					70									
gcg	ctc	atg	gaa	tcc	tat	cac	ttg	cga	cca	gag	gtg	gcg	acg	gcg	cg								475
Ala	Leu	Met	Glu	Ser	Tyr	His	Leu	Arg	Pro	Glu	Val	Ala	Thr	Ala	Arg								
			75					80						85									
ttc	agg	atg	tta	ccc	aag	ctc	gag	ggg	ttc	ccg	gtc	gac	gcc	gtg	gcg								523
Phe	Arg	Met	Leu	Pro	Lys	Leu	Glu	Gly	Phe	Pro	Val	Asp	Ala	Val	Ala								
			90					95					100										
aag	tca	ccg	aga	ccg	aac	gat	tcg	ccg	ctg	tac	aac	aac	atc	cg	aat								571
Lys	Ser	Pro	Arg	Pro	Asn	Asp	Ser	Pro	Leu	Tyr	Asn	Asn	Ile	Arg	Asn								
		105					110					115											
cg	gtt	cg	gag	gaa	ctt	ttc	ccg	gaa	gaa	ggg	aag	aac	aaa	cac	aga								619
Arg	Val	Arg	Glu	Glu	Leu	Phe	Pro	Glu	Glu	Gly	Lys	Asn	Lys	His	Arg								
	120				125					130													
atg	ggt	ggc	gac	cac	gcg	acg	ata	acg	att	ttg	tct	ttc	gcc	gcg	ttt								667
Met	Gly	Gly	Asp	His	Ala	Thr	Ile	Thr	Ile	Leu	Ser	Phe	Ala	Ala	Phe								
	135				140				145					150									
gcg	tac	ggt	gtg	tac	gcc	acc	atc	ccg	ggc	ttt	ctc	tcg	ggt	tgc	ctc								715
Ala	Tyr	Gly	Val	Tyr	Ala	Thr	Ile	Pro	Gly	Phe	Leu	Ser	Gly	Cys	Leu								
			155					160					165										
ctt	ggc	tta	gct	ggt	gcg	tgg	atc	ggg	ctc	acg	att	cag	cat	tgc	gcc								763
Leu	Gly	Leu	Ala	Gly	Ala	Trp	Ile	Gly	Leu	Thr	Ile	Gln	His	Cys	Ala								
			170					175				180											
aat	cac	ggg	gcg	atg	tca	ccg	tcg	ccc	gcc	gtc	aac	ggc	gtc	ctc	ggt								811
Asn	His	Gly	Ala	Met	Ser	Pro	Ser	Pro	Ala	Val	Asn	Gly	Val	Leu	Gly								
		185					190					195											
ttg	acg	aac	gat	ctc	atc	ggc	ggc	tcg	tct	ttg	atg	tgg	cga	tac	cac								859
Leu	Thr	Asn	Asp	Leu	Ile	Gly	Gly	Ser	Ser	Leu	Met	Trp	Arg	Tyr	His								
	200				205						210												
cac	cag	gtg	agc	cac	cac	att	cac	tgc	aac	gac	aat	gct	atg	gat	caa								907
His	Gln	Val	Ser	His	His	Ile	His	Cys	Asn	Asp	Asn	Ala	Met	Asp	Gln								
	215				220			225					230										
gac	gtg	tac	acc	gcc	atg	cct	ctc	ttg	cgt	ttc	gac	gct	cgt	cgt	ccc								955
Asp	Val	Tyr	Thr	Ala	Met	Pro	Leu	Leu	Arg	Phe	Asp	Ala	Arg	Arg	Pro								
			235					240					245										
aag	gcg	tgg	tac	cac	cg	ttc	cag	cac	tgg	tac	atg	ttc	ttg	gcc	ttt								1003
Lys	Ala	Trp	Tyr	His	Arg	Phe	Gln	His	Trp	Tyr	Met	Phe	Leu	Ala	Phe								
			250				255					260											
ccg	ttg	ttg	cag	gtg	gcg	ttc	caa	gtc	ggc	gac	atc	gtc	ggt	ttg	ttc								1051
Pro	Leu	Leu	Gln	Val	Ala	Phe	Gln	Val	Gly	Asp	Ile	Val	Gly	Leu	Phe								
		265					270					275											
act	cg	gat	acc	gaa	ggc	gca	aag	ctc	cac	ggg	gcg	acc	act	tgg	gaa								1099
Thr	Arg	Asp	Thr	Glu	Gly	Ala	Lys	Leu	His	Gly	Ala	Thr	Thr	Trp	Glu								
	280				285						290												
ctt	gcc	acc	gta	ggt	atc	ggc	aag	ttt	gtg	cac	ttc	ggt	ttg	ttg	gct								1147
Leu	Ala	Thr	Val	Val	Ile	Gly	Lys	Phe	Val	His	Phe	Gly	Leu	Leu	Ala								
	295				300			305					310										
gca	cct	ttg	atg	agc	cac	gcg	gct	tcc	gcc	gtc	gtc	gcc	ggc	atc	gtc								1195
Ala	Pro	Leu	Met	Ser	His	Ala	Ala	Ser	Ala	Val	Val	Ala	Gly	Ile	Val								
			315					320					325										
ggt	ttc	atg	gcg	tgc	caa	gga	gtc	gtc	ctc	gcg	tgt	acg	ttc	gcg	gtg								1243
Gly	Phe	Met	Ala	Cys	Gln	Gly	Val	Val	Leu	Ala	Cys	Thr	Phe	Ala	Val								
			330				335					340											
agt	cac	aac	gtg	ccc	gag	gcc	aaa	ctc	cct	gaa	gat	acc	ggt	gga	gag								1291
Ser	His	Asn	Val	Pro	Glu	Ala	Lys	Leu	Pro	Glu	Asp	Thr	Gly	Gly	Glu								
		345					350					355											

ES 2 531 391 T3

gcg tgg gaa aga gat tgg ggc gtg cag cag ttg gtg act agc gct gac	1339
Ala Trp Glu Arg Asp Trp Gly Val Gln Gln Leu Val Thr Ser Ala Asp	
360 365 370	
tgg ggt gga aag att gga aac ttt ttc acc ggc ggt ctg aac ttg caa	1387
Trp Gly Gly Lys Ile Gly Asn Phe Phe Thr Gly Gly Leu Asn Leu Gln	
375 380 385 390	
gtc gag cat cac ctg ttc ccg gcg att tgc ttt gtg cac tac ccc gcg	1435
Val Glu His His Leu Phe Pro Ala Ile Cys Phe Val His Tyr Pro Ala	
395 400 405	
atc gcg aaa att gtc gcg gaa gaa gcg gcg aag atg ggc att cct tac	1483
Ile Ala Lys Ile Val Ala Glu Glu Ala Ala Lys Met Gly Ile Pro Tyr	
410 415 420	
tcg tca tac aga aca ctt ccc ggc att ttc gtc gcg ttc tgg aaa ttc	1531
Ser Ser Tyr Arg Thr Leu Pro Gly Ile Phe Val Ala Phe Trp Lys Phe	
425 430 435	
gtc aga gac atg ggc acg gcg gag caa atc gac gac gtt tta ctt ccg	1579
Val Arg Asp Met Gly Thr Ala Glu Gln Ile Asp Asp Val Leu Leu Pro	
440 445 450	
aag ttc gcg aac ccg caa ctt tcg cca gcc atc aat tag aattataact	1628
Lys Phe Ala Asn Pro Gln Leu Ser Pro Ala Ile Asn	
455 460 465	
taccttacgc gcttgttgac ttcaaacgag caaacgacag aaatacgatt attgtgatat	1688
acttacacct cgcctcatc attgttttga tctaattcta acttacaaa	1737

<210> 6
 <211> 466
 <212> PRT
 <213> *Ostreococcus lucimarinus*

 <400> 6

5

ES 2 531 391 T3

Met	Met	Ser	Leu	Glu	Ala	Arg	Arg	Glu	Ala	Leu	Arg	Leu	Pro	Arg	Pro
1				5					10					15	
Asp	Val	Ala	Ala	Pro	Gly	Met	Glu	Asp	Pro	Trp	Asn	Asp	Glu	Lys	Trp
			20					25					30		
Gln	Lys	Val	Lys	Trp	Thr	Val	Phe	Arg	Asp	Val	Ala	Tyr	Asp	Leu	Gly
		35					40					45			
Pro	Phe	Phe	Glu	Lys	His	Pro	Gly	Gly	Asn	Trp	Leu	Leu	Asn	Leu	Ala
	50					55					60				
Ile	Gly	Arg	Asp	Cys	Thr	Ala	Leu	Met	Glu	Ser	Tyr	His	Leu	Arg	Pro
65					70					75					80
Glu	Val	Ala	Thr	Ala	Arg	Phe	Arg	Met	Leu	Pro	Lys	Leu	Glu	Gly	Phe
				85					90					95	
Pro	Val	Asp	Ala	Val	Ala	Lys	Ser	Pro	Arg	Pro	Asn	Asp	Ser	Pro	Leu
			100					105					110		
Tyr	Asn	Asn	Ile	Arg	Asn	Arg	Val	Arg	Glu	Glu	Leu	Phe	Pro	Glu	Glu
		115					120					125			
Gly	Lys	Asn	Lys	His	Arg	Met	Gly	Gly	Asp	His	Ala	Thr	Ile	Thr	Ile
	130					135					140				
Leu	Ser	Phe	Ala	Ala	Phe	Ala	Tyr	Gly	Val	Tyr	Ala	Thr	Ile	Pro	Gly
145					150					155					160
Phe	Leu	Ser	Gly	Cys	Leu	Leu	Gly	Leu	Ala	Gly	Ala	Trp	Ile	Gly	Leu
				165					170					175	
Thr	Ile	Gln	His	Cys	Ala	Asn	His	Gly	Ala	Met	Ser	Pro	Ser	Pro	Ala
			180					185					190		
Val	Asn	Gly	Val	Leu	Gly	Leu	Thr	Asn	Asp	Leu	Ile	Gly	Gly	Ser	Ser
		195					200					205			
Leu	Met	Trp	Arg	Tyr	His	His	Gln	Val	Ser	His	His	Ile	His	Cys	Asn
	210					215					220				
Asp	Asn	Ala	Met	Asp	Gln	Asp	Val	Tyr	Thr	Ala	Met	Pro	Leu	Leu	Arg
225					230					235					240
Phe	Asp	Ala	Arg	Arg	Pro	Lys	Ala	Trp	Tyr	His	Arg	Phe	Gln	His	Trp
				245					250					255	
Tyr	Met	Phe	Leu	Ala	Phe	Pro	Leu	Leu	Gln	Val	Ala	Phe	Gln	Val	Gly
			260					265					270		
Asp	Ile	Val	Gly	Leu	Phe	Thr	Arg	Asp	Thr	Glu	Gly	Ala	Lys	Leu	His
			275					280				285			
Gly	Ala	Thr	Thr	Trp	Glu	Leu	Ala	Thr	Val	Val	Ile	Gly	Lys	Phe	Val
	290					295					300				
His	Phe	Gly	Leu	Leu	Ala	Ala	Pro	Leu	Met	Ser	His	Ala	Ala	Ser	Ala
305					310					315					320
Val	Val	Ala	Gly	Ile	Val	Gly	Phe	Met	Ala	Cys	Gln	Gly	Val	Val	Leu
				325					330					335	
Ala	Cys	Thr	Phe	Ala	Val	Ser	His	Asn	Val	Pro	Glu	Ala	Lys	Leu	Pro
			340					345					350		
Glu	Asp	Thr	Gly	Gly	Glu	Ala	Trp	Glu	Arg	Asp	Trp	Gly	Val	Gln	Gln
		355					360					365			
Leu	Val	Thr	Ser	Ala	Asp	Trp	Gly	Gly	Lys	Ile	Gly	Asn	Phe	Phe	Thr
	370					375					380				
Gly	Gly	Leu	Asn	Leu	Gln	Val	Glu	His	His	Leu	Phe	Pro	Ala	Ile	Cys
385					390					395					400
Phe	Val	His	Tyr	Pro	Ala	Ile	Ala	Lys	Ile	Val	Ala	Glu	Glu	Ala	Ala
				405					410					415	
Lys	Met	Gly	Ile	Pro	Tyr	Ser	Ser	Tyr	Arg	Thr	Leu	Pro	Gly	Ile	Phe
			420					425					430		
Val	Ala	Phe	Trp	Lys	Phe	Val	Arg	Asp	Met	Gly	Thr	Ala	Glu	Gln	Ile
		435					440					445			
Asp	Asp	Val	Leu	Leu	Pro	Lys	Phe	Ala	Asn	Pro	Gln	Leu	Ser	Pro	Ala
	450					455					460				
Ile	Asn														
465															

<210> 7
 <211> 1604
 <212> ADN
 <213> *Ostreococcus lucimarinus*

ES 2 531 391 T3

<220>
 <223> Delta-5 desaturasa

5 <220>
 <221> CDS
 <222> (156)..(1535)

<400> 7

10

```

tcactcagcc gtcgcgatc cgcgcgcgcg tcgcgttcga ccgcgtcgcg cccagaacga      60

acgtagaacc gaatcgcccg tcccgcgtcg cgcggatgaa tgcaaaaaaac aagatgactg      120

gatgacgtcc cgcgccacac gatcgcgcgc gcgtc atg ccc tcc gcc gcg cgc      173
                               Met Pro Ser Ala Ala Arg
                               1           5
tcc cga gcg tcg aag cgc gcg aac gcg acg acg gac gtc gcg acg acc      221
Ser Arg Ala Ser Lys Arg Ala Asn Ala Thr Thr Asp Val Ala Thr Thr
                               10           15           20
gct ccc gag gcg acg ctc gac ccg acg cgc gcg tac acg cgc tat cgc      269
Ala Pro Glu Ala Thr Leu Asp Pro Thr Arg Ala Tyr Thr Arg Tyr Arg
                               25           30           35
ggc gtc gtc tac gac gtc acc gag ttt cag cat cgc cat ccc ggc ggc      317
Gly Val Val Tyr Asp Val Thr Glu Phe Gln His Arg His Pro Gly Gly
                               40           45           50
gcg caa ttg ctc tcg ctc tgc gtc gga cgc gac gcg acg atc ctg atc      365
Ala Gln Leu Leu Ser Leu Cys Val Gly Arg Asp Ala Thr Ile Leu Ile
                               55           60           65           70
gag agc cat cac ttg cga cct gag gtg gtg cgc aag tac atg aag acg      413
Glu Ser His His Leu Arg Pro Glu Val Val Arg Lys Tyr Met Lys Thr
                               75           80           85
ctg ccc gtg gtg gag ggc gcg gcg ggc gcg ttc ggg aag gag gag acg      461
Leu Pro Val Val Glu Gly Ala Ala Gly Ala Phe Gly Lys Glu Glu Thr
                               90           95           100
ttt ccg aaa ccg ctc gat tcg gcg gtg tat cga gcg ata caa cgc cga      509
Phe Pro Lys Pro Leu Asp Ser Ala Val Tyr Arg Ala Ile Gln Arg Arg
    
```

ES 2 531 391 T3

```

      105      110      115
gtg cga gat gaa gtc gtg gaa ccg atg aaa gca aag tct gga agg gag      557
Val Arg Asp Glu Val Val Glu Pro Met Lys Ala Lys Ser Gly Arg Glu
120
gca cac gga cgc ggt ggg tgc gtc gtg gac gcg ggg gtg gtc gtg ttg      605
Ala His Gly Arg Gly Gly Cys Val Val Asp Ala Gly Val Val Val Leu
135
acg ttt gtc gcg atg gtg gcg tat tgg cgc gcg ccc tcg gcg ctc      653
Thr Phe Val Ala Ala Met Val Ala Tyr Trp Arg Ala Pro Ser Ala Leu
155
acg ggg tgc gcg ttg gga ctg gcg ggg tac tgg agc ggc act ggg ttg      701
Thr Gly Cys Ala Leu Gly Leu Ala Gly Tyr Trp Ser Gly Thr Gly Leu
170
caa cac acg gcg aat cac gga gga ttg gcg aag agt gga ttt tgg aat      749
Gln His Thr Ala Asn His Gly Gly Leu Ala Lys Ser Gly Phe Trp Asn
185
cag ttt tgg gga tgg ctc ggg aac gac gtg gcg atc ggg aag agt tcg      797
Gln Phe Trp Gly Trp Leu Gly Asn Asp Val Ala Ile Gly Lys Ser Ser
200
gtg gag tgg cgg tat cat cac atg gtg agc cat cac tcg tac tgc aac      845
Val Glu Trp Arg Tyr His His Met Val Ser His His Ser Tyr Cys Asn
215
gac gcc gat ctc gat caa gac gtg tac acc gcg tta ccg ttg ttg cga      893
Asp Ala Asp Leu Asp Gln Asp Val Tyr Thr Ala Leu Pro Leu Leu Arg
235
ctt gac cca tcg cag gag ttg aag tgg ttc cat cgg tac caa gcg ttt      941
Leu Asp Pro Ser Gln Glu Leu Lys Trp Phe His Arg Tyr Gln Ala Phe
250
tac gcg ccg ctc atg tgg ccg ttt tta tgg ctc gcc gcg caa gtc ggt      989
Tyr Ala Pro Leu Met Trp Pro Phe Leu Trp Leu Ala Ala Gln Val Gly
265
gac gcg caa aac att tta atc gat cga gcg tct ccc ggc gtc gag tac      1037
Asp Ala Gln Asn Ile Leu Ile Asp Arg Ala Ser Pro Gly Val Glu Tyr
280
aag ggc ttg atg aag aac gaa atc gcg ctg tac ctg ctc ggt aaa gtt      1085
Lys Gly Leu Met Lys Asn Glu Ile Ala Leu Tyr Leu Leu Gly Lys Val
295
ctg cac ttc ggc tta ctt ctc ggc gtt ccg gcg tac atc cac ggg ttg      1133
Leu His Phe Gly Leu Leu Leu Gly Val Pro Ala Tyr Ile His Gly Leu
315
tcc aac gtc atc gtg ccg ttc ctc gcg tac ggc gcg ttt ggc tcg ttc      1181
Ser Asn Val Ile Val Pro Phe Leu Ala Tyr Gly Ala Phe Gly Ser Phe
330
gtc ctt tgc tgg ttc ttc atc gtc agc cac aac ttg gag gcg ttg acc      1229
Val Leu Cys Trp Phe Phe Ile Val Ser His Asn Leu Glu Ala Leu Thr
345
ccg atg aac ttg agc aag agc act aag aac gat tgg ggt gcg tgg caa      1277
Pro Met Asn Leu Ser Lys Ser Thr Lys Asn Asp Trp Gly Ala Trp Gln
360
atc gaa acg tcc gcg tcg tgg ggt aac agc ttc tgg agc ttc ttt tcc      1325
Ile Glu Thr Ser Ala Ser Trp Gly Asn Ser Phe Trp Ser Phe Phe Ser
375
ggt ggt ttg aac ttg caa atc gag cac cac ttg ttt ccg gga tgc gcg      1373
Gly Gly Leu Asn Leu Gln Ile Glu His His Leu Phe Pro Gly Cys Ala
395
cac aat ctg tac ccg aag atg gtt ccc atc atc aag gat gag tgc aaa      1421
His Asn Leu Tyr Pro Lys Met Val Pro Ile Ile Lys Asp Glu Cys Lys
410
aag gct ggc ctc gcg tac acc ggc tat ggt ggc tac ttt gga ttg ttg      1469
Lys Ala Gly Leu Ala Tyr Thr Gly Tyr Gly Gly Tyr Phe Gly Leu Leu
425
ccc atc acg gcg gac atg ttt tcc tat tta cac aag atg ggc cat caa      1517
Pro Ile Thr Arg Asp Met Phe Ser Tyr Leu His Lys Met Gly His Gln
440
cga ccg aag gcc atg tag aaatccgaac aaaccgttgt acctcttgtt      1565
Arg Pro Lys Ala Met
455
tgatgaatac agtattttatt ttacaacgca actacgcat      1604

```

<210> 8
 <211> 459
 <212> PRT
 <213> *Ostreococcus lucimarinus*

5

<400> 8

ES 2 531 391 T3

Met Pro Ser Ala Ala Arg Ser Arg Ala Ser Lys Arg Ala Asn Ala Thr
1 5 10 15
Thr Asp Val Ala Thr Thr Ala Pro Glu Ala Thr Leu Asp Pro Thr Arg
20 25 30
Ala Tyr Thr Arg Tyr Arg Gly Val Val Tyr Asp Val Thr Glu Phe Gln
35 40 45
His Arg His Pro Gly Gly Ala Gln Leu Leu Ser Leu Cys Val Gly Arg
50 55 60
Asp Ala Thr Ile Leu Ile Glu Ser His His Leu Arg Pro Glu Val Val
65 70 75 80
Arg Lys Tyr Met Lys Thr Leu Pro Val Val Glu Gly Ala Ala Gly Ala
85 90 95
Phe Gly Lys Glu Glu Thr Phe Pro Lys Pro Leu Asp Ser Ala Val Tyr
100 105 110
Arg Ala Ile Gln Arg Arg Val Arg Asp Glu Val Val Glu Pro Met Lys
115 120 125
Ala Lys Ser Gly Arg Glu Ala His Gly Arg Gly Gly Cys Val Val Asp
130 135 140
Ala Gly Val Val Val Leu Thr Phe Val Ala Ala Met Val Ala Tyr Trp
145 150 155 160
Arg Ala Pro Ser Ala Leu Thr Gly Cys Ala Leu Gly Leu Ala Gly Tyr
165 170 175
Trp Ser Gly Thr Gly Leu Gln His Thr Ala Asn His Gly Gly Leu Ala
180 185 190
Lys Ser Gly Phe Trp Asn Gln Phe Trp Gly Trp Leu Gly Asn Asp Val
195 200 205
Ala Ile Gly Lys Ser Ser Val Glu Trp Arg Tyr His His Met Val Ser
210 215 220
His His Ser Tyr Cys Asn Asp Ala Asp Leu Asp Gln Asp Val Tyr Thr
225 230 235 240
Ala Leu Pro Leu Leu Arg Leu Asp Pro Ser Gln Glu Leu Lys Trp Phe
245 250 255
His Arg Tyr Gln Ala Phe Tyr Ala Pro Leu Met Trp Pro Phe Leu Trp
260 265 270
Leu Ala Ala Gln Val Gly Asp Ala Gln Asn Ile Leu Ile Asp Arg Ala
275 280 285
Ser Pro Gly Val Glu Tyr Lys Gly Leu Met Lys Asn Glu Ile Ala Leu
290 295 300
Tyr Leu Leu Gly Lys Val Leu His Phe Gly Leu Leu Leu Gly Val Pro
305 310 315 320
Ala Tyr Ile His Gly Leu Ser Asn Val Ile Val Pro Phe Leu Ala Tyr
325 330 335
Gly Ala Phe Gly Ser Phe Val Leu Cys Trp Phe Phe Ile Val Ser His
340 345 350
Asn Leu Glu Ala Leu Thr Pro Met Asn Leu Ser Lys Ser Thr Lys Asn
355 360 365
Asp Trp Gly Ala Trp Gln Ile Glu Thr Ser Ala Ser Trp Gly Asn Ser
370 375 380
Phe Trp Ser Phe Phe Ser Gly Gly Leu Asn Leu Gln Ile Glu His His
385 390 395 400
Leu Phe Pro Gly Cys Ala His Asn Leu Tyr Pro Lys Met Val Pro Ile
405 410 415
Ile Lys Asp Glu Cys Lys Lys Ala Gly Leu Ala Tyr Thr Gly Tyr Gly
420 425 430
Gly Tyr Phe Gly Leu Leu Pro Ile Thr Arg Asp Met Phe Ser Tyr Leu
435 440 445
His Lys Met Gly His Gln Arg Pro Lys Ala Met
450 455

5 <210> 9
<211> 2297
<212> ADN
<213> *Ostreococcus lucimarinus*

10 <220>
<223> Delta-5 desaturasa

ES 2 531 391 T3

<220>
 <221> CDS
 <222> (629)..(2104)

5 <400> 9

```

cgcgcgcgcg tcgcccgcgac ccccctcgaa gtcgcgtacc gttcgcgccg gtcgctcgcg      60
tcgcgctctc gccgtctcgc gcgcgcgctc gtcgcgatg cgtcttcgcg cgctcgtcgcg      120
atcggcgctt tccggcgctc acgattcgcg cgcgcgcgtc ctccctccgcg gcgctcgcgc      180
gcgcgcgctc atcgcgctc gtcgatcgcg gtctctctcg cggttcctcg cggttcgcgc      240
ctccctccgcg cgcgcgctca gcgcgcgccg tcgtctcgcg cgccgctgcc gtttcccgcg      300
cgattcgtcc gacacgcgtc cgacacgcgt gcgacacgcg cgtttacata ccacaaatac      360
cacacagtgt acgaccaaca ttaccgtact gtagaagaaa tgatggcac tcgatgtata      420
cagaccccgt cactgatccc catacgcgac cgaccgcccc gcccggtgac gtcggcgcgc      480
gcgcgcgctc ccacacgacg ccgcgcgctc gccgcgcgcg ctcgactcgc gcgccgctc      540
gcgcgccgctc gcgctcaccg cgcgcccgcg accgcccggc tcgcgcgctc acgacgcccg      600
gcggcgaaacg agggcgcgac gcgacgcg atg acg acg gtc gcg gag atc gtc      652
                    Met Thr Thr Val Ala Glu Ile Val
                    1                    5
gac gac gac gcg cgg cgc gcg gga aag ggc gcg acg acg cga cga cga      700
Asp Asp Asp Ala Arg Arg Ala Gly Lys Gly Ala Thr Thr Arg Arg Arg
                    10                    15                    20
cgc gcg acg acg cgc gtc gcg cgc gat gac gcg cgc gag gcg acg tac      748
Arg Ala Thr Thr Arg Val Ala Arg Asp Asp Ala Arg Glu Ala Thr Tyr
                    25                    30                    35                    40
acg gcg gcg gag gtg gcg agg cac gcg cgc gcg gac gac tgc tgg gtg      796
Thr Ala Ala Glu Val Ala Arg His Ala Arg Ala Asp Asp Cys Trp Val
                    45                    50                    55
atc gtg cga ggc ggc gtg tac gac gtg acg agg ttc gtg ccg aga cac      844
Ile Val Arg Gly Gly Val Tyr Asp Val Thr Arg Phe Val Pro Arg His
                    60                    65                    70
ccg gga ggg aac atg ata tac gtc aag gcg ggg ggc gag tgc acg gcg      892
Pro Gly Gly Asn Met Ile Tyr Val Lys Ala Gly Gly Glu Cys Thr Ala
                    75                    80                    85
ctg ttc gac tcg tat cat ccc gag cgc gcg agg gcg acg ctg gag aag      940
Leu Phe Asp Ser Tyr His Pro Glu Arg Ala Arg Ala Thr Leu Glu Lys
                    90                    95                    100
tat agg atc ggc gcg ctg cgg agg gac gcg ggg gaa cgc gag gac gag      988
Tyr Arg Ile Gly Ala Leu Arg Arg Asp Ala Gly Glu Arg Glu Asp Glu
                    105                    110                    115
gac gtg gtg gag tac ttg aag gac gat ctg agg gag gga gag ttt tac      1036
Asp Val Val Glu Tyr Leu Lys Asp Asp Leu Arg Glu Gly Glu Phe Tyr
                    120                    125                    130                    135
gcg gat tgt aag gcg ggg gcg gcg aag tat ttt aag gat aat aag ctc      1084
    
```

ES 2 531 391 T3

Ala Asp Cys Lys Ala Gly Ala Ala Lys Tyr Phe Lys Asp Asn Lys Leu
gat ccg cgc gtg cac tgg gag atg tac gcg aag acg ttg gtg att ttg 1132
Asp Pro Arg Val His Trp Glu Met Tyr Ala Lys Thr Leu Val Ile Leu
155 160
acg ggc gtc gtc gga cac tac ggg tcg ttt ttc gcg ccg tcg gcg 1180
Thr Gly Val Val Val Gly His Tyr Gly Ser Phe Phe Ala Pro Ser Ala
170 175 180
tcc ttc gcc gcg gcg ttg gcg ctc gcg gtg ctg cac ggc acg tgc aag 1228
Ser Phe Ala Ala Ala Leu Ala Leu Ala Val Leu His Gly Thr Cys Lys
185 190 195 200
gcg gaa gta gga gtg tcg atc cag cac gac gcc aat cac ggg gcg tac 1276
Ala Glu Val Gly Val Ser Ile Gln His Asp Ala Asn His Gly Ala Tyr
205 210 215
gga aac aat cgc act tgg ttg cac gcg atg cag ttg acc ttg gac gcc 1324
Gly Asn Asn Arg Thr Trp Leu His Ala Met Gln Leu Thr Leu Asp Ala
220 225 230
gtc ggc gcg tcg agc ttc atg tgg aag cag cag cac gtc gcc gga cat 1372
Val Gly Ala Ser Ser Phe Met Trp Lys Gln Gln His Val Ala Gly His
235 240 245
cac gcg tac acc aac gtc gaa ggc atc gat ccc gac att cga tgc tcg 1420
His Ala Tyr Thr Asn Val Glu Gly Ile Asp Pro Asp Ile Arg Cys Ser
250 255 260
gaa aag gac gtg cga cgg gtg aac gag cat cag cct cac gag ccg tac 1468
Glu Lys Asp Val Arg Arg Val Asn Glu His Gln Pro His Glu Pro Tyr
265 270 275 280
cac aga gtt caa cac gtc tac ttg gcg ttg atg tac ggc ttg ttg tcg 1516
His Arg Val Gln His Val Tyr Leu Ala Leu Met Tyr Gly Leu Leu Ser
285 290 295
ttc aaa tcg tgc ttc gtg gac gac ttc aac gcc ttc ttc tcc ggc cga 1564
Phe Lys Ser Cys Phe Val Asp Asp Phe Asn Ala Phe Phe Ser Gly Arg
300 305 310
atc ggt tgg gtg aag gtg atg aag ttt act cgc ggt gaa gcc gtg gcg 1612
Ile Gly Trp Val Lys Val Met Lys Phe Thr Arg Gly Glu Ala Val Ala
315 320 325
ttt tgg gga agc aag ctc gcg tgg gcg ttt tac tac ctc tac ttg ccc 1660
Phe Trp Gly Ser Lys Leu Ala Trp Ala Phe Tyr Tyr Leu Tyr Leu Pro
330 335 340
gcc aag tac tcc cat cgc tcg atc ggt cag ctc ttg gcg ctc tgg acc 1708
Ala Lys Tyr Ser His Arg Ser Ile Gly Gln Leu Leu Ala Leu Trp Thr
345 350 355 360
gtc acc gag ttc gtc acc ggt tgg ttg ctg gcg ttc atg ttc caa gtc 1756
Val Thr Glu Phe Val Thr Gly Trp Leu Leu Ala Phe Met Phe Gln Val
365 370 375
gcc cac gtc gtc ggc gac gtc cac ttc ttc cgc ctc aac gaa aag aac 1804
Ala His Val Val Gly Asp Val His Phe Phe Arg Leu Asn Glu Lys Asn
380 385 390 395
cag ctc aac aag ggc tgg ggc gag gcg caa ctc atg act tcg gct gat 1852
Gln Leu Asn Lys Gly Trp Gly Glu Ala Gln Leu Met Thr Ser Ala Asp
400 405 410
ttc gcg cac ggc agc aag ttt tgg acc cac ttc tcc ggc ggc tta aac 1900
Phe Ala His Gly Ser Lys Phe Trp Thr His Phe Ser Gly Gly Leu Asn
410 415 420
tat caa gtc gtc cac cac ctc ttc ccg ggc gtg tgt cac gtg cac tac 1948
Tyr Gln Val Val His His Leu Phe Pro Gly Val Cys His Val His Tyr
425 430 435 440
ccc gcg ctc gcg ccg atc atc aag gct gcc gcg gat aag cac gga tta 1996
Pro Ala Leu Ala Pro Ile Ile Lys Ala Ala Ala Asp Lys His Gly Leu
445 450 455
cac tat caa atc tac ccc acg ttt tgg tcc gcg ctg cgc gcg cac ttc 2044
His Tyr Gln Ile Tyr Pro Thr Phe Trp Ser Ala Leu Arg Ala His Phe
460 465 470
tcc cac ctc gcc cgc gtc ggc cac gag gcg tac gtg cct tcc ctc cga 2092
Ser His Leu Ala Arg Val Gly His Glu Ala Tyr Val Pro Ser Leu Arg
475 480 485
acc gtc ggg tga gcgcgcctcg gcgcggcca tttattcata cctttacctc 2144
Thr Val Gly
490
accccgacgc gtcgatcgct cgccggcgct cccatcgcat ttattttaat ctccacgtct 2204
tccgtccatc cctcgcgct tcgcctcgcg ctgcgctcg cctcgcctcg cccgggcttc 2264
ctccccactc cgccgcgcg cgtcgcgcg gcg 2297

ES 2 531 391 T3

<210> 10
 <211> 491
 <212> PRT
 <213> *Ostreococcus lucimarinus*

5

<400> 10

```

Met Thr Thr Val Ala Glu Ile Val Asp Asp Asp Ala Arg Arg Ala Gly
1      5      10      15
Lys Gly Ala Thr Thr Arg Arg Arg Arg Ala Thr Thr Arg Val Ala Arg
      20      25      30
Asp Asp Ala Arg Glu Ala Thr Tyr Thr Ala Ala Glu Val Ala Arg His
      35      40      45
Ala Arg Ala Asp Asp Cys Trp Val Ile Val Arg Gly Gly Val Tyr Asp
      50      55      60
Val Thr Arg Phe Val Pro Arg His Pro Gly Gly Asn Met Ile Tyr Val
65      70      75      80
Lys Ala Gly Gly Glu Cys Thr Ala Leu Phe Asp Ser Tyr His Pro Glu
      85      90      95
Arg Ala Arg Ala Thr Leu Glu Lys Tyr Arg Ile Gly Ala Leu Arg Arg
      100      105      110
Asp Ala Gly Glu Arg Glu Asp Glu Asp Val Val Glu Tyr Leu Lys Asp
      115      120      125
Asp Leu Arg Glu Gly Glu Phe Tyr Ala Asp Cys Lys Ala Gly Ala Ala
130      135      140
Lys Tyr Phe Lys Asp Asn Lys Leu Asp Pro Arg Val His Trp Glu Met
145      150      155      160
Tyr Ala Lys Thr Leu Val Ile Leu Thr Gly Val Val Val Gly His Tyr
      165      170      175
Gly Ser Phe Phe Ala Pro Ser Ala Ser Phe Ala Ala Ala Leu Ala Leu
      180      185      190
Ala Val Leu His Gly Thr Cys Lys Ala Glu Val Gly Val Ser Ile Gln
195      200      205
His Asp Ala Asn His Gly Ala Tyr Gly Asn Asn Arg Thr Trp Leu His
210      215      220
Ala Met Gln Leu Thr Leu Asp Ala Val Gly Ala Ser Ser Phe Met Trp
225      230      235      240
Lys Gln Gln His Val Ala Gly His His Ala Tyr Thr Asn Val Glu Gly
      245      250      255
Ile Asp Pro Asp Ile Arg Cys Ser Glu Lys Asp Val Arg Arg Val Asn
260      265      270
Glu His Gln Pro His Glu Pro Tyr His Arg Val Gln His Val Tyr Leu
275      280      285
Ala Leu Met Tyr Gly Leu Leu Ser Phe Lys Ser Cys Phe Val Asp Asp
290      295      300
Phe Asn Ala Phe Phe Ser Gly Arg Ile Gly Trp Val Lys Val Met Lys
305      310      315      320
Phe Thr Arg Gly Glu Ala Val Ala Phe Trp Gly Ser Lys Leu Ala Trp
      325      330      335
Ala Phe Tyr Tyr Leu Tyr Leu Pro Ala Lys Tyr Ser His Arg Ser Ile
      340      345      350
Gly Gln Leu Leu Ala Leu Trp Thr Val Thr Glu Phe Val Thr Gly Trp
      355      360      365
Leu Leu Ala Phe Met Phe Gln Val Ala His Val Val Gly Asp Val His
370      375      380
Phe Phe Arg Leu Asn Glu Lys Asn Gln Leu Asn Lys Gly Trp Gly Glu
385      390      395      400
Ala Gln Leu Met Thr Ser Ala Asp Phe Ala His Gly Ser Lys Phe Trp
      405      410      415
Thr His Phe Ser Gly Gly Leu Asn Tyr Gln Val Val His His Leu Phe
420      425      430
    
```

Pro Gly Val Cys His Val His Tyr Pro Ala Leu Ala Pro Ile Ile Lys
 Ala Ala 435 Ala Asp Lys His Gly Leu His Tyr Gln Ile Tyr Pro Thr Phe
 Trp Ser Ala Leu Arg Ala 455 His Phe Ser His Leu Ala Arg Val Gly His
 465 470 475 480
 Glu Ala Tyr Val Pro Ser Leu Arg Thr Val Gly
 485 490

5 <210> 11
 <211> 1412
 <212> ADN
 <213> *Ostreococcus lucimarinus*

10 <220>
 <223> Delta-5 elongasa

<220>
 <221> CDS
 <222> (254)..(1150)

15 <400> 11

cgcgcgcgca ctttttcgcc caccgcgcgc cgtcgcgcac tgcgccgtcg tcgcgcgctcg 60
 cgcgaacgcc gacatgtcaa acgttacggt cgccgccgtc tcgcgcgctg cgctccgtct 120
 ctctcgcgcg cgtcgtgctg cgagcgccgc gaaatgtcgc cgagcgtgcg ctatccgttc 180
 gccaccgcca catcgtcgcc actgacgcgc gcgtcgcccg tcgctcgtcg ctcgcgcgcg 240
 cgcacgcgga gac atg gcg cag ttt ccg ctc gtt tcg ctg tgt gct ttc 289
 Met Ala Gln Phe Pro Leu Val Ser Leu Cys Ala Phe
 1 5 10
 gcg gtg tac ggc tac gcg acg tac gcg tac gcg ttc gaa tgg tcg cac 337
 Ala Val Tyr Gly Tyr Ala Thr Tyr Ala Tyr Ala Phe Glu Trp Ser His
 15 20 25
 gcg cgc acg ccc gga ggt ttg gcg aac gtc gac gcg cag cga tgg atc 385
 Ala Arg Thr Pro Gly Gly Leu Ala Asn Val Asp Ala Gln Arg Trp Ile
 30 35 40
 ggt gat ctc tcg ttc gcg ctc ccg gcg tgc gcg acg acg gcg tac ttg 433
 Gly Asp Leu Ser Phe Ala Leu Pro Ala Cys Ala Thr Thr Ala Tyr Leu
 45 50 55 60
 atg ttt tgc ctc gtc ggg ccg cgc gtg atg gcg aag cga gag gcg ttc 481
 Met Phe Cys Leu Val Gly Pro Arg Val Met Ala Lys Arg Glu Ala Phe
 65 70 75
 gat ccg aaa ggg ctc atg ctg gcg tac aac gcg tat cag acg gcg ttc 529
 Asp Pro Lys Gly Leu Met Leu Ala Tyr Asn Ala Tyr Gln Thr Ala Phe
 80 85 90
 aac gtg tgc gtg ctc ggg atg ttt att cgg gag atc gtg acg ctg aaa 577
 Asn Val Cys Val Leu Gly Met Phe Ile Arg Glu Ile Val Thr Leu Lys
 95 100 105
 caa ccg acg tgg ggg tcg aag atg ccg tgg agc gat aaa cgg tcg ttt 625
 Gln Pro Thr Trp Gly Ser Lys Met Pro Trp Ser Asp Lys Arg Ser Phe
 110 115 120
 aac atc ttg ctc ggg gtg tgg ttt cat tac aac aac aag tat ttg gaa 673
 Asn Ile Leu Leu Gly Val Trp Phe His Tyr Asn Asn Lys Tyr Leu Glu
 125 130 135 140
 ttg ctg gac acg gcg ttt atg att gcc cgc aag acg aat caa ctg 721
 Leu Leu Asp Thr Ala Phe Met Ile Ala Arg Lys Lys Thr Asn Gln Leu
 145 150 155
 agc ttt ttg cac gtg tat cat cac gca ctg ttg att tgg gca tgg tgg 769
 Ser Phe Leu His Val Tyr His His Ala Leu Leu Ile Trp Ala Trp Trp
 160 165 170
 ttc gtg tgt cat ctg atg gcg acg aac gat tgc gtc gac gcg tac ttt 817
 Phe Val Cys His Leu Met Ala Thr Asn Asp Cys Val Asp Ala Tyr Phe


```

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

```

- <210> 13
- <211> 2077
- 5 <212> ADN
- <213> *Ostreococcus lucimarinus*
- <220>
- 10 <223> Delta-6 desaturasa
- <220>
- <221> CDS
- <222> (388)..(1836)
- 15 <400> 13

ES 2 531 391 T3

```

cgccgcgcgg cgacgttcaa cgtagcgaat tgaacgaat tagcatgtgc gaataacgcg      60
agagacgatg attcgatcgc gacgaccacc gcgtcgaccg cgcgcgcggt cgcgcgaggc      120
gacattaaaa cgcgcgcgct cggcgctcgc gcgcgacgca gggagcacia gatgatgaca      180
ctggcggctc gctttatcgt cacatcgcgt cgtcgcgcgc gcgcggcggc gtccgtgacc      240
gcgcgcaccg cgaacaacac acgcgcgatc aaagtctcgc gcgcgccgca cgcctcgaag      300
acgcgcggcg acgacgtcag acgcgttcaa agcgacgaat tccacaaaac tgatcgttcg      360

ctttaaattc tgattaaaac gcgagag atg tgc gtc gaa acg acc gaa ggc aca      414
                               Met Cys Val Glu Thr Thr Glu Gly Thr
                               1                               5
tcg cga acg atg gcg aac gaa cgc acg agc tcg tcg tcg tcg ctg agc      462
Ser Arg Thr Met Ala Asn Glu Arg Thr Ser Ser Ser Ser Ser Leu Ser
10                               15                               20                               25
gaa ggc gga acg ccg acg gtg acg gtc ggg atg gga agc gaa gac gcg      510
Glu Gly Gly Thr Pro Thr Val Thr Val Gly Met Gly Ser Glu Asp Ala
30                               35                               40
ggg aag aag act cga aac gcg agc gtc acg gcg tgg acg aaa gag ttg      558
Gly Lys Lys Thr Arg Asn Ala Ser Val Thr Ala Trp Thr Lys Glu Leu
45                               50                               55
gag ccg cac gcg atc gcg aag acg ttc gaa cgg cgg tac gtg acg atc      606
Glu Pro His Ala Ile Ala Lys Thr Phe Glu Arg Arg Tyr Val Thr Ile
60                               65                               70
gaa ggc gtg gaa tac gat gtg acg gat ttt aag cat ccc gga gga tcg      654
Glu Gly Val Glu Tyr Asp Val Thr Asp Phe Lys His Pro Gly Gly Ser
75                               80                               85
gtt att tat tac atg ctg tcg aac acg gga gcg gac gcg acg gag gct      702
Val Ile Tyr Tyr Met Leu Ser Asn Thr Gly Ala Asp Ala Thr Glu Ala
90                               95                               100                               105
ttt aaa gag ttt cat tat cgg tcg aaa aag gcg cgc aag gcg ttg gcg      750
Phe Lys Glu Phe His Tyr Arg Ser Lys Lys Ala Arg Lys Ala Leu Ala
110                               115                               120

```


gcg	ttg	ccg	cat	aag	cca	gtg	gac	gcg	gcg	acg	cgg	gaa	ccg	atc	gaa	798
Ala	Leu	Pro	His	Lys	Pro	Val	Asp	Ala	Ala	Thr	Arg	Glu	Pro	Ile	Glu	
			125					130					135			
gat	gag	gcg	atg	ctg	aag	gat	ttc	gcg	cag	tgg	cgc	aag	gaa	ttg	gag	846
Asp	Glu	Ala	Met	Leu	Lys	Asp	Phe	Ala	Gln	Trp	Arg	Lys	Glu	Leu	Glu	
		140					145					150				
cgt	gag	gga	ttt	ttt	aag	ccc	tcg	gcg	cac	gtg	gcg	tat	cga	ttc	894	
Arg	Glu	Gly	Phe	Phe	Lys	Pro	Ser	Pro	Ala	His	Val	Ala	Tyr	Arg	Phe	
		155				160					165					
gcc	gag	ctc	gcg	gcg	atg	ttc	gcg	ctc	ggc	acg	gcg	ttg	atg	cac	gcg	942
Ala	Glu	Leu	Ala	Ala	Met	Phe	Ala	Leu	Gly	Thr	Ala	Leu	Met	His	Ala	
		170			175				180						185	
cgt	tgg	cac	gtc	gct	tcc	gtg	atc	gtg	tac	tcg	tgt	ttc	ttc	ggc	gcg	990
Arg	Trp	His	Val	Ala	Ser	Val	Ile	Val	Tyr	Ser	Cys	Phe	Phe	Gly	Ala	
			190						195					200		
cga	tgc	ggt	tgg	gtg	cag	cac	gag	ggt	ggg	cac	aat	tcg	ttg	act	gga	1038
Arg	Cys	Gly	Trp	Val	Gln	His	Glu	Gly	Gly	His	Asn	Ser	Leu	Thr	Gly	
			205					210					215			
aac	att	tgg	tgg	gac	aag	cga	atc	caa	gcc	ttc	gcc	gcg	ggg	ttc	ggc	1086
Asn	Ile	Trp	Trp	Asp	Lys	Arg	Ile	Gln	Ala	Phe	Ala	Ala	Gly	Phe	Gly	
		220					225					230				
ttg	gcg	tcg	agt	ggc	gac	atg	tgg	aac	aac	atg	cac	aac	aag	cat	cac	1134
Leu	Ala	Ser	Ser	Gly	Asp	Met	Trp	Asn	Asn	Met	His	Asn	Lys	His	His	
		235				240					245					
gcg	acg	ccc	caa	aag	gtg	cga	cac	gat	atg	gat	ctc	gac	acc	act	ccc	1182
Ala	Thr	Pro	Gln	Lys	Val	Arg	His	Asp	Met	Asp	Leu	Asp	Thr	Thr	Pro	
		250			255					260					265	
acg	gtg	gcg	ttc	ttc	aac	tcc	gcg	ggt	gaa	gaa	aat	cgc	ccg	cgg	gga	1230
Thr	Val	Ala	Phe	Phe	Asn	Ser	Ala	Val	Glu	Glu	Asn	Arg	Pro	Arg	Gly	
			270					275						280		
ttc	agt	aag	ttg	tgg	ttg	cgc	ctt	caa	gcg	tgg	acc	ttc	gtg	ccc	gtg	1278
Phe	Ser	Lys	Leu	Trp	Leu	Arg	Leu	Gln	Ala	Trp	Thr	Phe	Val	Pro	Val	
			285					290					295			
acg	tcc	ggt	atg	ggt	ttg	ttc	ttc	tgg	atg	ttc	gtc	ttg	cac	ccg	cgt	1326
Thr	Ser	Gly	Met	Val	Leu	Phe	Phe	Trp	Met	Phe	Val	Leu	His	Pro	Arg	
		300					305					310				
aac	gcg	ctg	cga	cgc	aaa	agc	ttc	gaa	gaa	gcg	gct	tgg	atg	ttt	tcc	1374
Asn	Ala	Leu	Arg	Arg	Lys	Ser	Phe	Glu	Glu	Ala	Ala	Trp	Met	Phe	Ser	
		315				320					325					
gcg	cac	gtc	att	cgc	acg	gcg	ggt	atc	aaa	gcc	gtc	acc	ggc	tac	tcc	1422
Ala	His	Val	Ile	Arg	Thr	Ala	Val	Ile	Lys	Ala	Val	Thr	Gly	Tyr	Ser	
		330			335					340					345	
tgg	atc	gcc	tcg	tac	ggc	ttg	ttc	gcg	gcg	acg	atg	tgg	gcg	agc	gga	1470
Trp	Ile	Ala	Ser	Tyr	Gly	Leu	Phe	Ala	Ala	Thr	Met	Trp	Ala	Ser	Gly	
				350				355						360		
tgt	tac	ttg	ttc	gcg	cac	ttt	tcc	acg	tct	cac	acg	cac	ttg	gat	gtc	1518
Cys	Tyr	Leu	Phe	Ala	His	Phe	Ser	Thr	Ser	His	Thr	His	Leu	Asp	Val	
			365					370					375			
gtg	ccg	agc	gat	aaa	cac	ctc	tcg	tgg	gtg	cga	tac	gcc	gtc	gat	cac	1566
Val	Pro	Ser	Asp	Lys	His	Leu	Ser	Trp	Val	Arg	Tyr	Ala	Val	Asp	His	
		380					385					390				
acg	atc	gac	atc	aat	ccg	aac	aac	agc	gtc	gtc	aac	tgg	ttg	atg	ggc	1614
Thr	Ile	Asp	Ile	Asn	Pro	Asn	Asn	Ser	Val	Val	Asn	Trp	Leu	Met	Gly	
		395				400					405					
tac	ttg	aac	tgc	caa	gtc	atc	cat	cac	ctg	ttc	ccg	gat	atg	cct	cag	1662
Tyr	Leu	Asn	Cys	Gln	Val	Ile	His	His	Leu	Phe	Pro	Asp	Met	Pro	Gln	
		410			415					420					425	
ttc	cgc	caa	ccc	gaa	gtc	tcc	cgc	cga	ttc	gtc	ccg	ttt	gcg	aag	aag	1710
Phe	Arg	Gln	Pro	Glu	Val	Ser	Arg	Arg	Phe	Val	Pro	Phe	Ala	Lys	Lys	
				430					435					440		
tgg	aac	tta	aac	tac	aag	gtc	ttg	acg	tat	tat	ggg	gcc	tgg	aag	gcg	1758
Trp	Asn	Leu	Asn	Tyr	Lys	Val	Leu	Thr	Tyr	Tyr	Gly	Ala	Trp	Lys	Ala	
			445				450					455				
acg	ttc	ggc	aac	ttg	aac	gac	gtc	ggg	aag	cac	tat	tac	gtg	cac	gga	1806
Thr	Phe	Gly	Asn	Leu	Asn	Asp	Val	Gly	Lys	His	Tyr	Tyr	Val	His	Gly	
		460				465						470				
tct	cag	cgc	gtc	aaa	tca	aag	tcg	gcg	tga	gtttcgatga	gctcttcgcc					1856
Ser	Gln	Arg	Val	Lys	Ser	Lys	Ser	Ala								
		475				480										

ES 2 531 391 T3

ctcgcgatgt cgcctcgcgc gacgttctct catcttatcc catcttgcat catctcgcgc 1916
ggcacttcac tagctcgcgc cgcgttatct ccaagattta ccgctttgtg aacgtttatt 1976
ctagcaacct ttagggtttt tttcgcgaac gagacgtcaa cttgtctgcc gcccatcgca 2036
acgttccgcc acaccacggc tcgccgacgc ccgctcgcgc g 2077

5 <210> 14
<211> 482
<212> PRT
<213> *Ostreococcus lucimarinus*
<400> 14

Met Cys Val Glu Thr Thr Glu Gly Thr Ser Arg Thr Met Ala Asn Glu
 1 Arg Thr Ser Ser 5 Ser Ser Ser Leu Ser 10 Gly Gly Thr Pro Thr Val
 Thr Val Gly Met Gly Ser Glu Asp Ala Gly Lys Lys Thr Arg Asn Ala
 Ser Val Thr Ala Trp Thr Lys 20 Glu Leu Glu Pro His Ala Ile Ala Lys
 Thr Phe Glu Arg Arg Tyr Val Thr Ile Glu Gly Val Glu Tyr Asp Val
 65 Thr Asp Phe Lys His 30 Pro Gly Gly Ser Val Ile Tyr Tyr Met Leu Ser
 Asn Thr Gly Ala Asp Ala Thr Glu Ala Phe Lys Glu Phe His Tyr Arg
 Ser Lys Lys Ala Arg Lys Ala Leu Ala Ala Leu Pro His Lys Pro Val
 Asp Ala Ala Thr Arg Glu Pro Ile Glu Asp Glu Ala Met Leu Lys Asp
 Phe Ala Gln Trp Arg Lys Glu Leu Glu Arg Glu Gly Phe Phe Lys Pro
 145 Ser Pro Ala His Val Ala Tyr Arg Phe Ala Glu Leu Ala Ala Met Phe
 Ala Leu Gly Thr Ala Leu Met His Ala Arg Trp His Val Ala Ser Val
 Ile Val Tyr Ser Cys Phe Phe Gly Ala Arg Cys Gly Trp Val Gln His
 Glu Gly Gly His Asn Ser Leu Thr Gly Asn Ile Trp Trp Asp Lys Arg
 Ile Gln Ala Phe Ala Ala Gly Phe Gly Leu Ala Ser Ser Gly Asp Met
 225 Trp Asn Asn Met His Asn Lys His His Ala Thr Pro Gln Lys Val Arg
 His Asp Met Asp Leu Asp Thr Thr Pro Thr Val Ala Phe Phe Asn Ser
 Ala Val Glu Glu Asn Arg Pro Arg Gly Phe Ser Lys Leu Trp Leu Arg
 Leu Gln Ala Trp Thr Phe Val Pro Val Thr Ser Gly Met Val Leu Phe
 Phe Trp Met Phe Val Leu His Pro Arg Asn Ala Leu Arg Arg Lys Ser
 305 Phe Glu Glu Ala Ala Trp Met Phe Ser Ala His Val Ile Arg Thr Ala
 Val Ile Lys Ala Val Thr Gly Tyr Ser Trp Ile Ala Ser Tyr Gly Leu
 Phe Ala Ala Thr Met Trp Ala Ser Gly Cys Tyr Leu Phe Ala His Phe
 Ser Thr Ser His Thr His Leu Asp Val Val Pro Ser Asp Lys His Leu
 370 Ser Trp Val Arg Tyr Ala Val Asp His Thr Ile Asp Ile Asn Pro Asn
 385 390 395 400

Asn Ser Val Val Asn Trp Leu Met Gly Tyr Leu Asn Cys Gln Val Ile
 405 His His Leu Phe Pro Asp Met Pro Gln Phe Arg Gln Pro Glu Val Ser
 420 Arg Arg Phe Val Pro Phe Ala Lys Lys Trp Asn Leu Asn Tyr Lys Val
 435 Leu Thr Tyr Tyr Gly Ala Trp Lys Ala Thr Phe Gly Asn Leu Asn Asp
 450 Val Gly Lys His Tyr Tyr Val His Gly Ser Gln Arg Val Lys Ser Lys
 465 Ser Ala 470 475 480

ES 2 531 391 T3

<210> 15
 <211> 864
 <212> ADN
 <213> *Ostreococcus lucimarinus*

5

<220>
 <223> Delta-6 elongasa

10

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(864)

<400> 15

atg	ttg	cga	cac	tac	tgg	aag	gcg	tgg	gac	tca	atc	att	tcg	aaa	gta	48
Met	Leu	Arg	His	Tyr	Trp	Lys	Ala	Trp	Asp	Ser	Ile	Ile	Ser	Lys	Val	
1				5					10					15		
gtt	ttc	tcc	tgc	gct	gac	tgg	tta	ggc	tgg	gag	ctc	gac	ccg	ctg	agc	96
Val	Phe	Ser	Cys	Ala	Asp	Trp	Leu	Gly	Trp	Glu	Leu	Asp	Pro	Leu	Ser	
			20					25					30			
ccc	acc	acc	tca	cat	tta	ccc	gcc	ata	acc	tca	cca	act	cct	ctg	atc	144
Pro	Thr	Thr	Ser	His	Leu	Pro	Ala	Ile	Thr	Ser	Pro	Thr	Pro	Leu	Ile	
		35					40					45				
acc	agc	ctt	ctc	gtg	tac	ttg	gtc	acg	gtc	gtt	gta	tcg	tac	cgc	gtc	192
Thr	Ser	Leu	Leu	Val	Tyr	Leu	Val	Thr	Val	Val	Val	Ser	Tyr	Arg	Val	
	50					55					60					
tta	tcc	gca	aca	aca	aac	aca	aag	att	tgg	gat	ccc	aca	tgg	tta	aaa	240
Leu	Ser	Ala	Thr	Thr	Asn	Thr	Lys	Ile	Trp	Asp	Pro	Thr	Trp	Leu	Lys	
65				70						75				80		
gca	tcg	gtg	att	tgc	cac	aat	gca	ttc	ctc	ata	tta	cta	agt	ttg	tat	288
Ala	Ser	Val	Ile	Cys	His	Asn	Ala	Phe	Leu	Ile	Leu	Leu	Ser	Leu	Tyr	
			85						90					95		
atg	tgc	atc	ggg	tgt	atc	gtc	gaa	gca	tac	aaa	agt	gga	tat	aag	cta	336
Met	Cys	Ile	Gly	Cys	Ile	Val	Glu	Ala	Tyr	Lys	Ser	Gly	Tyr	Lys	Leu	
			100					105					110			
tgg	gga	aat	aag	ttc	aac	gtg	aat	gaa	aag	cag	ctt	gcg	ttt	tac	atc	384
Trp	Gly	Asn	Lys	Phe	Asn	Val	Asn	Glu	Lys	Gln	Leu	Ala	Phe	Tyr	Ile	
		115				120						125				
tac	ctc	ttt	tac	gtg	agc	aag	ata	tat	gag	ttc	gtt	gat	aca	ttc	ata	432
Tyr	Leu	Phe	Tyr	Val	Ser	Lys	Ile	Tyr	Glu	Phe	Val	Asp	Thr	Phe	Ile	
	130					135					140					
atg	cta	ctg	aag	aga	aac	tta	cgc	caa	gta	agc	ttt	ttg	cat	gtc	tac	480
Met	Leu	Leu	Lys	Arg	Asn	Leu	Arg	Gln	Val	Ser	Phe	Leu	His	Val	Tyr	
145				150						155				160		
cat	cac	agc	act	att	tcg	ttt	ata	tgg	tgg	atg	atc	gca	cgt	cga	gct	528
His	His	Ser	Thr	Ile	Ser	Phe	Ile	Trp	Trp	Met	Ile	Ala	Arg	Arg	Ala	
			165					170				175				
ccg	ggt	ggg	gat	gct	tac	ttc	agt	gca	gca	ctg	aac	tct	tgg	gta	cac	576
Pro	Gly	Gly	Asp	Ala	Tyr	Phe	Ser	Ala	Ala	Leu	Asn	Ser	Trp	Val	His	
			180					185					190			
gtg	tgc	atg	tac	acg	tac	tat	ctg	cta	tcg	gct	ctg	atc	ggg	aaa	aac	624
Val	Cys	Met	Tyr	Thr	Tyr	Tyr	Leu	Leu	Ser	Ala	Leu	Ile	Gly	Lys	Asn	
		195					200					205				
aac	gac	aaa	cgt	ggt	aag	tac	ctt	tgg	tgg	ggt	cga	cat	ttg	acg	cag	672
Asn	Asp	Lys	Arg	Val	Lys	Tyr	Leu	Trp	Trp	Gly	Arg	His	Leu	Thr	Gln	
	210					215					220					
atg	cag	atg	ctt	caa	ttt	cta	tgc	aat	ctg	tta	cag	gcc	gtg	tac	tgt	720
Met	Gln	Met	Leu	Gln	Phe	Leu	Cys	Asn	Leu	Leu	Gln	Ala	Val	Tyr	Cys	
225					230					235					240	
gca	tat	ttt	tca	gaa	tac	ccg	aag	ttc	ttg	tca	aag	ata	ctc	ctt	ttt	768
Ala	Tyr	Phe	Ser	Glu	Tyr	Pro	Lys	Phe	Leu	Ser	Lys	Ile	Leu	Leu	Phe	
			245						250					255		
tac	atg	att	agc	ctg	ctg	gcg	ctg	ttt	gga	cat	ttc	tat	tac	tcc	aag	816
Tyr	Met	Ile	Ser	Leu	Leu	Ala	Leu	Phe	Gly	His	Phe	Tyr	Tyr	Ser	Lys	
			260					265					270			
cac	atc	gcc	acc	gcg	aag	ctc	agg	aaa	cac	acc	aag	aag	gcg	tga		864
His	Ile	Ala	Thr	Ala	Lys	Leu	Arg	Lys	Lys	His	Thr	Lys	Lys	Ala		
		275					280					285				

15

ES 2 531 391 T3

<210> 16
 <211> 287
 <212> PRT
 <213> *Ostreococcus lucimarinus*

5

<400> 16

```

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

10 <210> 17
 <211> 903
 <212> ADN
 <213> *Ostreococcus tauri*

15 <220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(903)
 <223> Delta-5-Elongasa

20 <400> 17

ES 2 531 391 T3

atg Met 1	agc Ser	gcc Ala	tcc Ser	ggg Gly 5	gca Ala	ctg Leu	ctg Leu	ccc Pro	gca Ala 10	atc Ile	gca Ala	ttc Phe	gcc Ala 15	gca Ala	tac Tyr	48
gca Ala	tac Tyr	gca Ala	acg Thr 20	tac Tyr	gcc Ala	tac Tyr	gcc Ala	ttt Phe 25	gag Glu	tgg Trp	tcg Ser	cac His	gca Ala 30	aat Asn	ggc Gly	96
atc Ile	gac Asp	aac Asn 35	gtc Val	gac Asp	gca Ala	cgc Arg	gag Glu 40	tgg Trp	atc Ile	ggg Gly	gca Ala	ctg Leu 45	tcg Ser	ttg Leu	agg Arg	144
ctc Leu	ccg Pro 50	gca Ala	atc Ile	gca Ala	acg Thr 55	acg Thr	atg Met	tac Tyr	ctg Leu	ttg Leu	ttc Phe 60	tgc Cys	ctg Leu	gtc Val	gga Gly	192
ccg Pro 65	agg Arg	ttg Leu	atg Met	gca Ala	aag Lys 70	cgc Arg	gag Glu	gca Ala	ttc Phe	gac Asp 75	ccg Pro	aag Lys	ggg Gly	ttc Phe	atg Met 80	240
ctg Leu	gca Ala	tac Tyr	aat Asn	gca Ala 85	tac Tyr	cag Gln	acg Thr	gca Ala	ttc Phe 90	aac Asn	gtc Val	gtc Val	gtg Val	ctc Leu 95	ggg Gly	288
atg Met	ttc Phe	gca Ala	cga Arg 100	gag Glu	atc Ile	tcg Ser	ggg Gly	ctg Leu 105	ggg Gly	cag Gln	ccc Pro	gtg Val	tgg Trp 110	ggg Gly	tca Ser	336
acc Thr	atg Met	ccg Pro 115	tgg Trp	agc Ser	gat Asp	aga Arg	aaa Lys 120	tcg Ser	ttt Phe	aag Lys	atc Ile	ctc Leu 125	ctc Leu	ggg Gly	gtg Val	384
tgg Trp 130	ttg Leu	cac His	tac Tyr	aac Asn	aac Asn	caa Gln 135	tat Tyr	ttg Leu	gag Glu	cta Leu	ttg Leu 140	gac Asp	act Thr	gtg Val	ttc Phe	432
atg Met 145	gtt Val	gca Ala	cgc Arg	aag Lys	aag Lys 150	acg Thr	aag Lys	cag Gln	ttg Leu	agc Ser 155	ttc Phe	ttg Leu	cac His	gtt Val	tat Tyr 160	480
cat His	cac His	gcc Ala	ctg Leu	ttg Leu 165	atc Ile	tgg Trp	gca Ala	tgg Trp	tgg Trp 170	ttg Leu	gtg Val	tgt Cys	cac His	ttg Leu 175	atg Met	528
gcc Ala	acg Thr	aac Asn	gat Asp 180	tgt Cys	atc Ile	gat Asp	gcc Ala	tac Tyr 185	ttc Phe	ggc Gly	gca Ala	gca Ala	tgc Cys 190	aac Asn	tcg Ser	576
ttc Phe	att Ile	cac His 195	atc Ile	gtg Val	atg Met	tac Tyr	tcg Ser 200	tat Tyr	tat Tyr	ctc Leu	atg Met	tcg Ser 205	gca Ala	ctc Leu	ggc Gly	624
att Ile	cga Arg 210	tgc Cys	ccg Pro	tgg Trp	aag Lys	cga Arg 215	tac Tyr	atc Ile	acc Thr	cag Gln	gct Ala 220	caa Gln	atg Met	ctc Leu	caa Gln	672
ttc Phe 225	gtc Val	att Ile	gtc Val	ttc Phe	gca Ala 230	cac His	gcc Ala	gtg Val	ttc Phe	gtg Val 235	ctg Leu	cgt Arg	cag Gln	aag Lys	cac His 240	720

ES 2 531 391 T3

tgc ccg gtc acc ctt cct tgg gcg caa atg ttc gtc atg acg aac atg	768
Cys Pro Val Thr Leu Pro Trp Ala Gln Met Phe Val Met Thr Asn Met	
	245
ctc gtg ctc ttc ggg aac ttc tac ctc aag gcg tac tcg aac aag tcg	816
Leu Val Leu Phe Gly Asn Phe Tyr Leu Lys Ala Tyr Ser Asn Lys Ser	
	260
cgc ggc gac ggc gcg agt tcc gtg aaa cca gcc gag acc acg cgc gcg	864
Arg Gly Asp Gly Ala Ser Ser Val Lys Pro Ala Glu Thr Arg Ala	
	275
ccc agc gtg cga cgc acg cga tct cga aaa att gac taa	903
Pro Ser Val Arg Arg Thr Arg Ser Arg Lys Ile Asp	
	290
	295
	300

<210> 18
 <211> 300
 <212> PRT
 <213> *Ostreococcus tauri*

5

<400> 18

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

10

ES 2 531 391 T3

Ile Arg Cys Pro Trp Lys Arg Tyr Ile Thr Gln Ala Gln Met Leu Gln
 210 215 220
 Phe Val Ile Val Phe Ala His Ala Val Phe Val Leu Arg Gln Lys His
 225 230 235 240
 Cys Pro Val Thr Leu Pro Trp Ala Gln Met Phe Val Met Thr Asn Met
 245 250 255
 Leu Val Leu Phe Gly Asn Phe Tyr Leu Lys Ala Tyr Ser Asn Lys Ser
 260 265 270
 Arg Gly Asp Gly Ala Ser Ser Val Lys Pro Ala Glu Thr Thr Arg Ala
 275 280 285
 Pro Ser Val Arg Arg Thr Arg Ser Arg Lys Ile Asp
 290 295 300

<210> 19
 <211> 879
 <212> ADN
 <213> *Ostreococcus tauri*

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(879)
 <223> Delta-6-Elongasa

<400> 19

atg agt ggc tta cgt gca ccc aac ttt tta cac aga ttc tgg aca aag 48
 Met Ser Gly Leu Arg Ala Pro Asn Phe Leu His Arg Phe Trp Thr Lys
 1 5 10 15
 tgg gac tac gcg att tcc aaa gtc gtc ttc acg tgt gcc gac agt ttt 96
 Trp Asp Tyr Ala Ile Ser Lys Val Val Phe Thr Cys Ala Asp Ser Phe
 20 25 30
 cag tgg gac atc ggg cca gtg agt tcg agt acg gcg cat tta ccc gcc 144
 Gln Trp Asp Ile Gly Pro Val Ser Ser Ser Thr Ala His Leu Pro Ala
 35 40 45
 att gaa tcc cct acc cca ctg gtg act agc ctc ttg ttc tac tta gtc 192
 Ile Glu Ser Pro Thr Pro Leu Val Thr Ser Leu Leu Phe Tyr Leu Val
 50 55 60
 aca gtt ttc ttg tgg tat ggt cgt tta acc agg agt tca gac aag aaa 240
 Thr Val Phe Leu Trp Tyr Gly Arg Leu Thr Arg Ser Ser Asp Lys Lys
 65 70 75 80
 att aga gag cct acg tgg tta aga aga ttc ata ata tgt cat aat gcg 288
 Ile Arg Glu Pro Thr Trp Leu Arg Arg Phe Ile Ile Cys His Asn Ala
 85 90 95
 ttc ttg ata gtc ctc agt ctt tac atg tgc ctt ggt tgt gtg gcc caa 336
 Phe Leu Ile Val Leu Ser Leu Tyr Met Cys Leu Gly Cys Val Ala Gln
 100 105 110

5

10

15

ES 2 531 391 T3

gcg tat cag aat gga tat act tta tgg ggt aat gaa ttc aag gcc acg 384
 Ala Tyr Gln Asn Gly Tyr Thr Leu Trp Gly Asn Glu Phe Lys Ala Thr
 115 120 125

gaa act cag ctt gct ctc tac att tac att ttt tac gta agt aaa ata 432
 Glu Thr Gln Leu Ala Leu Tyr Ile Tyr Ile Phe Tyr Val Ser Lys Ile
 130 135 140

tac gag ttt gta gat act tac att atg ctt ctc aag aat aac ttg cgg 480
 Tyr Glu Phe Val Asp Thr Tyr Ile Met Leu Leu Lys Asn Asn Leu Arg
 145 150 155 160

caa gta agt ttc cta cac att tat cac cac agc acg att tcc ttt att 528
 Gln Val Ser Phe Leu His Ile Tyr His His Ser Thr Ile Ser Phe Ile
 165 170 175

tgg tgg atc att gct cgg agg gct ccg ggt ggt gat gct tac ttc agc 576
 Trp Trp Ile Ile Ala Arg Arg Ala Pro Gly Gly Asp Ala Tyr Phe Ser
 180 185 190

gcg gcc ttg aac tca tgg gta cac gtg tgc atg tac acc tat tat cta 624
 Ala Ala Leu Asn Ser Trp Val His Val Cys Met Tyr Thr Tyr Tyr Leu
 195 200 205

tta tca acc ctt att gga aaa gaa gat cct aag cgt tcc aac tac ctt 672
 Leu Ser Thr Leu Ile Gly Lys Glu Asp Pro Lys Arg Ser Asn Tyr Leu
 210 215 220

tgg tgg ggt cgc cac cta acg caa atg cag atg ctt cag ttt ttc ttc 720
 Trp Trp Gly Arg His Leu Thr Gln Met Gln Met Leu Gln Phe Phe Phe
 225 230 235 240

aac gta ctt caa gcg ttg tac tgc gct tcg ttc tct acg tat ccc aag 768
 Asn Val Leu Gln Ala Leu Tyr Cys Ala Ser Phe Ser Thr Tyr Pro Lys
 245 250 255

ttt ttg tcc aaa att ctg ctc gtc tat atg atg agc ctt ctc gcc ttg 816
 Phe Leu Ser Lys Ile Leu Leu Val Tyr Met Met Ser Leu Leu Gly Leu
 260 265 270

ttt ggg cat ttc tac tat tcc aag cac ata gca gca gct aag ctc cag 864
 Phe Gly His Phe Tyr Tyr Ser Lys His Ile Ala Ala Ala Lys Leu Gln
 275 280 285

aaa aaa cag cag tga 879
 Lys Lys Gln Gln

<210> 20
 <211> 292
 <212> PRT
 <213> *Ostreococcus tauri*

5

<400> 20

Met Ser Gly Leu Arg Ala Pro Asn Phe Leu His Arg Phe Trp Thr Lys
 1 5 10 15

Trp Asp Tyr Ala Ile Ser Lys Val Val Phe Thr Cys Ala Asp Ser Phe
 20 25 30

Gln Trp Asp Ile Gly Pro Val Ser Ser Ser Thr Ala His Leu Pro Ala
 35 40 45

10

ES 2 531 391 T3

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

- <210> 21
- <211> 879
- <212> ADN
- <213> *Ostreococcus tauri*

- <220>
- <221> CDS
- <222> (1)..(879)
- <223> Delta-6-Elongasa

- <400> 21

ES 2 531 391 T3

atg Met 1	agt Ser	ggc Gly	tta Leu	cgt Arg 5	gca Ala	ccc Pro	aac Asn	ttt Phe 10	tta Leu	cac His	aga Arg	ttc Phe	tgg Trp	aca Thr 15	aag Lys	48
tgg Trp	gac Asp	tac Tyr	gcg Ala 20	att Ile	tcc Ser	aaa Lys	gtc Val 25	gtc Val	ttc Phe	acg Thr	tgt Cys	gcc Ala 30	gac Asp	agt Ser	ttt Phe	96
cag Gln	tgg Trp	gac Asp 35	atc Ile	ggg Gly	cca Pro	gtg Val	agt Ser 40	tcg Ser	agt Ser	acg Thr	gcg Ala	cat His 45	tta Leu	ccc Pro	gcc Ala	144
att Ile	gaa Glu 50	tcc Ser	cct Pro	acc Thr	cca Pro	ctg Leu 55	gtg Val	act Thr	agc Ser	ctc Leu	ttg Leu 60	ttc Phe	tac Tyr	tta Leu	gtc Val	192
aca Thr 65	gtt Val	ttc Phe	ttg Leu	tgg Trp	tat Tyr 70	ggt Gly	cgt Arg	tta Leu	acc Thr	agg Arg 75	agt Ser	tca Ser	gac Asp	aag Lys	aaa Lys 80	240
att Ile	aga Arg	gag Glu	cct Pro	acg Thr 85	tgg Trp	tta Leu	aga Arg	aga Arg	ttc Phe 90	ata Ile	ata Ile	tgt Cys	cat His	aat Asn 95	gcg Ala	288
ttc Phe	ttg Leu	ata Ile	gtc Val 100	ctc Leu	agt Ser	ctt Leu	tac Tyr	atg Met 105	tgc Cys	ctt Leu	ggt Gly	tgt Cys	gtg Val 110	gcc Ala	caa Gln	336
gcg Ala	tat Tyr	cag Gln 115	aat Asn	gga Gly	tat Tyr	act Thr	tta Leu 120	tgg Trp	ggt Gly	aat Asn	gaa Glu	ttc Phe 125	aag Lys	gcc Ala	acg Thr	384
gaa Glu	act Thr 130	cag Gln	ctt Leu	gct Ala	ctc Leu	tac Tyr 135	att Ile	tac Tyr	att Ile	ttt Phe	tac Tyr 140	gta Val	agt Ser	aaa Lys	ata Ile	432
tac Tyr 145	gag Glu	ttt Phe	gta Val	gat Asp	act Thr 150	tac Tyr	att Ile	atg Met	ctt Leu	ctc Leu 155	aag Lys	aat Asn	aac Asn	ttg Leu	cgg Arg 160	480
caa Gln	gta Val	aga Arg	ttc Phe	cta Leu 165	cac His	act Thr	tat Tyr	cac His	cac His 170	agc Ser	acg Thr	att Ile	tcc Ser	ttt Phe 175	att Ile	528
tgg Trp	tgg Trp	atc Ile	att Ile 180	gct Ala	cgg Arg	agg Arg	gct Ala	ccg Pro 185	ggt Gly	ggt Gly	gat Asp	gct Ala	tac Tyr 190	ttc Phe	agc Ser	576
gcg Ala	gcc Ala	ttg Leu 195	aac Asn	tca Ser	tgg Trp	gta Val	cac His 200	gtg Val	tgc Cys	atg Met	tac Tyr	acc Thr 205	tat Tyr	tat Tyr	cta Leu	624
tta Leu	tca Ser 210	acc Thr	ctt Leu	att Ile	gga Gly	aaa Lys 215	gaa Glu	gat Asp	cct Pro	aag Lys	cgt Arg 220	tcc Ser	aac Asn	tac Tyr	ctt Leu	672
tgg Trp 225	tgg Trp	ggt Gly	cgc Arg	cac His	cta Leu 230	acg Thr	caa Gln	atg Met	cag Gln	atg Met 235	ctt Leu	cag Gln	ttt Phe	ttc Phe	ttc Phe 240	720
aac Asn	gta Val	ctt Leu	caa Gln 245	gcg Ala	ttg Leu	tac Tyr	tgc Cys	gct Ala	tcg Ser 250	ttc Phe	tct Ser	acg Thr	tat Tyr	ccc Pro 255	aag Lys	768
ttt Phe	ttg Leu	tcc Ser	aaa Lys	att Ile	ctg Leu	ctc Leu	gtc Val	tat Tyr	atg Met	atg Met	agc Ser	ctt Leu	ctc Leu	ggc Gly	ttg Leu	816

ES 2 531 391 T3

Asn Val Leu Gln Ala Leu Tyr Cys Ala Ser Phe Ser Thr Tyr Pro Lys
 245 250 255
 Phe Leu Ser Lys Ile Leu Leu Val Tyr Met Met Ser Leu Leu Gly Leu
 260 265 270
 Phe Gly His Phe Tyr Tyr Ser Lys His Ile Ala Ala Ala Lys Leu Gln
 275 280 285
 Lys Lys Gln Gln
 290

5 <210> 23
 <211> 1611
 <212> ADN
 <213> *Ostreococcus tauri*
 10 <220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(1611)
 <223> Delta-4-Desaturasa
 <400> 23

atg tac ctc gga cgc ggc cgt ctc gag agc ggg acg acg cga ggg atg	48
Met Tyr Leu Gly Arg Gly Arg Leu Glu Ser Gly Thr Thr Arg Gly Met	
1 5 10 15	
atg cgg acg cac gcg cgg cga ccg tcg acg acg tcg aat ccg tgc gcg	96
Met Arg Thr His Ala Arg Arg Pro Ser Thr Thr Ser Asn Pro Cys Ala	
20 25 30	
cgg tca cgc gtg cgt aag acg acg gag cga tcg ctc gcg cga gtg cga	144
Arg Ser Arg Val Arg Lys Thr Thr Glu Arg Ser Leu Ala Arg Val Arg	
35 40 45	
cga tcg acg agt gag aag gga agc gcg ctc gtg ctc gag cga gag agc	192
Arg Ser Thr Ser Glu Lys Gly Ser Ala Leu Val Leu Glu Arg Glu Ser	
50 55 60	
gaa cgg gag aag gag gag gga ggg aaa gcg cga gcg gag gga ttg cga	240
Glu Arg Glu Lys Glu Glu Gly Gly Lys Ala Arg Ala Glu Gly Leu Arg	
65 70 75 80	
ttc caa cgc ccg gac gtc gcc gcg ccg ggg gga gcg gat cct tgg aac	288
Phe Gln Arg Pro Asp Val Ala Ala Pro Gly Gly Ala Asp Pro Trp Asn	
85 90 95	
gac gag aag tgg aca aag acc aag tgg acg gta ttc aga gac gtc gcg	336
Asp Glu Lys Trp Thr Lys Thr Lys Trp Thr Val Phe Arg Asp Val Ala	
100 105 110	
tac gat ctc gat cct ttc ttc gct cga cac ccc gga gga gac tgg ctc	384
Tyr Asp Leu Asp Pro Phe Phe Ala Arg His Pro Gly Gly Asp Trp Leu	
115 120 125	
ctg aac ttg gcc gtg gga cga gac tgc acc gcg ctc atc gaa tcc tat	432
Leu Asn Leu Ala Val Gly Arg Asp Cys Thr Ala Leu Ile Glu Ser Tyr	
130 135 140	

15

ES 2 531 391 T3

cac His 145	ttg Leu	cga Arg	cca Pro	gag Glu	gtg Val 150	gcg Ala	acg Thr	gct Ala	cgt Arg	ttc Phe 155	aga Arg	atg Met	ctg Leu	ccc Pro	aaa Lys 160	480
ctc Leu	gag Glu	gat Asp	ttt Phe	ccc Pro 165	gtc Val	gag Glu	gcc Ala	gtg Val	ccc Pro 170	aag Lys	tcc Ser	ccg Pro	aga Arg	ccg Pro 175	aac Asn	528
gat Asp	tcg Ser	ccg Pro	tta Leu 180	tac Tyr	aac Asn	aac Asn	att Ile	cgc Arg 185	aac Asn	cga Arg	gtc Val	cgc Arg	gaa Glu 190	gag Glu	ctc Leu	576
ttc Phe	cca Pro	gag Glu 195	gag Glu	gga Gly	aag Lys	aat Asn	atg Met 200	cac His	aga Arg	cag Gln	ggc Gly 205	ggc Gly	gac Asp	cac His	ggc Gly	624
gac Asp	ggt Gly 210	gac Asp	gat Asp	tct Ser	ggg Gly	ttt Phe 215	cgc Arg	cgc Arg	ctt Leu	ttg Leu	ctt Leu 220	atg Met	ccg Pro	tgt Cys	acc Thr	672
tat Tyr 225	tcc Ser	ctt Leu	ccg Pro	ggg Gly	ggt Val 230	cct Pro	ttc Phe	cgg Arg	ctg Leu	cct Pro 235	cct Pro	cgg Arg	gtc Val	tcg Ser	cgg Arg 240	720
ggg Gly	cgt Arg	gga Gly	ttg Leu	gtc Val 245	tca Ser	cga Arg	ttc Phe	agg Arg	cac His 250	tgc Cys	gcc Ala	aac Asn	cac His	ggc Gly 255	gcg Ala	768
atg Met	tct Ser	cct Pro	tcg Ser 260	ccg Pro	gcc Ala	ggt Val	aac Asn	ggc Gly 265	gtc Val	ctc Leu	ggt Gly	ttg Leu	acg Thr 270	aac Asn	gat Asp	816
ctc Leu	atc Ile	ggc Gly 275	ggc Gly	tcg Ser	tcc Ser	ttg Leu	atg Met 280	tgg Trp	aga Arg	tat Tyr	cac His	cac His 285	caa Gln	gtc Val	agc Ser	864
cac His 290	cac His	att Ile	cat His	tgc Cys	aac Asn	gac Asp 295	aac Asn	gcc Ala	atg Met	gat Asp	caa Gln 300	gac Asp	gtg Val	tac Tyr	acg Thr	912
gcg Ala 305	atg Met	cca Pro	tta Leu	ttg Leu	cgt Arg 310	ttc Phe	gac Asp	gct Ala	cgc Arg	cgg Arg 315	ccc Pro	aag Lys	tcc Ser	tgg Trp	tac Tyr 320	960
cat His	cgc Arg	ttc Phe	cag Gln 325	cag Gln	tgg Trp	tac Tyr	atg Met	ttt Phe	tta Leu 330	gcg Ala	ttc Phe	ccg Pro	ttg Leu	ttg Leu 335	cag Gln	1008
gtt Val	gcc Ala	ttc Phe	caa Gln 340	gtc Val	gga Gly	gac Asp	att Ile	gcc Ala 345	gca Ala	ctg Leu	ttc Phe	acg Thr	cgt Arg 350	gat Asp	acc Thr	1056
gaa Glu	ggc Gly	gct Ala 355	aag Lys	ctt Leu	cac His	ggg Gly	gcg Ala 360	acg Thr	acg Thr	tgg Trp	gag Glu	ctt Leu 365	acc Thr	acg Thr	gtt Val	1104
gtc Val 370	ctc Leu	ggt Gly	aag Lys	att Ile	gtg Val 375	cac His	ttc Phe	ggt Gly	ctt Leu	ttg Leu	ttg Leu 380	ggg Gly	ccg Pro	ttg Leu	atg Met	1152
aac Asn 385	cac His	gcg Ala	gtg Val	agt Ser	tct Ser 390	ggt Val	ttg Leu	ctg Leu	ggg Gly	atc Ile 395	gtc Val	ggt Gly	ttc Phe	atg Met	gcg Ala 400	1200
tgc Cys	caa Gln	ggt Gly	ata Ile	ggt Val 405	ctg Leu	gcg Ala	tgc Cys	acg Thr	ttt Phe 410	gct Ala	gtg Val	agt Ser	cac His	aat Asn 415	gtc Val	1248

ES 2 531 391 T3

gcg gag gcg aag ata cct gag gac acc gga gga gaa gcc tgg gag aga 1296
 Ala Glu Ala Lys Ile Pro Glu Asp Thr Gly Gly Glu Ala Trp Glu Arg
 420 425 430

gat tgg ggt gtc cag cag ttg gtg act agc gcc gac tgg ggt gga aag 1344
 Asp Trp Gly Val Gln Gln Leu Val Thr Ser Ala Asp Trp Gly Gly Lys
 435 440 445

ata ggt aac ttc ttc acg ggt ggc ctc aac ttg caa gtt gag cac cac 1392
 Ile Gly Asn Phe Phe Thr Gly Gln Leu Asn Leu Gln Val Glu His His
 450 455 460

ttg ttt ccg gcg att tgc ttc gtc cac tac ccg gac atc gcg aag atc 1440
 Leu Phe Pro Ala Ile Cys Phe Val His Tyr Pro Asp Ile Ala Lys Ile
 465 470 475 480

gtg aag gaa gaa gcg gcc aag ctc aac atc cct tac gcg tct tac agg 1488
 Val Lys Glu Glu Ala Ala Lys Leu Asn Ile Pro Tyr Ala Ser Tyr Arg
 485 490 495

act ctt cct ggt att ttc gtc caa ttc tgg aga ttt atg aag gac atg 1536
 Thr Leu Pro Gly Ile Phe Val Gln Phe Trp Arg Phe Met Lys Asp Met
 500 505 510

ggc acg gct gag caa att ggt gaa gtt cca ttg ccg aag att ccc aac 1584
 Gly Thr Ala Glu Gln Ile Gly Glu Val Pro Leu Pro Lys Ile Pro Asn
 515 520 525

ccg cag ctc gcg ccg aag ctc gct tag 1611
 Pro Gln Leu Ala Pro Lys Leu Ala
 530 535

<210> 24
 <211> 536
 <212> PRT
 <213> *Ostreococcus tauri*

5

<400> 24

Met Tyr Leu Gly Arg Gly Arg Leu Glu Ser Gly Thr Thr Arg Gly Met
 1 5 10 15

Met Arg Thr His Ala Arg Arg Pro Ser Thr Thr Ser Asn Pro Cys Ala
 20 25 30

Arg Ser Arg Val Arg Lys Thr Thr Glu Arg Ser Leu Ala Arg Val Arg
 35 40 45

Arg Ser Thr Ser Glu Lys Gly Ser Ala Leu Val Leu Glu Arg Glu Ser
 50 55 60

Glu Arg Glu Lys Glu Glu Gly Gly Lys Ala Arg Ala Glu Gly Leu Arg
 65 70 75 80

Phe Gln Arg Pro Asp Val Ala Ala Pro Gly Gly Ala Asp Pro Trp Asn
 85 90 95

Asp Glu Lys Trp Thr Lys Thr Lys Trp Thr Val Phe Arg Asp Val Ala
 100 105 110

Tyr Asp Leu Asp Pro Phe Phe Ala Arg His Pro Gly Gly Asp Trp Leu
 115 120 125

10

ES 2 531 391 T3

Leu Asn Leu Ala Val Gly Arg Asp Cys Thr Ala Leu Ile Glu Ser Tyr
 130 135 140
 His Leu Arg Pro Glu Val Ala Thr Ala Arg Phe Arg Met Leu Pro Lys
 145 150 155 160
 Leu Glu Asp Phe Pro Val Glu Ala Val Pro Lys Ser Pro Arg Pro Asn
 165 170 175
 Asp Ser Pro Leu Tyr Asn Asn Ile Arg Asn Arg Val Arg Glu Glu Leu
 180 185 190
 Phe Pro Glu Glu Gly Lys Asn Met His Arg Gln Gly Gly Asp His Gly
 195 200 205
 Asp Gly Asp Asp Ser Gly Phe Arg Arg Leu Leu Leu Met Pro Cys Thr
 210 215 220
 Tyr Ser Leu Pro Gly Val Pro Phe Arg Leu Pro Pro Arg Val Ser Arg
 225 230 235 240
 Gly Arg Gly Leu Val Ser Arg Phe Arg His Cys Ala Asn His Gly Ala
 245 250 255
 Met Ser Pro Ser Pro Ala Val Asn Gly Val Leu Gly Leu Thr Asn Asp
 260 265 270
 Leu Ile Gly Gly Ser Ser Leu Met Trp Arg Tyr His His Gln Val Ser
 275 280 285
 His His Ile His Cys Asn Asp Asn Ala Met Asp Gln Asp Val Tyr Thr
 290 295 300
 Ala Met Pro Leu Leu Arg Phe Asp Ala Arg Arg Pro Lys Ser Trp Tyr
 305 310 315 320
 His Arg Phe Gln Gln Trp Tyr Met Phe Leu Ala Phe Pro Leu Leu Gln
 325 330 335
 Val Ala Phe Gln Val Gly Asp Ile Ala Ala Leu Phe Thr Arg Asp Thr
 340 345 350
 Glu Gly Ala Lys Leu His Gly Ala Thr Thr Trp Glu Leu Thr Thr Val
 355 360 365
 Val Leu Gly Lys Ile Val His Phe Gly Leu Leu Leu Gly Pro Leu Met
 370 375 380
 Asn His Ala Val Ser Ser Val Leu Leu Gly Ile Val Gly Phe Met Ala
 385 390 395 400
 Cys Gln Gly Ile Val Leu Ala Cys Thr Phe Ala Val Ser His Asn Val
 405 410 415
 Ala Glu Ala Lys Ile Pro Glu Asp Thr Gly Gly Glu Ala Trp Glu Arg
 420 425 430
 Asp Trp Gly Val Gln Gln Leu Val Thr Ser Ala Asp Trp Gly Gly Lys
 435 440 445
 Ile Gly Asn Phe Phe Thr Gly Gly Leu Asn Leu Gln Val Glu His His
 450 455 460
 Leu Phe Pro Ala Ile Cys Phe Val His Tyr Pro Asp Ile Ala Lys Ile
 465 470 475 480
 Val Lys Glu Glu Ala Ala Lys Leu Asn Ile Pro Tyr Ala Ser Tyr Arg
 485 490 495

ES 2 531 391 T3

Thr Leu Pro Gly Ile Phe Val Gln Phe Trp Arg Phe Met Lys Asp Met
 500 505 510
 Gly Thr Ala Glu Gln Ile Gly Glu Val Pro Leu Pro Lys Ile Pro Asn
 515 520 525
 Pro Gln Leu Ala Pro Lys Leu Ala
 530 535

5 <210> 25
 <211> 606
 <212> ADN
 <213> *Ostreococcus tauri*
 10 <220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(606)
 <223> Delta-5-Desaturasa
 <400> 25

atg tac ggt ttg cta tcg ctc aag tcg tgc ttc gtc gac gat ttc aac	48
Met Tyr Gly Leu Leu Ser Leu Lys Ser Cys Phe Val Asp Asp Phe Asn	
1 5 10 15	
gcc tac ttc tcc gga cgc atc ggc tgg gtc aag gtg atg aag ttc acc	96
Ala Tyr Phe Ser Gly Arg Ile Gly Trp Val Lys Val Met Lys Phe Thr	
20 25 30	
cgc ggc gag gcg atc gca ttt tgg ggc acc aag ctc ttg tgg gcc gcg	144
Arg Gly Glu Ala Ile Ala Phe Trp Gly Thr Lys Leu Leu Trp Ala Ala	
35 40 45	
tat tac ctc gcg ttg ccg cta aag atg tcg cat cgg ccg ctc gga gaa	192
Tyr Tyr Leu Ala Leu Pro Leu Lys Met Ser His Arg Pro Leu Gly Glu	
50 55 60	
ctc ctc gca ctc tgg gcc gtc acc gag ttc gtc acc gga tgg ctg ttg	240
Leu Leu Ala Leu Trp Ala Val Thr Glu Phe Val Thr Gly Trp Leu Leu	
65 70 75 80	
gcg ttc atg ttc caa gtc gcc cac gtc gtc ggc gag gtt cac ttc ttc	288
Ala Phe Met Phe Gln Val Ala His Val Val Gly Glu Val His Phe Phe	
85 90 95	
acc ctc gac gcg aag aac cgc gtg aac ttg gga tgg gga gag gca cag	336
Thr Leu Asp Ala Lys Asn Arg Val Asn Leu Gly Trp Gly Glu Ala Gln	
100 105 110	
ctc atg tcg agc gcg gat ttc gcc cac gga tcc aag ttt tgg acg cac	384
Leu Met Ser Ser Ala Asp Phe Ala His Gly Ser Lys Phe Trp Thr His	
115 120 125	
ttc tcc gga ggc tta aac tac caa gtc gtc cac cat ctc ttc ccg gcc	432
Phe Ser Gly Gly Leu Asn Tyr Gln Val Val His His Leu Phe Pro Gly	
130 135 140	

15

ES 2 531 391 T3

```

gct tgc cac gtg cac tat ccc gcg ctc gcg cca att att aag gcg gca      480
Val Cys His Val His Tyr Pro Ala Leu Ala Pro Ile Ile Lys Ala Ala
145                               150                               155                               160

gct gag aag cac ggc ctc cac tac cag att tac ccc acg ttt tgg tcc      528
Ala Glu Lys His Gly Leu His Tyr Gln Ile Tyr Pro Thr Phe Trp Ser
165                               170

gcc ctg cgc gcg cac ttc cgg cac ctc gcc aac gtc ggc cgc gcc gcg      576
Ala Leu Arg Ala His Phe Arg His Leu Ala Asn Val Gly Arg Ala Ala
180                               185                               190

tac gta ccg tcc ctc caa acc gtc gga tga                                606
Tyr Val Pro Ser Leu Gln Thr Val Gly
195                               200

```

5 <210> 26
 <211> 201
 <212> PRT
 <213> *Ostreococcus tauri*
 <400> 26

```

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

Ala Tyr Phe Ser Gly Arg Ile Gly Trp Val Lys Val Met Lys Phe Thr
20                               25

Arg Gly Glu Ala Ile Ala Phe Trp Gly Thr Lys Leu Leu Trp Ala Ala
35                               40                               45

Tyr Tyr Leu Ala Leu Pro Leu Lys Met Ser His Arg Pro Leu Gly Glu
50                               55                               60

Leu Leu Ala Leu Trp Ala Val Thr Glu Phe Val Thr Gly Trp Leu Leu
65                               70                               75                               80

Ala Phe Met Phe Gln Val Ala His Val Val Gly Glu Val His Phe Phe
85                               90

Thr Leu Asp Ala Lys Asn Arg Val Asn Leu Gly Trp Gly Glu Ala Gln
100                              105

Leu Met Ser Ser Ala Asp Phe Ala His Gly Ser Lys Phe Trp Thr His
115

Phe Ser Gly Gly Leu Asn Tyr Gln Val Val His His Leu Phe Pro Gly
130                              135                              140

Val Cys His Val His Tyr Pro Ala Leu Ala Pro Ile Ile Lys Ala Ala
145                              150                              155                              160

Ala Glu Lys His Gly Leu His Tyr Gln Ile Tyr Pro Thr Phe Trp Ser
165                              170

Ala Leu Arg Ala His Phe Arg His Leu Ala Asn Val Gly Arg Ala Ala
180                              185                              190

Tyr Val Pro Ser Leu Gln Thr Val Gly
195                              200

```

10 <210> 27
 <211> 714
 <212> ADN
 <213> *Ostreococcus tauri*
 15

ES 2 531 391 T3

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(714)
 <223> Delta-5-Desaturasa

5

<400> 27

atg	gtg	agc	cat	cac	tcg	tac	tgt	aac	gac	gcg	gat	ttg	gat	cag	gat	48
Met	Val	Ser	His	His	Ser	Tyr	Cys	Asn	Asp	Ala	Asp	Leu	Asp	Gln	Asp	
1			5					10						15		
gtg	tac	acc	gca	ctg	ccg	ctc	ctg	cgc	ctg	gac	ccg	tct	cag	gag	ttg	96
Val	Tyr	Thr	Ala	Leu	Pro	Leu	Leu	Arg	Leu	Asp	Pro	Ser	Gln	Glu	Leu	
			20					25					30			
aag	tgg	ttt	cat	cga	tac	cag	gcg	ttt	tac	gcc	ccg	ctc	atg	tgg	ccg	144
Lys	Trp	Phe	His	Arg	Tyr	Gln	Ala	Phe	Tyr	Ala	Pro	Leu	Met	Trp	Pro	
		35		40			45									
ttt	ttg	tgg	ctc	gcg	gcg	cag	ttt	ggc	gac	gcg	cag	aac	atc	ctg	atc	192
Phe	Leu	Trp	Leu	Ala	Ala	Gln	Phe	Gly	Asp	Ala	Gln	Asn	Ile	Leu	Ile	
	50					55					60					
gac	cga	gcg	tcg	ccg	ggc	gtc	gcg	tac	aag	gga	ttg	atg	gcg	aac	gag	240
Asp	Arg	Ala	Ser	Pro	Gly	Val	Ala	Tyr	Lys	Gly	Leu	Met	Ala	Asn	Glu	
65					70					75					80	
gtc	gcg	ctg	tac	ggt	ctc	ggt	aag	ggt	tta	cac	ttt	ggt	ctt	ctc	ctc	288
Val	Ala	Leu	Tyr	Val	Leu	Gly	Lys	Val	Leu	His	Phe	Gly	Leu	Leu	Leu	
				85				90						95		
ggc	ggt	cct	gcg	tac	ttg	cac	gga	ttg	tcc	aac	gcg	atc	ggt	cca	ttc	336
Gly	Val	Pro	Ala	Tyr	Leu	His	Gly	Leu	Ser	Asn	Ala	Ile	Val	Pro	Phe	
			100					105					110			
ttg	gcg	tac	ggc	gca	ttc	ggc	tcc	ttc	gtc	ctg	tgc	tgg	ttc	ttc	atc	384
Leu	Ala	Tyr	Gly	Ala	Phe	Gly	Ser	Phe	Val	Leu	Cys	Trp	Phe	Phe	Ile	
		115				120						125				
gtc	agc	cat	aac	ctc	gaa	gcg	ctg	aca	ccc	ggt	aac	ctt	aac	aag	tcc	432
Val	Ser	His	Asn	Leu	Glu	Ala	Leu	Thr	Pro	Val	Asn	Leu	Asn	Lys	Ser	
		130				135					140					
acg	aag	aac	gac	tgg	ggg	gcg	tgg	cag	atc	gag	aca	tcg	gcg	tct	tgg	480
Thr	Lys	Asn	Asp	Trp	Gly	Ala	Trp	Gln	Ile	Glu	Thr	Ser	Ala	Ser	Trp	
145					150					155					160	
ggc	aac	gcg	ttc	tgg	agc	ttc	ttc	tct	gga	ggt	ctg	aac	ctg	caa	atc	528
Gly	Asn	Ala	Phe	Trp	Ser	Phe	Phe	Ser	Gly	Gly	Leu	Asn	Leu	Gln	Ile	
				165					170					175		
gag	cac	cac	ctc	ttc	ccg	ggc	atg	gcg	cac	aac	ctg	tac	ccg	aag	atg	576
Glu	His	His	Leu	Phe	Pro	Gly	Met	Ala	His	Asn	Leu	Tyr	Pro	Lys	Met	
			180					185					190			
gtg	ccg	atc	atc	aag	gac	gag	tgt	gcg	aaa	gcg	ggc	ggt	cgc	tac	acc	624
Val	Pro	Ile	Ile	Lys	Asp	Glu	Cys	Ala	Lys	Ala	Gly	Val	Arg	Tyr	Thr	
		195					200					205				
ggt	tac	ggt	ggc	tac	acc	ggc	ctg	ctc	ccg	atc	acc	cgc	gac	atg	ttc	672
Gly	Tyr	Gly	Gly	Tyr	Thr	Gly	Leu	Leu	Pro	Ile	Thr	Arg	Asp	Met	Phe	
		210				215					220					
tcc	tac	ctc	cat	aag	tgt	ggc	cga	acg	gcg	aaa	cta	gcc	taa			714
Ser	Tyr	Leu	His	Lys	Cys	Gly	Arg	Thr	Ala	Lys	Leu	Ala				
225					230					235						

10

ES 2 531 391 T3

<210> 28
 <211> 237
 <212> PRT
 <213> *Ostreococcus tauri*

5

<400> 28

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

10

<210> 29
 <211> 1371
 <212> ADN
 <213> *Ostreococcus tauri*

15

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(1371)
 <223> Delta-6-Desaturasa

20

<400> 29

ES 2 531 391 T3

atg tgc gtg gag acg gaa aat aac gat ggg atc ccc acg gtg gag atc Met Cys Val Glu Thr Glu Asn Asn Asp Gly Ile Pro Thr Val Glu Ile 1 5 10 15	48
gcg ttc gac ggt gag cgc gag cgg gcg gag gca aac gtg aag ctg tcc Ala Phe Asp Gly Glu Arg Glu Arg Ala Glu Ala Asn Val Lys Leu Ser 20 25 30	96
gcg gag aag atg gag ccg gcg gcg ctg gcg aag acg ttc gcg agg cgg Ala Glu Lys Met Glu Pro Ala Ala Leu Ala Lys Thr Phe Ala Arg Arg 35 40 45	144
tac gtc gtg atc gag ggg gtg gag tac gat gtg acg gat ttt aag cac Tyr Val Val Ile Glu Gly Val Glu Tyr Asp Val Thr Asp Phe Lys His 50 55 60	192
ccg gga gga acg gtt att ttc tat gcg ttg tca aac acc ggg gcg gac Pro Gly Gly Thr Val Ile Phe Tyr Ala Leu Ser Asn Thr Gly Ala Asp 65 70 75 80	240
gcg acg gaa gcg ttc aag gag ttt cat cat cgg tcg aga aag gcg agg Ala Thr Glu Ala Phe Lys Glu Phe His His Arg Ser Arg Lys Ala Arg 85 90 95	288
aaa gcc ttg gcg gcg ctc ccg tct cga ccg gcc aag acg gcc aag gtg Lys Ala Leu Ala Ala Leu Pro Ser Arg Pro Ala Lys Thr Ala Lys Val 100 105 110	336
gac gac gcg gag atg ctc caa gat ttc gcc aag tgg cgg aaa gaa ttg Asp Asp Ala Glu Met Leu Gln Asp Phe Ala Lys Trp Arg Lys Glu Leu 115 120 125	384
gag aga gat gga ttc ttc aag ccc tct ccg gcg cac gtg gcg tat cgc Glu Arg Asp Gly Phe Phe Lys Pro Ser Pro Ala His Val Ala Tyr Arg 130 135 140	432
ttc gcc gag ctc gcg gcg atg tac gct ctc ggg acg tac ctg atg tac Phe Ala Glu Leu Ala Ala Met Tyr Ala Leu Gly Thr Tyr Leu Met Tyr 145 150 155 160	480
gct cga tac gtc gtc tcc tcg gtg ctc gtg tac gct tgc ttt ttc ggc	528

ES 2 531 391 T3

Ala	Arg	Tyr	Val	Val 165	Ser	Ser	Val	Leu	Val 170	Tyr	Ala	Cys	Phe	Phe 175	Gly		
gcc	cga	tgc	ggg	tgg	gtg	cag	cac	gag	ggc	gga	cac	agc	tcg	ctg	acg		576
Ala	Arg	Cys	Gly 180	Trp	Val	Gln	His	Glu 185	Gly	Gly	His	Ser	Ser 190	Leu	Thr		
ggc	aac	att	tgg	tgg	gac	aag	cgc	atc	cag	gcc	ttc	aca	gcc	ggg	ttc		624
Gly	Asn	Ile 195	Trp	Trp	Asp	Lys	Arg 200	Ile	Gln	Ala	Phe	Thr 205	Ala	Gly	Phe		
ggg	ctc	gcc	ggg	agc	ggc	gac	atg	tgg	aac	tcg	atg	cac	aac	aag	cat		672
Gly	Leu 210	Ala	Gly	Ser	Gly	Asp 215	Met	Trp	Asn	Ser	Met 220	His	Asn	Lys	His		
cac	gcg	acg	cct	caa	aag	ggt	cgt	cac	gac	atg	gat	ctg	gac	acc	acc		720
His	Ala	Thr	Pro	Gln	Lys 230	Val	Arg	His	Asp	Met 235	Asp	Leu	Asp	Thr	Thr 240		
ccc	gcg	gtg	gcg	ttc	ttc	aac	acc	gcg	gtg	gaa	gac	aat	cgt	ccc	cgt		768
Pro	Ala	Val	Ala	Phe 245	Phe	Asn	Thr	Ala	Val 250	Glu	Asp	Asn	Arg	Pro 255	Arg		
ggc	ttt	agc	aag	tac	tgg	ttg	cgc	ctt	cag	gcg	tgg	acc	ttc	atc	ccc		816
Gly	Phe	Ser	Lys 260	Tyr	Trp	Leu	Arg	Leu 265	Gln	Ala	Trp	Thr	Phe 270	Ile	Pro		
gtg	acg	tcc	ggc	ttg	gtg	ctc	ctt	ttc	tgg	atg	ttt	ttc	ctc	cac	ccc		864
Val	Thr	Ser 275	Gly	Leu	Val	Leu	Leu 280	Phe	Trp	Met	Phe	Phe 285	Leu	His	Pro		
tcc	aag	gct	ttg	aag	ggg	ggc	aag	tac	gaa	gag	ttg	gtg	tgg	atg	ctc		912
Ser	Lys 290	Ala	Leu	Lys	Gly	Gly 295	Lys	Tyr	Glu	Glu	Leu 300	Val	Trp	Met	Leu		
gcc	gcg	cac	gtc	atc	cgc	acg	tgg	acg	atc	aag	gcg	gtg	acc	gga	ttc		960
Ala	Ala	His	Val	Ile	Arg 310	Thr	Trp	Thr	Ile	Lys 315	Ala	Val	Thr	Gly	Phe 320		
acc	gcg	atg	cag	tcc	tac	ggc	tta	ttt	ttg	gcg	acg	agc	tgg	gtg	agc		1008
Thr	Ala	Met	Gln	Ser 325	Tyr	Gly	Leu	Phe	Leu 330	Ala	Thr	Ser	Trp	Val 335	Ser		
ggc	tgc	tat	ctg	ttt	gca	cac	ttc	tcc	acg	tcg	cac	acg	cac	ctg	gat		1056
Gly	Cys	Tyr	Leu 340	Phe	Ala	His	Phe	Ser 345	Thr	Ser	His	Thr	His 350	Leu	Asp		
gtg	gtg	ccc	gcg	gac	gag	cat	ctc	tcc	tgg	ggt	cga	tac	gcc	gtc	gat		1104
Val	Val	Pro 355	Ala	Asp	Glu	His	Leu 360	Ser	Trp	Val	Arg	Tyr 365	Ala	Val	Asp		
cac	acg	atc	gac	atc	gat	ccg	agt	caa	ggg	tgg	gtg	aac	tgg	ttg	atg		1152
His	Thr 370	Ile	Asp	Ile	Asp	Pro 375	Ser	Gln	Gly	Trp	Val 380	Asn	Trp	Leu	Met		
ggc	tac	ctc	aac	tgc	caa	gtc	atc	cac	cac	ctc	ttt	ccg	agc	atg	ccg		1200
Gly	Tyr	Leu	Asn	Cys	Gln 390	Val	Ile	His	His	Leu 395	Phe	Pro	Ser	Met	Pro 400		
cag	ttc	cgc	cag	ccc	gag	gta	tct	cgc	cgc	ttc	gtc	gcc	ttt	gcg	aaa		1248
Gln	Phe	Arg	Gln	Pro 405	Glu	Val	Ser	Arg	Arg 410	Phe	Val	Ala	Phe	Ala 415	Lys		
aag	tgg	aac	ctc	aac	tac	aag	gtc	atg	acc	tac	gcc	ggg	gcg	tgg	aag		1296
Lys	Trp	Asn	Leu 420	Asn	Tyr	Lys	Val	Met 425	Thr	Tyr	Ala	Gly	Ala 430	Trp	Lys		

ES 2 531 391 T3

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

<210> 31
 <211> 1086
 <212> ADN
 <213> *Ostreococcus tauri*

5

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(1086)
 <223> Delta-12-Desaturasa

10

<400> 31

atg	cag	gag	ggg	gtg	cga	aac	att	ccg	aac	gag	tgc	ttt	gag	acg	gga				48
Met	Gln	Glu	Gly	Val	Arg	Asn	Ile	Pro	Asn	Glu	Cys	Phe	Glu	Thr	Gly				
1				5					10				15						

cat	ctt	gaa	aga	ccc	tgg	cgt	tcc	ggc	cgg	tgt	ggg	cgc	gat	ccc	ggt				96
His	Leu	Glu	Arg	Pro	Trp	Arg	Ser	Gly	Arg	Cys	Gly	Arg	Asp	Pro	Gly				

15

ES 2 531 391 T3

	20					25					30					
tcg Ser	aat Asn	tgg Trp 35	ggc Gly	gct Ala	ggc Gly	ttc Phe	cgc Arg 40	ttt Phe	ttt Phe	tcg Ser	ctc Leu	aag Lys 45	ggg Gly	ttt Phe	tgg Trp	144
tgg Trp	ccg Pro 50	gcg Ala	tgg Trp	tgg Trp	gcg Ala	tac Tyr 55	gcg Ala	ttc Phe	gtg Val	acg Thr	ggg Gly 60	acg Thr	gcg Ala	gcc Ala	act Thr	192
ggg Gly 65	tgt Cys	tgg Trp	gtc Val	gcc Ala	gcg Ala 70	cac His	gag Glu	tgc Cys	ggg Gly	cac His 75	ggc Gly	gcg Ala	ttc Phe	agc Ser	gat Asp 80	240
aac Asn	aag Lys	acg Thr	ttg Leu	caa Gln 85	gat Asp	gcg Ala	ggt Val	gga Gly	tac Tyr 90	gtg Val	ttg Leu	cac His	tcg Ser	ttg Leu 95	ctc Leu	288
ttg Leu	gtg Val	ccg Pro	tac Tyr 100	ttt Phe	tct Ser	tgg Trp	cag Gln	cga Arg 105	tca Ser	cac His	gcg Ala	gtg Val	cat His 110	cac His	tcg Ser	336
agg Arg	acg Thr	aat Asn 115	cac His	gtt Val	ctt Leu	gag Glu	ggc Gly 120	gag Glu	acg Thr	cac His	gtg Val	ccg Pro 125	gcg Ala	cgc Arg	ttg Leu	384
ggg Gly	acg Thr 130	gaa Glu	gac Asp	gcc Ala	aac Asn	gtc Val 135	gtg Val	ttc Phe	aag Lys	ctt Leu	cgc Arg 140	gaa Glu	ttg Leu	atc Ile	ggt Gly	432
gaa Glu 145	ggg Gly	ccg Pro	ttc Phe	acg Thr	ttt Phe 150	ttc Phe	aac Asn	ctc Leu	gtc Val	ggc Gly 155	gtc Val	ttc Phe	gcg Ala	ctc Leu	gga Gly 160	480
tgg Trp	ccg Pro	att Ile	tac Tyr	ttg Leu 165	ctc Leu	acc Thr	ggc Gly	gcg Ala	agc Ser 170	ggc Gly	gga Gly	ccg Pro	gtg Val	cgc Arg 175	ggt Gly	528
aac Asn	acg Thr	aac Asn	cac His 180	ttc Phe	tta Leu	ccc Pro	ttc Phe	atg Met 185	ggc Gly	gag Glu	aaa Lys	ggt Gly	aag Lys 190	cac His	gcg Ala	576
ctg Leu	ttc Phe	ccg Pro 195	ggt Gly	aag Lys	tgg Trp	gcg Ala	aag Lys 200	aag Lys	gtg Val	tgg Trp	cag Gln 205	tct Ser	gac Asp	atc Ile	ggc Gly	624
gtt Val	gtt Val 210	gcc Ala	gtc Val	ctg Leu	ggc Gly	gcg Ala 215	ctc Leu	gcg Ala	gct Ala	tgg Trp	gcg Ala 220	gcg Ala	cac His	agc Ser	ggg Gly	672
att Ile 225	gcc Ala	aca Thr	gtg Val	atg Met	gca Ala 230	ctc Leu	tac Tyr	gtc Val	ggc Gly	ccg Pro 235	tac Tyr	atg Met	gtg Val	acc Thr	aac Asn 240	720
ttt Phe	tgg Trp	ctc Leu	gtc Val 245	ttg Leu	tac Tyr	acg Thr	tgg Trp	tta Leu	cag Gln 250	cac His	acc Thr	gac Asp	ggt Val	gac Asp 255	gtg Val	768
ccg Pro	cac His	ttc Phe	gag Glu 260	ggc Gly	gac Asp	gat Asp	tgg Trp	aac Asn 265	ttg Leu	gtc Val	aag Lys	ggg Gly	gca Ala 270	ttc Phe	atg Met	816
acg Thr	atc Ile	gat Asp 275	cgc Arg	ccg Pro	tac Tyr	ggc Gly	cca Pro 280	ggt Val	ttt Phe	gat Asp	ttc Phe	ttg Leu 285	cac His	cac His	cgc Arg	864
atc	ggc	agc	acg	cac	gtc	gcg	cac	cac	atc	aac	aca	cca	ttc	ccg	cat	912

ES 2 531 391 T3

Ile Gly Ser Thr His Val Ala His His Ile Asn Thr Pro Phe Pro His
 290 295 300
 tac aag gct caa atg gcg acg gat gcg cta aag gag gcg tat ccc gac 960
 Tyr Lys Ala Gln Met Ala Thr Asp Ala Leu Lys Glu Ala Tyr Pro Asp
 305 310 315 320
 ctc tac ctt tac gat cca act ccg atc gcg acc gct acg tgg cgc gtg 1008
 Leu Tyr Leu Tyr Asp Pro Thr Pro Ile Ala Thr Ala Thr Trp Arg Val
 325 330 335
 ggg agc aag tgc atc gcc gtc gtg aag aag gga gac gaa tgg gtg ttc 1056
 Gly Ser Lys Cys Ile Ala Val Val Lys Lys Gly Asp Glu Trp Val Phe
 340 345 350
 acg gat aag caa ctc ccg gtc gcg gcg tga 1086
 Thr Asp Lys Gln Leu Pro Val Ala Ala

<210> 32
 <211> 361
 <212> PRT
 <213> *Ostreococcus tauri*
 <400> 32

5

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

10

ES 2 531 391 T3

	195		200		205														
	Val	Val	Ala	Val	Leu	Gly	Ala	Leu	Ala	Ala	Trp	Ala	Ala	His	Ser	Gly			
		210					215					220							
	Ile	Ala	Thr	Val	Met	Ala	Leu	Tyr	Val	Gly	Pro	Tyr	Met	Val	Thr	Asn			
	225					230					235					240			
	Phe	Trp	Leu	Val	Leu	Tyr	Thr	Trp	Leu	Gln	His	Thr	Asp	Val	Asp	Val			
					245					250					255				
	Pro	His	Phe	Glu	Gly	Asp	Asp	Trp	Asn	Leu	Val	Lys	Gly	Ala	Phe	Met			
				260					265					270					
	Thr	Ile	Asp	Arg	Pro	Tyr	Gly	Pro	Val	Phe	Asp	Phe	Leu	His	His	Arg			
			275					280					285						
	Ile	Gly	Ser	Thr	His	Val	Ala	His	His	Ile	Asn	Thr	Pro	Phe	Pro	His			
		290					295					300							
	Tyr	Lys	Ala	Gln	Met	Ala	Thr	Asp	Ala	Leu	Lys	Glu	Ala	Tyr	Pro	Asp			
	305					310					315					320			
	Leu	Tyr	Leu	Tyr	Asp	Pro	Thr	Pro	Ile	Ala	Thr	Ala	Thr	Trp	Arg	Val			
					325					330					335				
	Gly	Ser	Lys	Cys	Ile	Ala	Val	Val	Lys	Lys	Gly	Asp	Glu	Trp	Val	Phe			
				340					345					350					
	Thr	Asp	Lys	Gln	Leu	Pro	Val	Ala	Ala										
	355		360																

<210> 33
 <211> 1077
 <212> ADN
 <213> *Thalassiosira pseudonana*

5

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(1077)
 <223> Delta-5-Elongasa

10

<400> 33

atg tgc tca tca ccg ccg tca caa tcc aaa aca aca tcc ctc cta gca	48
Met Cys Ser Ser Pro Pro Ser Gln Ser Lys Thr Thr Ser Leu Leu Ala	
1 5 10 15	
cgg tac acc acc gcc gcc ctc ctc ctc ctc acc ctc aca aca tgg tgc	96
Arg Tyr Thr Thr Ala Ala Leu Leu Leu Leu Thr Leu Thr Trp Cys	
20 25 30	
cac ttc gcc ttc cca gcc gcc acc gcc aca ccc ggc ctc acc gcc gaa	144
His Phe Ala Phe Pro Ala Ala Thr Ala Thr Pro Gly Leu Thr Ala Glu	
35 40 45	
atg cac tcc tac aaa gtc cca ctc ggt ctc acc gta ttc tac ctg ctg	192
Met His Ser Tyr Lys Val Pro Leu Gly Leu Thr Val Phe Tyr Leu Leu	
50 55 60	

15

ES 2 531 391 T3

agt Ser 65	cta Leu	ccg Pro	tca Ser	cta Leu	aag Lys 70	tac Tyr	gtt Val	acg Thr	gac Asp	aac Asn 75	tac Tyr	ctt Leu	gcc Ala	aaa Lys	aag Lys 80	240
tat Tyr	gat Asp	atg Met	aag Lys	tca Ser 85	ctc Leu	cta Leu	acg Thr	gaa Glu	tca Ser 90	atg Met	gtg Val	ttg Leu	tac Tyr	aat Asn 95	gtg Val	288
gcg Ala	caa Gln	gtg Val	ctg Leu 100	ctc Leu	aat Asn	ggg Gly	tgg Trp	acg Thr 105	gtg Val	tat Tyr	gcg Ala	att Ile	gtg Val 110	gat Asp	gcg Ala	336
gtg Val	atg Met	aat Asn 115	aga Arg	gac Asp	cat His	ccg Pro	ttt Phe 120	att Ile	gga Gly	agt Ser	aga Arg	agt Ser 125	ttg Leu	gtt Val	ggg Gly	384
gcg Ala	gcg Ala 130	ttg Leu	cat His	agt Ser	ggg Gly	agc Ser 135	tcg Ser	tat Tyr	gcg Ala	gtg Val	tgg Trp 140	gtt Val	cat His	tat Tyr	tgt Cys	432
gat Asp 145	aag Lys	tat Tyr	ttg Leu	gag Glu	ttc Phe 150	ttt Phe	gat Asp	acg Thr	tat Tyr	ttt Phe 155	atg Met	gtg Val	ttg Leu	agg Arg	ggg Gly 160	480
aaa Lys	atg Met	gac Asp	cag Gln	gtc Val 165	tcc Ser	ttc Phe	ctc Leu	cac His	atc Ile 170	tac Tyr	cac His	cac His	acg Thr	acc Thr 175	ata Ile	528
gcg Ala	tgg Trp	gca Ala	tgg Trp 180	tgg Trp	atc Ile	gcc Ala	ctc Leu	cgc Arg 185	ttc Phe	tcc Ser	ccc Pro	ggt Gly	gga Gly 190	gac Asp	att Ile	576
tac Tyr	ttc Phe	ggg Gly 195	gca Ala	ctc Leu	ctc Leu	aac Asn	tcc Ser 200	atc Ile	atc Ile	cac His	gtc Val	ctc Leu 205	atg Met	tat Tyr	tcc Ser	624
tac Tyr	tac Tyr 210	gcc Ala	ctt Leu	gcc Ala	cta Leu	ctc Leu 215	aag Lys	gtc Val	agt Ser	tgt Cys	cca Pro 220	tgg Trp	aaa Lys	cga Arg	tac Tyr	672
ctg Leu 225	act Thr	caa Gln	gct Ala	caa Gln	tta Leu 230	ttg Leu	caa Gln	ttc Phe	aca Thr	agt Ser 235	gtg Val	gtg Val	gtt Val	tat Tyr	acg Thr 240	720
ggg Gly	tgt Cys	acg Thr	ggt Gly	tat Tyr 245	act Thr	cat His	tac Tyr	tat Tyr	cat His 250	acg Thr	aag Lys	cat His	gga Gly 255	gcg Ala	gat Asp	768
gag Glu	aca Thr	cag Gln	cct Pro 260	agt Ser	tta Leu	gga Gly	acg Thr	tat Tyr 265	tat Tyr	ttc Phe	tgt Cys	tgt Cys	gga Gly 270	gtg Val	cag Gln	816
gtg Val	ttt Phe 275	gag Glu	atg Met	gtt Val	agt Ser	ttg Leu	ttt Phe 280	gta Val	ctc Leu	ttt Phe	tcc Ser	atc Ile 285	ttt Phe	tat Tyr	aaa Lys	864
cga Arg	tcc Ser 290	tat Tyr	tcg Ser	aag Lys	aag Lys	aac Asn 295	aag Lys	tca Ser	gga Gly	gga Gly	aag Lys 300	gat Asp	agc Ser	aag Lys	aag Lys	912
aat Asn 305	gat Asp	gat Asp	ggg Gly	aat Asn	aat Asn 310	gag Glu	gat Asp	caa Gln	tgt Cys	cac His 315	aag Lys	gct Ala	atg Met	aag Lys	gat Asp 320	960
ata Ile	tcg Ser	gag Glu	ggt Gly	gcg Ala 325	aag Lys	gag Glu	gtt Val	gtg Val	ggg Gly 330	cat His	gca Ala	gcg Ala	aag Lys	gat Asp 335	gct Ala	1008

ES 2 531 391 T3

gga aag ttg gtg gct acg gcg agt aag gct gta aag agg aag gga act 1056
 Gly Lys Leu Val Ala Thr Ala Ser Lys Ala Val Lys Arg Lys Gly Thr
 340 345 350

cgt gtt act ggt gcc atg tag 1077
 Arg Val Thr Gly Ala Met
 355

- <210> 34
- <211> 358
- <212> PRT
- <213> *Thalassiosira pseudonana*
- <400> 34

Met Cys Ser Ser Pro Pro Ser Gln Ser Lys Thr Thr Ser Leu Leu Ala
 1 5 10 15

Arg Tyr Thr Thr Ala Ala Leu Leu Leu Leu Thr Leu Thr Thr Trp Cys
 20 25 30

His Phe Ala Phe Pro Ala Ala Thr Ala Thr Pro Gly Leu Thr Ala Glu
 35 40 45

Met His Ser Tyr Lys Val Pro Leu Gly Leu Thr Val Phe Tyr Leu Leu
 50 55 60

Ser Leu Pro Ser Leu Lys Tyr Val Thr Asp Asn Tyr Leu Ala Lys Lys
 65 70 75 80

Tyr Asp Met Lys Ser Leu Leu Thr Glu Ser Met Val Leu Tyr Asn Val
 85 90 95

Ala Gln Val Leu Leu Asn Gly Trp Thr Val Tyr Ala Ile Val Asp Ala
 100 105 110

Val Met Asn Arg Asp His Pro Phe Ile Gly Ser Arg Ser Leu Val Gly
 115 120 125

Ala Ala Leu His Ser Gly Ser Ser Tyr Ala Val Trp Val His Tyr Cys
 130 135 140

Asp Lys Tyr Leu Glu Phe Phe Asp Thr Tyr Phe Met Val Leu Arg Gly
 145 150 155 160

Lys Met Asp Gln Val Ser Phe Leu His Ile Tyr His His Thr Thr Ile
 165 170 175

Ala Trp Ala Trp Trp Ile Ala Leu Arg Phe Ser Pro Gly Gly Asp Ile
 180 185 190

ES 2 531 391 T3

Tyr Phe Gly Ala Leu Leu Asn Ser Ile Ile His Val Leu Met Tyr Ser
 195 200 205
 Tyr Tyr Ala Leu Ala Leu Leu Lys Val Ser Cys Pro Trp Lys Arg Tyr
 210 220
 Leu Thr Gln Ala Gln Leu Leu Gln Phe Thr Ser Val Val Val Tyr Thr
 225 230 235 240
 Gly Cys Thr Gly Tyr Thr His Tyr Tyr His Thr Lys His Gly Ala Asp
 245 250 255
 Glu Thr Gln Pro Ser Leu Gly Thr Tyr Tyr Phe Cys Cys Gly Val Gln
 260 265 270
 Val Phe Glu Met Val Ser Leu Phe Val Leu Phe Ser Ile Phe Tyr Lys
 275 280 285
 Arg Ser Tyr Ser Lys Lys Asn Lys Ser Gly Gly Lys Asp Ser Lys Lys
 290 295 300
 Asn Asp Asp Gly Asn Asn Glu Asp Gln Cys His Lys Ala Met Lys Asp
 305 310 315 320
 Ile Ser Glu Gly Ala Lys Glu Val Val Gly His Ala Ala Lys Asp Ala
 325 330 335
 Gly Lys Leu Val Ala Thr Ala Ser Lys Ala Val Lys Arg Lys Gly Thr
 340 345 350
 Arg Val Thr Gly Ala Met
 355

5 <210> 35
 <211> 819
 <212> ADN
 <213> *Thalassiosira pseudonana*

10 <220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(819)
 <223> Delta-5-Elongasa

<400> 35

15 atg gac gcc tac aac gct gca atg gat aag atc ggt gcc gcc atc atc 48
 Met Asp Ala Tyr Asn Ala Ala Met Asp Lys Ile Gly Ala Ala Ile Ile
 1 5 10 15

ES 2 531 391 T3

gat tgg tct gat ccc gat gga aag ttc cgt gcc gat aga gag gac tgg 96 Asp Trp Ser Asp Pro Asp Gly Lys Phe Arg Ala Asp Arg Glu Asp Trp 20 25 30
tgg ctc tgc gac ttc cgt agc gcc atc acc atc gcc ctc atc tac atc 144 Trp Leu Cys Asp Phe Arg Ser Ala Ile Thr Ile Ala Leu Ile Tyr Ile 35 40 45
gcc ttc gtc atc ctc ggt tcc gcc gtc atg caa tcc ctc ccc gca atg 192 Ala Phe Val Ile Leu Gly Ser Ala Val Met Gln Ser Leu Pro Ala Met 50 55 60
gat ccc tac ccc atc aaa ttc ctc tac aac gtc tcc caa atc ttc ctt 240 Asp Pro Tyr Pro Ile Lys Phe Leu Tyr Asn Val Ser Gln Ile Phe Leu 65 70 75 80
tgt gcc tac atg act gtc gag gcg gga ttt ttg gcc tac cgc aat gga 288 Cys Ala Tyr Met Thr Val Glu Ala Gly Phe Leu Ala Tyr Arg Asn Gly 85 90 95
tat acc gtc atg cct tgc aat cat ttc aat gtg aat gat cct ccc gtg 336 Tyr Thr Val Met Pro Cys Asn His Phe Asn Val Asn Asp Pro Pro Val 100 105 110
gcg aat ctt ctt tgg ttg ttt tat att tcc aag gtg tgg gac ttt tgg 384 Ala Asn Leu Leu Trp Leu Phe Tyr Ile Ser Lys Val Trp Asp Phe Trp 115 120 125
gat acc att ttc att gtg ttg ggg aag aag ttg cgt caa tta tct ttc 432 Asp Thr Ile Phe Ile Val Leu Gly Lys Lys Trp Arg Gln Leu Ser Phe 130 135 140
ttg cat gta tac cat cac acc acc atc ttt cta ttc tat tgg ctg aat 480 Leu His Val Tyr His His Thr Thr Ile Phe Leu Phe Tyr Trp Leu Asn 145 150 155 160
gcc aat gtc ttg tac gat ggt gac atc ttc ctt acc atc ttg ctc aat 528 Ala Asn Val Leu Tyr Asp Gly Asp Ile Phe Leu Thr Ile Leu Leu Asn 165 170 175
gga ttc atc cac acg gtg atg tac acg tat tac ttc atc tgt atg cat 576 Gly Phe Ile His Thr Val Met Tyr Thr Tyr Tyr Phe Ile Cys Met His 180 185 190
acc aaa gat tcc aag acg ggc aag agt ctt cct ata tgg tgg aag tcg 624 Thr Lys Asp Ser Lys Thr Gly Lys Ser Leu Pro Ile Trp Trp Lys Ser 195 200 205
agt ttg acg gcg ttt cag ttg ttg caa ttc act atc atg atg agt cag 672 Ser Leu Thr Ala Phe Gln Leu Leu Gln Phe Thr Ile Met Met Ser Gln 210 215 220
gct acc tac ctt gtc ttc cac ggg tgt gat aag gtg tcg ctt cgt atc 720 Ala Thr Tyr Leu Val Phe His Gly Cys Asp Lys Val Ser Leu Arg Ile 225 230 235 240
acg att gtg tac ttt gtg tcc ctt ttg agt ttg ttc ttc ctt ttt gct 768 Thr Ile Val Tyr Phe Val Ser Leu Leu Ser Ser Leu Phe Phe Leu Phe Ala 245 250 255
cag ttc ttt gtg caa tca tac atg gca ccc aaa aag aag aag agt gct 816 Gln Phe Phe Val Gln Ser Tyr Met Ala Pro Lys Lys Lys Lys Ser Ala 260 265 270
tag 819

<210> 36

<211> 272

<212> PRT

<213> *Thalassiosira pseudonana*

5

<400> 36

ES 2 531 391 T3

Met Asp Ala Tyr Asn Ala Ala Met Asp Lys Ile Gly Ala Ala Ile Ile
1 5 10 15

Asp Trp Ser Asp Pro Asp Gly Lys Phe Arg Ala Asp Arg Glu Asp Trp
20 25 30

Trp Leu Cys Asp Phe Arg Ser Ala Ile Thr Ile Ala Leu Ile Tyr Ile
35 40 45

Ala Phe Val Ile Leu Gly Ser Ala Val Met Gln Ser Leu Pro Ala Met
50 55 60

Asp Pro Tyr Pro Ile Lys Phe Leu Tyr Asn Val Ser Gln Ile Phe Leu
65 70 75 80

Cys Ala Tyr Met Thr Val Glu Ala Gly Phe Leu Ala Tyr Arg Asn Gly
85 90 95

Tyr Thr Val Met Pro Cys Asn His Phe Asn Val Asn Asp Pro Pro Val
100 105 110

Ala Asn Leu Leu Trp Leu Phe Tyr Ile Ser Lys Val Trp Asp Phe Trp
115 120 125

Asp Thr Ile Phe Ile Val Leu Gly Lys Lys Trp Arg Gln Leu Ser Phe
130 135 140

Leu His Val Tyr His His Thr Thr Ile Phe Leu Phe Tyr Trp Leu Asn
145 150 155 160

Ala Asn Val Leu Tyr Asp Gly Asp Ile Phe Leu Thr Ile Leu Leu Asn
165 170 175

Gly Phe Ile His Thr Val Met Tyr Thr Tyr Tyr Phe Ile Cys Met His
180 185 190

Thr Lys Asp Ser Lys Thr Gly Lys Ser Leu Pro Ile Trp Trp Lys Ser
195 200 205

Ser Leu Thr Ala Phe Gln Leu Leu Gln Phe Thr Ile Met Met Ser Gln
210 215 220

Ala Thr Tyr Leu Val Phe His Gly Cys Asp Lys Val Ser Leu Arg Ile
225 230 235 240

Thr Ile Val Tyr Phe Val Ser Leu Leu Ser Leu Phe Phe Leu Phe Ala
245 250 255

Gln Phe Phe Val Gln Ser Tyr Met Ala Pro Lys Lys Lys Lys Ser Ala
260 265 270

ES 2 531 391 T3

<210> 37
 <211> 1455
 <212> ADN
 <213> *Thalassiosira pseudonana*

5

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(1455)
 <223> Delta-6-Desaturasa

10

<400> 37

atg gga aaa gga gga gac gca gcc gca gct acc aag cgt agt gga gca	48
Met Gly Lys Gly Gly Asp Ala Ala Ala Ala Thr Lys Arg Ser Gly Ala	
1 5 10 15	
ttg aaa ttg gcg gag aag ccg cag aag tac act tgg cag gag gtg aag	96
Leu Lys Leu Ala Glu Lys Pro Gln Lys Tyr Thr Trp Gln Glu Val Lys	
20 25 30	
aag cac atc acc ccc gac gat gcc tgg gta gtc cac caa aac aaa gtc	144
Lys His Ile Thr Pro Asp Asp Ala Trp Val Val His Gln Asn Lys Val	
35 40 45	
tac gac gtc tcc aac tgg tac gac cac ccc ggt gga gcc gtg gtg ttc	192
Tyr Asp Val Ser Asn Trp Tyr Asp His Pro Gly Gly Ala Val Val Phe	
50 55 60	
acc cac gcc gga gac gac atg acg gac atc ttc gcc gcc ttc cac gcc	240
Thr His Ala Gly Asp Asp Met Thr Asp Ile Phe Ala Ala Phe His Ala	
65 70 75 80	
caa ggc tct cag gcc atg atg aag aag ttt tac att gga gat ttg att	288
Gln Gly Ser Gln Ala Met Met Lys Lys Phe Tyr Ile Gly Asp Leu Ile	
85 90 95	
ccg gag agt gtg gag cat aag gat caa aga cag ttg gat ttc gag aag	336
Pro Glu Ser Val Glu His Lys Asp Gln Arg Gln Leu Asp Phe Glu Lys	
100 105 110	
gga tat cgt gat tta cgg gcc aag ctt gtc atg atg ggg atg ttc aag	384
Gly Tyr Arg Asp Leu Arg Ala Lys Leu Val Met Met Gly Met Phe Lys	
115 120 125	
tcg agt aag atg tat tat gca tac aag tgc tcg ttc aat atg tgc atg	432
Ser Ser Lys Met Tyr Tyr Ala Tyr Lys Cys Ser Phe Asn Met Cys Met	
130 135 140	
tgg ttg gtg gcg gtg gcc atg gtg tac tac tcg gac agt ttg gca atg	480
Trp Leu Val Ala Val Ala Met Val Tyr Tyr Ser Asp Ser Leu Ala Met	

ES 2 531 391 T3

145	150						155						160			
cac His	att Ile	gga Gly	tcg Ser	gct Ala 165	ctc Leu	ttg Leu	ttg Leu	gga Gly	ttg Leu 170	ttc Phe	tgg Trp	cag Gln	cag Gln	tgt Cys 175	gga Gly	528
tgg Trp	ctt Leu	gcg Ala	cac His 180	gac Asp	ttt Phe	ctt Leu	cac His	cac His 185	caa Gln	gtc Val	ttt Phe	aag Lys	caa Gln 190	cga Arg	aag Lys	576
tac Tyr	gga Gly	gat Asp 195	ctc Leu	gtt Val	ggc Gly	atc Ile	ttt Phe 200	tgg Trp	gga Gly	gat Asp	ctc Leu	atg Met 205	cag Gln	ggg Gly	ttc Phe	624
tcg Ser	atg Met 210	cag Gln	tgg Trp	tgg Trp	aag Lys	aac Asn 215	aag Lys	cac His	aat Asn	ggc Gly	cac His 220	cat His	gct Ala	ggt Val	ccc Pro	672
aac Asn 225	ttg Leu	cac His	aac Asn	tct Ser	tcc Ser 230	ttg Leu	gac Asp	agt Ser	cag Gln	gat Asp 235	ggt Gly	gat Asp	ccc Pro	gat Asp	att Ile 240	720
gat Asp	acc Thr	atg Met	cca Pro	ctc Leu 245	ctt Leu	gct Ala	tgg Trp	agt Ser	ctc Leu 250	aag Lys	cag Gln	gct Ala	cag Gln	agt Ser 255	ttc Phe	768
aga Arg	gag Glu	atc Ile	aat Asn 260	aag Lys	gga Gly	aag Lys	gac Asp	agt Ser 265	acc Thr	ttc Phe	gtc Val	aag Lys	tac Tyr 270	gct Ala	atc Ile	816
aaa Lys	ttc Phe	cag Gln 275	gca Ala	ttc Phe	aca Thr	tac Tyr	ttc Phe 280	ccc Pro	atc Ile	ctc Leu	ctc Leu	ttg Leu 285	gct Ala	cgc Arg	atc Ile	864
tct Ser	tgg Trp 290	ttg Leu	aat Asn	gaa Glu	tcc Ser	ttc Phe 295	aaa Lys	act Thr	gca Ala	ttc Phe	gga Gly 300	ctc Leu	gga Gly	gct Ala	gcc Ala	912
tcg Ser 305	gag Glu	aat Asn	gcc Ala	aag Lys	ttg Leu 310	gag Glu	ttg Leu	gag Glu	aag Lys	cg Arg 315	gga Gly	ctt Leu	cag Gln	tac Tyr	cca Pro 320	960
ctt Leu	ttg Leu	gag Glu	aag Lys	ctt Leu 325	gga Gly	atc Ile	acc Thr	ctt Leu	cat His 330	tac Tyr	act Thr	tgg Trp	atg Met	ttc Phe 335	gtc Val	1008
ctc Leu	tct Ser	tcc Ser	gga Gly 340	ttt Phe	gga Gly	agg Arg	tgg Trp	tct Ser 345	ctt Leu	cca Pro	tat Tyr	tcc Ser	atc Ile 350	atg Met	tat Tyr	1056
ttc Phe	ttc Phe	act Thr 355	gcc Ala	aca Thr	tgc Cys	tcc Ser	tcg Ser 360	gga Gly	ctt Leu	ttc Phe	ctc Leu	gca Ala 365	ttg Leu	gtc Val	ttt Phe	1104
gga Gly	ttg Leu 370	gga Gly	cac His	aac Asn	ggt Gly	atg Met 375	tca Ser	gtg Val	tac Tyr	gat Asp	gcc Ala 380	acc Thr	acc Thr	cga Arg	cct Pro	1152
gac Asp 385	ttc Phe	tgg Trp	caa Gln	ctc Leu	caa Gln 390	gtc Val	acc Thr	act Thr	aca Thr	cg Arg 395	aac Asn	atc Ile	att Ile	ggt Gly	gga Gly 400	1200
cac His	ggc Gly	att Ile	ccc Pro	caa Gln 405	ttc Phe	ttt Phe	gtg Val	gat Asp	tgg Trp 410	ttc Phe	tgc Cys	ggt Gly	gga Gly	ttg Leu 415	caa Gln	1248
tac Tyr	caa Gln	gtg Val	gat Asp 420	cac His	cac His	ctc Leu	ttc Phe	ccc Pro 425	atg Met	atg Met	cct Pro	aga Arg	aac Asn 430	aat Asn	atc Ile	1296

ES 2 531 391 T3

gcg aaa tgc cac aag ctt gtg gag tca ttc tgt aag gag tgg ggt gtg 1344
 Ala Lys Cys His Lys Leu Val Glu Ser Phe Cys Lys Glu Trp Gly Val
 435 440 445

aag tac cat gag gcc gat atg tgg gat ggt acc gtg gaa gtg ttg caa 1392
 Lys Tyr His Glu Ala Asp Met Trp Asp Gly Thr Val Glu Val Leu Gln
 450 455 460

cat ctc tcc aag gtg tcg gat gat ttc ctt gtg gag atg gtg aag gat 1440
 His Leu Ser Lys Val Ser Asp Asp Phe Leu Val Glu Met Val Lys Asp
 465 470 475 480

ttc cct gcc atg taa 1455
 Phe Pro Ala Met

<210> 38
 <211> 484
 <212> PRT
 <213> *Thalassiosira pseudonana*

5

<400> 38

Met Gly Lys Gly Gly Asp Ala Ala Ala Ala Thr Lys Arg Ser Gly Ala
 1 5 10 15

Leu Lys Leu Ala Glu Lys Pro Gln Lys Tyr Thr Trp Gln Glu Val Lys
 20 25 30

Lys His Ile Thr Pro Asp Asp Ala Trp Val Val His Gln Asn Lys Val
 35 40 45

Tyr Asp Val Ser Asn Trp Tyr Asp His Pro Gly Gly Ala Val Val Phe
 50 55 60

Thr His Ala Gly Asp Asp Met Thr Asp Ile Phe Ala Ala Phe His Ala
 65 70 75 80

Gln Gly Ser Gln Ala Met Met Lys Lys Phe Tyr Ile Gly Asp Leu Ile
 85 90

Pro Glu Ser Val Glu His Lys Asp Gln Arg Gln Leu Asp Phe Glu Lys
 100 105 110

Gly Tyr Arg Asp Leu Arg Ala Lys Leu Val Met Met Gly Met Phe Lys
 115 120 125

Ser Ser Lys Met Tyr Tyr Ala Tyr Lys Cys Ser Phe Asn Met Cys Met
 130 135 140

Trp Leu Val Ala Val Ala Met Val Tyr Tyr Ser Asp Ser Leu Ala Met
 145 150 155 160

10

ES 2 531 391 T3

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

ES 2 531 391 T3

Ala Lys Cys His Lys Leu Val Glu Ser Phe Cys Lys Glu Trp Gly Val
 435 440 445

Lys Tyr His Glu Ala Asp Met Trp Asp Gly Thr Val Glu Val Leu Gln
 450 455 460

His Leu Ser Lys Val Ser Asp Asp Phe Leu Val Glu Met Val Lys Asp
 465 470 475 480

Phe Pro Ala Met

<210> 39
 <211> 1449
 <212> ADN
 <213> *Thalassiosira pseudonana*

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(1449)
 <223> Delta-5-Desaturasa

<400> 39

atg cca ccc aac gcc gag gtc aaa aac ctc cgt tca cgt tcc atc cca	48
Met Pro Pro Asn Ala Glu Val Lys Asn Leu Arg Ser Arg Ser Ile Pro	
1 5 10 15	
acg aag aag tcc agt tca tcg tca tcc acc gcg aac gac gat ccg gct	96
Thr Lys Lys Ser Ser Ser Ser Ser Thr Ala Asn Asp Asp Pro Ala	
20 25 30	
acc caa tcc acc tca cct gtg aac cga acc ctc aag tct ttg aat gga	144
Thr Gln Ser Thr Ser Pro Val Asn Arg Thr Leu Lys Ser Leu Asn Gly	
35 40 45	
aac gaa ata gct att gac ggt gtc atc tat gat att gat ggc ttt gtc	192
Asn Glu Ile Ala Ile Asp Gly Val Ile Tyr Asp Ile Asp Gly Phe Val	
50 55 60	
cat cct gga gga gag gtt att agc ttc ttt gga ggc aac gat gtg act	240
His Pro Gly Gly Glu Val Ile Ser Phe Phe Gly Gly Asn Asp Val Thr	
65 70 75 80	
gta cag tac aaa atg att cat ccg tat cat aat agt aag cat ctc gag	288
Val Gln Tyr Lys Met Ile His Pro Tyr His Asn Ser Lys His Leu Glu	
85 90 95	
aag atg aga gcc gtt gga aag att gca gac tac tcc aca gag tac aag	336
Lys Met Arg Ala Val Gly Lys Ile Ala Asp Tyr Ser Thr Glu Tyr Lys	
100 105 110	
ttc gac aca ccc ttt gaa cga gag atc aaa tcc gaa gtg ttc aaa atc	384
Phe Asp Thr Pro Phe Glu Arg Glu Ile Lys Ser Glu Val Phe Lys Ile	
115 120 125	
gtc cgt cga gga cgt gaa ttc ggt aca aca gga tat ttc ctc cgt gcc	432

15

ES 2 531 391 T3

Val	Arg	Arg	Gly	Arg	Glu	Phe	Gly	Thr	Thr	Gly	Tyr	Phe	Leu	Arg	Ala		
	130					135					140						
ttc	ttc	tac	att	gct	ctc	ttc	ttc	acc	atg	caa	tac	acc	ttc	gcc	aca		480
Phe	Phe	Tyr	Ile	Ala	Leu	Phe	Phe	Thr	Met	Gln	Tyr	Thr	Phe	Ala	Thr		160
145					150					155							
tgc	act	acc	ttc	acc	acc	tac	gat	cat	tgg	tat	caa	agt	ggt	gta	ttc		528
Cys	Thr	Thr	Phe	Thr	Thr	Tyr	Asp	His	Trp	Tyr	Gln	Ser	Gly	Val	Phe		175
				165					170					175			
atc	gcc	att	gtg	ttt	ggt	atc	tca	caa	gct	ttc	att	ggg	tgg	aat	gta		576
Ile	Ala	Ile	Val	Phe	Gly	Ile	Ser	Gln	Ala	Phe	Ile	Gly	Leu	Asn	Val		190
			180					185					190				
caa	cat	gat	gcc	aat	cac	gga	gct	gct	agc	aaa	cga	cct	tgg	gtg	aat		624
Gln	His	Asp	Ala	Asn	His	Gly	Ala	Ala	Ser	Lys	Arg	Pro	Trp	Val	Asn		205
		195				200						205					
gat	ctc	ctt	gga	tct	gga	gct	gat	ctc	atc	ggt	gga	tgc	aaa	tgg	aac		672
Asp	Leu	Leu	Gly	Ser	Gly	Ala	Asp	Leu	Ile	Gly	Gly	Cys	Lys	Trp	Asn		210
	210				215					220							
tgg	ttg	gct	cag	cat	tgg	act	cat	cat	gcg	tat	acc	aat	cac	gct	gat		720
Trp	Leu	Ala	Gln	His	Trp	Thr	His	His	Ala	Tyr	Thr	Asn	His	Ala	Asp		225
					230					235					240		
aaa	gat	cct	gat	agc	ttt	agt	tcc	gag	ccg	gtc	ttc	aac	ttt	aac	gat		768
Lys	Asp	Pro	Asp	Ser	Phe	Ser	Ser	Glu	Pro	Val	Phe	Asn	Phe	Asn	Asp		250
				245					250					255			
tat	ccc	att	ggt	cac	ccc	aaa	aga	aag	tgg	tgg	cat	agg	ttc	caa	ggg		816
Tyr	Pro	Ile	Gly	His	Pro	Lys	Arg	Lys	Trp	Trp	His	Arg	Phe	Gln	Gly		260
			260					265					270				
ctc	tac	ttc	cta	atc	atg	ctg	agt	ttc	tat	tgg	gta	tcg	atg	gta	ttc		864
Leu	Tyr	Phe	Leu	Ile	Met	Leu	Ser	Phe	Tyr	Trp	Val	Ser	Met	Val	Phe		275
		275				280						285					
aac	cca	caa	ggt	atc	gac	ctc	cgt	cat	gct	gga	gct	gcc	tac	ggt	gga		912
Asn	Pro	Gln	Val	Ile	Asp	Leu	Arg	His	Ala	Gly	Ala	Ala	Tyr	Val	Gly		290
	290				295					300							
ttt	cag	atg	gag	aac	gac	ttt	atc	gtc	aaa	cgg	aga	aag	tat	gca	atg		960
Phe	Gln	Met	Glu	Asn	Asp	Phe	Ile	Val	Lys	Arg	Arg	Lys	Tyr	Ala	Met		305
					310					315					320		
gca	ctt	cgt	gca	atg	tac	ttc	tat	ttc	aac	atc	tat	tgt	ccg	att	gtc		1008
Ala	Leu	Arg	Ala	Met	Tyr	Phe	Tyr	Phe	Asn	Ile	Tyr	Cys	Pro	Ile	Val		325
				325					330					335			
aac	aat	gga	ttg	act	tgg	tcg	aca	gtt	gga	atc	atc	ctc	tta	atg	gga		1056
Asn	Asn	Gly	Leu	Thr	Trp	Ser	Thr	Val	Gly	Ile	Ile	Leu	Leu	Met	Gly		340
			340					345					350				
ggt	agc	gaa	agc	ttc	atg	ctc	tcc	ggt	cta	ttc	gta	ctc	tca	cac	aac		1104
Val	Ser	Glu	Ser	Phe	Met	Leu	Ser	Gly	Leu	Phe	Val	Leu	Ser	His	Asn		355
		355					360					365					
ttt	gaa	aat	tcc	gaa	cgt	gat	cct	acc	tct	gag	tat	cgc	aag	act	ggt		1152
Phe	Glu	Asn	Ser	Glu	Arg	Asp	Pro	Thr	Ser	Glu	Tyr	Arg	Lys	Thr	Gly		370
	370				375					380							
gag	caa	gta	tgt	tgg	ttc	aag	tct	caa	gtg	gag	act	tct	tct	acc	tac		1200
Glu	Gln	Val	Cys	Trp	Phe	Lys	Ser	Gln	Val	Glu	Thr	Ser	Ser	Thr	Tyr		385
				390					395						400		
gga	ggt	atc	gtt	gct	ggg	tgt	ctc	act	ggt	gga	ctc	aac	ttt	caa	gtg		1248
Gly	Gly	Ile	Val	Ala	Gly	Cys	Leu	Thr	Gly	Gly	Leu	Asn	Phe	Gln	Val		

ES 2 531 391 T3

				405					410					415					
	gag	cat	cat	ttg	ttc	ccg	agg	atg	agc	agt	gct	tgg	tat	cct	ttc	atc			1296
	Glu	His	His	Leu	Phe	Pro	Arg	Met	Ser	Ser	Ala	Trp	Tyr	Pro	Phe	Ile			
				420					425					430					
	gcg	ccg	aag	ggt	aga	gag	att	tgt	aag	aag	cat	gga	ggt	aga	tac	gct			1344
	Ala	Pro	Lys	Val	Arg	Glu	Ile	Cys	Lys	Lys	His	Gly	Val	Arg	Tyr	Ala			
			435					440				445							
	tac	tat	ccg	tac	atc	tgg	cag	aac	ttg	cat	tct	acc	gtg	agt	tac	atg			1392
	Tyr	Tyr	Pro	Tyr	Ile	Trp	Gln	Asn	Leu	His	Ser	Thr	Val	Ser	Tyr	Met			
			450				455					460							
	cat	ggg	acg	gga	acg	gga	gct	aga	tgg	gag	ctt	cag	ccg	ttg	tct	gga			1440
	His	Gly	Thr	Gly	Thr	Gly	Ala	Arg	Trp	Glu	Leu	Gln	Pro	Leu	Ser	Gly			
						470					475				480				
	agg	gcg	tag																1449
	Arg	Ala																	

<210> 40
 <211> 482
 <212> PRT
 <213> *Thalassiosira pseudonana*
 <400> 40

5

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

10

ES 2 531 391 T3

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

ES 2 531 391 T3

Glu His His Leu Phe Pro Arg Met Ser Ser Ala Trp Tyr Pro Phe Ile
 420 425 430

Ala Pro Lys Val Arg Glu Ile Cys Lys Lys His Gly Val Arg Tyr Ala
 435 440 445

Tyr Tyr Pro Tyr Ile Trp Gln Asn Leu His Ser Thr Val Ser Tyr Met
 450 455 460

His Gly Thr Gly Thr Gly Ala Arg Trp Glu Leu Gln Pro Leu Ser Gly
 465 470 475 480

Arg Ala

<210> 41
 <211> 1512
 <212> ADN
 <213> *Thalassiosira pseudonana*

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(1512)
 <223> Delta-4-Desaturasa

<400> 41

atg tgc aac ggc aac ctc cca gca tcc acc gca cag ctc aag tcc acc	48
Met Cys Asn Gly Asn Leu Pro Ala Ser Thr Ala Gln Leu Lys Ser Thr	
1 5 10 15	
tcg aag ccc cag cag caa cat gag cat cgc acc atc tcc aag tcc gag	96
Ser Lys Pro Gln Gln Gln His Glu His Arg Thr Ile Ser Lys Ser Glu	
20 25 30	
ctc gcc caa cac aac acg ccc aaa tca gca tgg tgt gcc gtc cac tcc	144
Leu Ala Gln His Asn Thr Pro Lys Ser Ala Trp Cys Ala Val His Ser	
35 40 45	
act ccc gcc acc gac cca tcc cac tcc aac aac aaa caa cac gca cac	192
Thr Pro Ala Thr Asp Pro Ser His Ser Asn Asn Lys Gln His Ala His	
50 55 60	
cta gtc ctc gac att acc gac ttt gcg tcc cgc cat cca ggg gga gac	240
Leu Val Leu Asp Ile Thr Asp Phe Ala Ser Arg His Pro Gly Gly Asp	
65 70 75 80	
ctc atc ctc ctc gct tcc ggc aaa gac gcc tcg gtg ctg ttt gaa aca	288
Leu Ile Leu Leu Ala Ser Gly Lys Asp Ala Ser Val Leu Phe Glu Thr	
85 90 95	
tac cat cca cgt gga gtt ccg acg tct ctc att caa aag ctg cag att	336
Tyr His Pro Arg Gly Val Pro Thr Ser Leu Ile Gln Lys Leu Gln Ile	
100 105 110	

15

ES 2 531 391 T3

gga Gly	gtg Val	atg Met 115	gag Glu	gag Glu	gag Glu	gcg Ala	ttt Phe 120	cgg Arg	gat Asp	tcg Ser	ttt Phe 125	tac Tyr 125	agt Ser	tgg Trp	act Thr	384
gat Asp	tct Ser 130	gac Asp	ttt Phe	tat Tyr	act Thr	gtg Val 135	ttg Leu	aag Lys	agg Arg	agg Arg	gtt Val 140	gtg Val	gag Glu	cgg Arg	ttg Leu	432
gag Glu 145	gag Glu	agg Arg	ggg Gly	ttg Leu	gac Asp 150	agg Arg	agg Arg	gga Gly	tcg Ser	aaa Lys 155	gag Glu	att Ile	tgg Trp	atc Ile	aag Lys 160	480
gct Ala	ttg Leu	ttc Phe	ttg Leu	ttg Leu 165	gtt Val	gga Gly	ttt Phe	tgg Trp	tac Tyr 170	tgt Cys	ttg Leu	tac Tyr	aag Lys	atg Met 175	tat Tyr	528
act Thr	acg Thr	tcg Ser	gat Asp 180	atc Ile	gat Asp	cag Gln	tac Tyr	ggt Gly 185	att Ile	gcc Ala	att Ile	gcc Ala	tat Tyr 190	tct Ser	att Ile	576
gga Gly	atg Met	gga Gly 195	acc Thr	ttt Phe	gcg Ala	gca Ala	ttc Phe 200	atc Ile	ggc Gly	acg Thr	tgt Cys	att Ile 205	caa Gln	cac His	gat Asp	624
gga Gly	aat Asn 210	cac His	ggt Gly	gca Ala	ttc Phe	gct Ala 215	cag Gln	aac Asn	aag Lys	tta Leu	ctc Leu 220	aac Asn	aag Lys	ttg Leu	gct Ala	672
ggg Gly 225	tgg Trp	acg Thr	ttg Leu	gat Asp	atg Met 230	att Ile	ggt Gly	gcg Ala	agt Ser	gcg Ala 235	ttt Phe	acg Thr	tgg Trp	gag Glu	ctt Leu 240	720
cag Gln	cac His	atg Met	ctg Leu	ggg Gly 245	cat His	cat His	cca Pro	tat Tyr	acg Thr 250	aat Asn	gtg Val	ttg Leu	gat Asp	ggg Gly 255	gtg Val	768
gag Glu	gag Glu	gag Glu	agg Arg 260	aag Lys	gag Glu	agg Arg	ggg Gly	gag Glu 265	gat Asp	gtt Val	gct Ala	ttg Leu	gaa Glu 270	gaa Glu	aag Lys	816
gat Asp	cag Gln	gat Asp 275	ttt Phe	gaa Glu	gtt Val	gcc Ala	aca Thr 280	tcc Ser	gga Gly	cga Arg	tta Leu	tat Tyr 285	cat His	att Ile	gat Asp	864
gcc Ala	aat Asn 290	gta Val	cgt Arg	tat Tyr	ggt Gly	tcg Ser 295	gta Val	tgg Trp	aat Asn	gtc Val	atg Met 300	agg Arg	ttt Phe	tgg Trp	gct Ala	912
atg Met 305	aag Lys	gtc Val	att Ile	acg Thr	atg Met 310	gga Gly	tat Tyr	atg Met	atg Met	gga Gly 315	tta Leu	cca Pro	atc Ile	tac Tyr	ttt Phe 320	960
cat His	gga Gly	gta Val	ctg Leu	agg Arg 325	gga Gly	gtt Val	gga Gly	ttg Leu	ttt Phe 330	gtt Val	att Ile	ggg Gly	cat His	ttg Leu 335	gcg Ala	1008
tgt Cys	gga Gly	gag Glu	ttg Leu 340	ttg Leu	gcg Ala	acg Thr	atg Met	ttt Phe 345	att Ile	gtg Val	aat Asn	cac His	gtc Val 350	att Ile	gag Glu	1056
ggt Gly	gtg Val	agt Ser 355	tat Tyr	gga Gly	acg Thr	aag Lys	gat Asp 360	ttg Leu	gtt Val	ggt Gly	ggt Gly	gcg Ala 365	agt Ser	cat His	gta Val	1104
gat Asp	gag Glu 370	aag Lys	aag Lys	att Ile	gtc Val	aag Lys 375	cca Pro	acg Thr	act Thr	gta Val	ttg Leu 380	gga Gly	gat Asp	aca Thr	cca Pro	1152
atg	gta	aag	act	cgc	gag	gag	gca	ttg	aaa	agc	aac	agc	aat	aac	aac	1200

ES 2 531 391 T3

Met Val Lys Thr Arg Glu Glu Ala Leu Lys Ser Asn Ser Asn Asn Asn
 385 390 395 400
 aag aag aag gga gag aag aac tcg gta cca tcc gtt cca ttc aac gac 1248
 Lys Lys Lys Gly Glu Lys Asn Ser Val Pro Ser Val Pro Phe Asn Asp
 405 410 415
 tgg gca gca gtc caa tgc cag acc tcc gtg aat tgg tct cca ggc tca 1296
 Trp Ala Ala Val Gln Cys Gln Thr Ser Val Asn Trp Ser Pro Gly Ser
 420 425 430
 tgg ttc tgg aat cac ttt tct ggg gga ctc tct cat cag att gag cat 1344
 Trp Phe Trp Asn His Phe Ser Gly Gly Leu Ser His Gln Ile Glu His
 435 440 445
 cac ttg ttc ccc agc att tgt cat aca aac tac tgt cat atc cag gat 1392
 His Leu Phe Pro Ser Ile Cys His Thr Asn Tyr Cys His Ile Gln Asp
 450 455 460
 gtt gtg gag agt acg tgt gct gag tac gga gtt ccg tat cag agt gag 1440
 Val Val Glu Ser Thr Cys Ala Glu Tyr Gly Val Pro Tyr Gln Ser Glu
 465 470 475
 agt aat ttg ttt gtt gct tat gga aag atg att agt cat ttg aag ttt 1488
 Ser Asn Leu Phe Val Ala Tyr Gly Lys Met Ile Ser His Leu Lys Phe
 485 490 495
 ttg ggt aaa gcc aag tgt gag tag 1512
 Leu Gly Lys Ala Lys Cys Glu
 500

<210> 42
 <211> 503
 <212> PRT
 <213> *Thalassiosira pseudonana*

5

<400> 42

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

10

ES 2 531 391 T3

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

ES 2 531 391 T3

Met Val Lys Thr Arg Glu Glu Ala Leu Lys Ser Asn Ser Asn Asn Asn
 385 390 395 400

Lys Lys Lys Gly Glu Lys Asn Ser Val Pro Ser Val Pro Phe Asn Asp
 405 410 415

Trp Ala Ala Val Gln Cys Gln Thr Ser Val Asn Trp Ser Pro Gly Ser
 420 425 430

Trp Phe Trp Asn His Phe Ser Gly Gly Leu Ser His Gln Ile Glu His
 435 440 445

His Leu Phe Pro Ser Ile Cys His Thr Asn Tyr Cys His Ile Gln Asp
 450 455 460

Val Val Glu Ser Thr Cys Ala Glu Tyr Gly Val Pro Tyr Gln Ser Glu
 465 470 475 480

Ser Asn Leu Phe Val Ala Tyr Gly Lys Met Ile Ser His Leu Lys Phe
 485 490 495

Leu Gly Lys Ala Lys Cys Glu
 500

<210> 43
 <211> 1305
 <212> ADN
 <213> *Thalassiosira pseudonana*

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(1305)
 <223> Delta-12-Desaturasa

<400> 43

atg gga aag gga gga aga tca gta acc cgc gct caa aca gca gaa aag	48
Met Gly Lys Gly Gly Arg Ser Val Thr Arg Ala Gln Thr Ala Glu Lys	
1 5 10 15	
tca gca cac acc atc caa acc ttc acc gac ggc cga tgg gtc tcc ccc	96
Ser Ala His Thr Ile Gln Thr Phe Thr Asp Gly Arg Trp Val Ser Pro	
20 25 30	
tac aac ccc ctc gca aaa gat gca cct gaa ctc ccc tcc aag ggt gaa	144
Tyr Asn Pro Leu Ala Lys Asp Ala Pro Glu Leu Pro Ser Lys Gly Glu	
35 40 45	
atc aag gcg gtc atc ccc aaa gag tgc ttc gaa cga agc tac ctc cac	192
Ile Lys Ala Val Ile Pro Lys Glu Cys Phe Glu Arg Ser Tyr Leu His	

15

ES 2 531 391 T3

50			55			60										
tcc Ser 65	atg Met	tac Tyr	ttc Phe	gtc Val	ctc Leu 70	cgt Arg	gac Asp	acc Thr	gtc Val 75	atg Met 75	gcc Ala	gtg Val	gcc Ala	tgc Cys	gcc Ala 80	240
tac Tyr	atc Ile	gcc Ala	cac His	tca Ser 85	acg Thr	ctc Leu	tcc Ser	acc Thr	gat Asp 90	att Ile	ccc Pro	tcc Ser	gag Glu	tta Leu 95	ctg Leu	288
agc Ser	gtg Val	gac Asp	gca Ala 100	ctc Leu	aaa Lys	tgg Trp	ttc Phe	ctc Leu 105	gga Gly	tgg Trp	aac Asn	acc Thr	tac Tyr 110	gcc Ala	ttt Phe	336
tgg Trp	atg Met	ggg Gly 115	tgc Cys	att Ile	ctc Leu	acc Thr	gga Gly 120	cac His	tgg Trp	gtc Val	cta Leu	gcc Ala 125	cat His	gaa Glu	tgt Cys	384
gga Gly	cat His 130	ggt Gly	gca Ala	ttc Phe	tct Ser	ccc Pro 135	tct Ser	cag Gln	acg Thr	ttt Phe	aat Asn 140	gac Asp	ttt Phe	tgg Trp	ggg Gly	432
ttc Phe 145	att Ile	atg Met	cat His	cag Gln	gcg Ala 150	gtg Val	ttg Leu	gtt Val	ccg Pro	tat Tyr 155	ttc Phe	gcc Ala	tgg Trp	cag Gln	tac Tyr 160	480
tct Ser	cat His	gcg Ala	aag Lys	cat His 165	cat His	cga Arg	cgt Arg	acc Thr	aac Asn 170	aac Asn	att Ile	atg Met	gat Asp	ggg Gly 175	gag Glu	528
agc Ser	cat His	gtg Val	ccc Pro 180	aat Asn	atc Ile	gcc Ala	aag Lys	gaa Glu 185	atg Met	gga Gly	ttg Leu	aac Asn	gag Glu 190	aag Lys	aat Asn	576
gag Glu	cgc Arg	agt Ser 195	gga Gly	gga Gly	tat Tyr	gcc Ala	gcc Ala 200	att Ile	cat His	gag Glu	gct Ala	att Ile 205	gga Gly	gat Asp	gga Gly	624
ccc Pro	ttt Phe 210	gcg Ala	atg Met	ttt Phe	caa Gln	atc Ile 215	ttt Phe	gct Ala	cac His	ttg Leu	gtg Val 220	atc Ile	ggg Gly	tgg Trp	cct Pro	672
att Ile 225	tac Tyr	ttg Leu	atg Met	gga Gly	ttt Phe 230	gct Ala	tcc Ser	act Thr	gga Gly	cgt Arg 235	ctc Leu	ggt Gly	cag Gln	gat Asp	ggg Gly 240	720
aag Lys	gaa Glu	ctt Leu	cag Gln	gct Ala 245	gga Gly	gag Glu	atc Ile	atc Ile	gac Asp 250	cat His	tac Tyr	cgt Arg	cct Pro	tgg Trp 255	agt Ser	768
aag Lys	atg Met	ttc Phe	ccc Pro 260	acc Thr	aag Lys	ttg Leu	cga Arg	ttc Phe 265	aaa Lys	att Ile	gct Ala	ctt Leu	tcg Ser 270	aca Thr	ctt Leu	816
gga Gly	gtg Val	att Ile 275	gcc Ala	gcc Ala	tgg Trp	gtt Val	ggg Gly 280	ttg Leu	tac Tyr	ttt Phe	gct Ala	gca Ala 285	caa Gln	gag Glu	tat Tyr	864
gga Gly	gtc Val 290	ttg Leu	ccc Pro	gtg Val	gtt Val	ctt Leu 295	tgg Trp	tac Tyr	att Ile	ggc Gly	cca Pro 300	ctc Leu	atg Met	tgg Trp	aat Asn	912
cag Gln 305	gcg Ala	tgg Trp	ctt Leu	gtg Val	ctc Leu 310	tac Tyr	act Thr	tgg Trp	ctt Leu	cag Gln 315	cac His	aat Asn	gat Asp	ccc Pro	tcc Ser 320	960
gtg Val	cct Pro	caa Gln	tat Tyr	gga Gly 325	agt Ser	gac Asp	gaa Glu	tgg Trp	aca Thr 330	tgg Trp	gtc Val	aag Lys	gga Gly	gct Ala 335	ttg Leu	1008

ES 2 531 391 T3

tcg acg att gat cgc ccg tat ggt atc ttt gac ttc ttc cat cac aag 1056
 Ser Thr Ile Asp Arg Pro Tyr Gly Ile Phe Asp Phe Phe His His Lys
 340 345 350

att gga agc act cac gta gct cat cat ttg ttc cac gag atg cca ttt 1104
 Ile Gly Ser Thr His Val Ala His His Leu Phe His Glu Met Pro Phe
 355 360 365

tac aag gcg gat gtg gct act gcg tcg atc aag ggt ttc ttg gag ccg 1152
 Tyr Lys Ala Asp Val Ala Thr Ala Ser Ile Lys Gly Phe Leu Glu Pro
 370 375 380

aag gga ctt tac aac tat gat cca acg cct tgg tat gtg gcc atg tgg 1200
 Lys Gly Leu Tyr Asn Tyr Asp Pro Thr Pro Trp Tyr Val Ala Met Trp
 385 390 395 400

agg gtg gcc aag act tgt cat tat att gag gat gtg gat gga gtt cag 1248
 Arg Val Ala Lys Thr Cys His Tyr Ile Glu Asp Val Asp Gly Val Gln
 405 410 415

tat tat aag agt ttg gag gat gtg cct ttg aag aag gat gcc aag aag 1296
 Tyr Tyr Lys Ser Leu Glu Asp Val Pro Leu Lys Lys Asp Ala Lys Lys
 420 425 430 435

tct gat tag 1305
 Ser Asp

<210> 44
 <211> 434
 <212> PRT
 <213> *Thalassiosira pseudonana*

5

<400> 44

Met Gly Lys Gly Gly Arg Ser Val Thr Arg Ala Gln Thr Ala Glu Lys
 1 5 10 15

Ser Ala His Thr Ile Gln Thr Phe Thr Asp Gly Arg Trp Val Ser Pro
 20 25 30

Tyr Asn Pro Leu Ala Lys Asp Ala Pro Glu Leu Pro Ser Lys Gly Glu
 35 40 45

Ile Lys Ala Val Ile Pro Lys Glu Cys Phe Glu Arg Ser Tyr Leu His
 50 55 60

Ser Met Tyr Phe Val Leu Arg Asp Thr Val Met Ala Val Ala Cys Ala
 65 70 75 80

Tyr Ile Ala His Ser Thr Leu Ser Thr Asp Ile Pro Ser Glu Leu Leu
 85 90 95

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

10

ES 2 531 391 T3

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

ES 2 531 391 T3

Lys Gly Leu Tyr Asn Tyr Asp Pro Thr Pro Trp Tyr Val Ala Met Trp
385 390 395 400

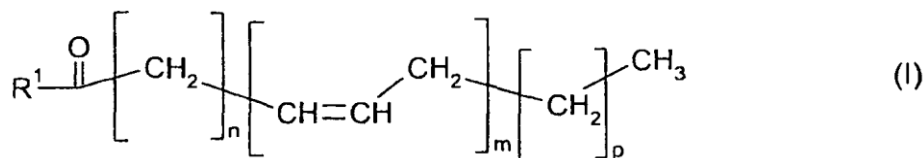
Arg Val Ala Lys Thr Cys His Tyr Ile Glu Asp Val Asp Gly Val Gln
405 410 415

Tyr Tyr Lys Ser Leu Glu Asp Val Pro Leu Lys Lys Asp Ala Lys Lys
420 425 430

Ser Asp

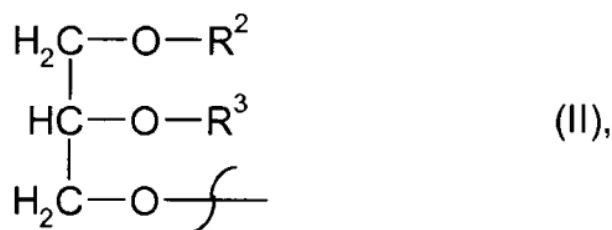
REIVINDICACIONES

1. Polinucleótido que comprende una secuencia de ácido nucleico que está seleccionada del grupo compuesto de:
 - (a) secuencia de ácido nucleico como se muestra en la SEC ID N°: 9;
 - (b) secuencia de ácido nucleico que codifica un polipéptido que presenta una secuencia de aminoácidos como se muestra en la SEC ID N°: 10;
 - (c) secuencia de ácido nucleico que codifica un polipéptido que tiene una identidad a lo largo de toda la longitud de al menos el 85 % con un polipéptido que es codificado por las secuencias de ácido nucleico de (a) o (b), presentando el polipéptido actividad desaturasa; y
 - (d) secuencia de ácido nucleico para un fragmento con al menos 500 nucleótidos sucesivos de un ácido nucleico de (a), (b) o (c), codificando el fragmento un polipéptido con una actividad desaturasa.
2. Polinucleótido de acuerdo con la reivindicación 1, estando compuesto el polinucleótido de ARN o ADN.
3. Vector que comprende el polinucleótido de acuerdo con las reivindicaciones 1 o 2.
4. Vector de acuerdo con la reivindicación 3, siendo el vector un vector de expresión.
5. Vector de acuerdo con las reivindicaciones 3 o 4, comprendiendo el vector al menos otro polinucleótido que codifica otra enzima que está incluida en la biosíntesis de lípidos o ácidos grasos.
6. Célula huésped que comprende el polinucleótido heterólogo de acuerdo con las reivindicaciones 1 o 2 o el vector de acuerdo con una de las reivindicaciones 3 a 5.
7. Célula huésped de acuerdo con la reivindicación 6, comprendiendo la célula huésped adicionalmente al menos otra enzima que está incluida en la biosíntesis de lípidos o ácidos grasos.
8. Vector de acuerdo con la reivindicación 5 o célula huésped de acuerdo con la reivindicación 7, estando seleccionada la enzima del grupo compuesto por: acil-CoA-deshidrogenasa(s), acil-ACP[= acyl carrier protein]-desaturasa(s), acil-ACP-tioesterasa(s), ácido graso-acil-transferasa(s), acil-CoA:lisofosfolípido-aciltransferasa(s), ácido graso-sintasa(s), ácido graso-hidroxilasa(s), acetil-coenzima A-carboxilasa(s), acil-coenzima A-oxidasa(s), ácido graso-desaturasa(s), ácido graso-acetilenasa(s), lipoxigenasa(s), triacilglicerol-lipasa(s), óxido de aleno-sintasa(s), hidroperóxido-liasa(s), ácido graso-elongasa(s), Δ4-desaturasa(s), Δ5-desaturasa(s), Δ6-desaturasa(s), Δ8-desaturasa(s), Δ9-desaturasa(s), Δ12-desaturasa(s), Δ5-elongasa(s), Δ6-elongasa(s) y Δ9-elongasa(s).
9. Procedimiento para la preparación de un polipéptido con actividad desaturasa que comprende las etapas:
 - (a) expresión de un polinucleótido de acuerdo con las reivindicaciones 1 o 2 en una célula huésped; y
 - (b) obtención del polipéptido, que es codificado por el polinucleótido, de la célula huésped.
10. Polipéptido que es codificado por el polinucleótido de acuerdo con las reivindicaciones 1 o 2 o que se puede obtener mediante el procedimiento de acuerdo con la reivindicación 9.
11. Anticuerpo que reconoce específicamente el polipéptido de acuerdo con la reivindicación 10.
12. Organismo transgénico no humano que comprende el polinucleótido de acuerdo con las reivindicaciones 1 o 2, el vector de acuerdo con una de las reivindicaciones 3 a 5 o la célula huésped de acuerdo con la reivindicación 8.
13. Organismo transgénico no humano de acuerdo con la reivindicación 12, siendo el organismos un animal, una planta o un microorganismo pluricelular.
14. Procedimiento para la preparación de una sustancia que presenta la estructura que se muestra en la siguiente fórmula general I

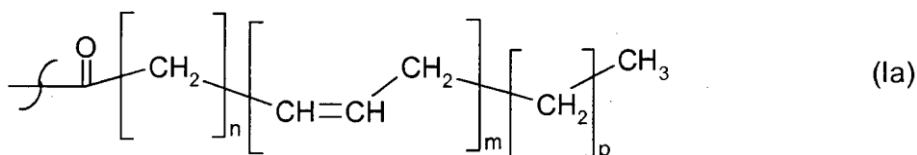


siendo las variables y los sustituyentes los siguientes

R¹= hidroxilo, coenzima A (tioéster), lisofosfatidilcolina, lisofosfatidiletanolamina, lisofosfatidilglicerol, lisodifosfatidilglicerol, lisofosfatidilserina, lisofosfatidilinositol, esfingobase o un radical de fórmula II



- 5 $\text{R}^2 =$ hidrógeno, lisofosfatidilcolina, lisofosfatidiletanolamina, lisofosfatidilglicerol, lisodifosfatidilglicerol, lisofosfatidilserina, lisofosfatidilinositol o alquil- $\text{C}_2\text{-C}_{24}$ -carbonilo saturado o insaturado, $\text{R}^3 =$ hidrógeno, alquil- $\text{C}_2\text{-C}_{24}$ -carbonilo saturado o insaturado o R^2 y R^3 son independientemente entre sí un radical de Fórmula la:



- 10 $n = 2, 3, 4, 5, 6, 7$ o 9 , $m = 2, 3, 4, 5$ o 6 y $p = 0$ o 3 ;
y
comprendiendo el procedimiento el cultivo de (i) una célula huésped de acuerdo con una de las reivindicaciones 3 a 5 o (ii) de un organismo transgénico no humano de acuerdo con las reivindicaciones 12 o 13 en condiciones que permiten la biosíntesis de la sustancia.
- 15 15. Procedimiento para la preparación de una composición de aceites, lípidos o ácidos grasos que comprende las etapas del procedimiento de acuerdo con la reivindicación 14 y la etapa adicional de la formulación de la sustancia como composición de aceites, lípidos o ácidos grasos.
16. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 15, formulándose adicionalmente la composición de aceites, lípidos o ácidos grasos hasta dar un fármaco, hasta dar un producto cosmético, hasta dar un alimento, hasta dar un pienso, preferentemente pienso para peces o hasta dar un complemento alimenticio.
- 20 17. Uso del polinucleótido de acuerdo con las reivindicaciones 1 o 2, del vector de acuerdo con una de las reivindicaciones 3 a 5, de la célula huésped de acuerdo con las reivindicaciones 6 o 7, del vector o de la célula huésped de acuerdo con la reivindicación 8, del polipéptido de acuerdo con la reivindicación 10 o del organismo transgénico no humano de acuerdo con las reivindicaciones 12 o 13 para la preparación de una composición de aceites, lípidos o ácidos grasos.
- 25 18. Uso de acuerdo con la reivindicación 17, habiéndose de emplear la composición de aceites, lípidos o ácidos grasos como fármaco, producto cosmético, alimento, pienso, preferentemente pienso para peces o complemento alimenticio.

ES 2 531 391 T3

Fig. 1

```

                *           20           *           40           *
d5-elo-Olu : -----MAQF PLVSLCAFAVYGYATYAYAFEW SHART PGG LANVDAQRWIGDL : 47
d5-elo-Ota : -----MSASGALLPAIAFAAYAYATYAYAFEW SHAN---GIDNVDAREWIGAL : 45
d5-elo-Tps : MCSSPPSQSKTT SLLARYTTAALLLLLTLTTCWCF AF PAATAT PGLTAEMHSYKVP : 55
d6-elo-Olu : -----MLRHYWKAWDSII SKVVF SCADWLGWELDPLSPPT SHLPAITSPT PL : 47
d6-elo-Ota : M SGLRAPNFLHREFWTKWDYAI SKVFTCADSFQWDIGPVSSSTAHLPAIESPT PL : 55
d6-elo-Tps : -----MDAYNAAMDKIGA AITDWSDDPGKFRADREDWWL : 34

                60           *           80           *           100           *
d5-elo-Olu : SFALPACATTAYLME CLVGPVRMAKR-EAFDPKGLMLAYAYQTA FNVCVLGMFI : 101
d5-elo-Ota : SLRLPAIATMYLLE CLVGPRLMAKR-EAFDPKGFMLAYAYQTA FNVVVLGMFA : 99
d5-elo-Tps : LGLTVFYLLSLPSLKYVTDNYLAKKYDMKSLLESMVLYVAQVLLNGWTVYAI V : 110
d6-elo-Olu : ITSLLVYLVTVVVSRYVLSATNTKIWDPTWLKASVICHAFLLILLSLYMCIGCI : 102
d6-elo-Ota : VTSLLFYLVTVFLWYGRLTRSSDKKIREPTWLRRFIICHAFLLIVLSLYMCLGCV : 110
d6-elo-Tps : CDFRSAITIALIYIAFVILGSAVMQSLPAMPDPYPIKFLYVNSQIFLCAYMTVEAG : 89

                120           *           140           *           160
d5-elo-Olu : REIVTLKQPTWGS-KMPWSDKRSEFNILLGPHANNKYLELLEAFVDEARKKTN : 155
d5-elo-Ota : REISGLQPVWGS-TMPWSDRKSFKILLGLLHANNQYLELLELVFVYARKKTK : 153
d5-elo-Tps : DAVMNRDHPFFIGS-RSLVGAALHSGSSYAVVHCDKYLEFFDHYFVILRGKMD : 164
d6-elo-Olu : VEAYKSGYKLWGN-KFNVNEKQ---LAFYVLEFVSKIYEFVDFIIFLKRNLR : 153
d6-elo-Ota : AQAYQNGYTLWGN-EFKATETQ---LALYVLEFVSKIYEFVDIYIIFLKNLNR : 161
d6-elo-Tps : FLAYRNGYTVMPCNHENVNDPP---VANLLEFVLSKVVDFDIFVILGKKWR : 141

                *           180           *           200           *           220
d5-elo-Olu : ES SL SH IV Y HH AL TI WA ML LV CH LM AT ND CV DA FG AA CN SP IT IV LV SS Y L AA LG : 210
d5-elo-Ota : ES SL SH IV Y HH AL TI WA ML LV CH LM AT ND CI DA FG AA CN SP IT IV LV SS Y L AA LG : 208
d5-elo-Tps : VS SL SH IV Y HH TT AW AM L AL RF SP --- GD IF GA LL NS IT IV LV SS Y L AA LL K : 216
d6-elo-Olu : V S SL SH IV Y HH ST SF I MI ARR AP --- GD IF SA AL NS IT IV LV SS Y L AA LI : 205
d6-elo-Ota : V R SL SH IV Y HH ST SF I MI ARR AP --- GD IF SA AL NS IT IV LV SS Y L AA LI ST LI : 213
d6-elo-Tps : ES SL SH IV Y HH TT FL FL LN AN VL YD --- GD IF LT ILL NG IT IV LV SS Y L AA CM HT : 193

                *           240           *           260           *
d5-elo-Olu : -----VR--CPDK-RYTHQAQMLGQFVIVFVHAVFVLREKHCP----- : 244
d5-elo-Ota : -----IR--CPDK-RYTHQAQMLGQFVIVFAHAVFVLRQKHCP----- : 242
d5-elo-Tps : VS-----CPDK-RYTHQAQMLGQFVSVVYTGCTGYTHYHTKHGADETQPSLG : 263
d6-elo-Olu : GKNNDKRVKYTNGRHHIQMGMGQFLCNLLQAVYCAFYSEYP----- : 247
d6-elo-Ota : GKEDPKRSNYLNGRHHIQMGMGQFFFNVLQALYCAFSTYP----- : 255
d6-elo-Tps : KDSKTGKSLPTWKSSTLAFQFQFETIMMSQATYLVFHGCDKVS----- : 237

                280           *           300           *           320           *
d5-elo-Olu : --VSLPWAQMEVVTANGLVGGNGLKAYA AAKPSGKSSTRVSAAK----PATRRTR : 293
d5-elo-Ota : --VTLPWAQMEVVTNGLVGGNGLKAYS NKS SRGDGASSVKPAETTRAPSVRRTR : 295
d5-elo-Tps : TYFCCGVQVFELVSLFVSTLAKRSYSKKNKSGGKDSKRNDGDNEDQCHKAM : 318
d6-elo-Olu : --KFLSKILLFYVLSLALHGHETYSKHIA TAKLRKKHTKKA----- : 287
d6-elo-Ota : --KFLSKILLVYVMSLGLHGHETYSKHIA AAKLQKKQ----- : 292
d6-elo-Tps : --LRITIVYFVYVLSLFFHGAEEVQSYMAPKKKSA----- : 272

                340           *           360           *
d5-elo-Olu : SRKID----- : 298
d5-elo-Ota : SRKID----- : 300
d5-elo-Tps : KDISEGAKEVVGHAAKDAGKLVATASKAVRKRKGT RV TGAM : 358
d6-elo-Olu : ----- : -
d6-elo-Ota : ----- : -
d6-elo-Tps : ----- : -

```

Fig. 2

```

*      20      *      40      *
d4-des-Olu : ----- : -
d4-des-Ota : MYLGRGRLESGTTRGMMRTHARRPSTTNPFCARSVRKTTTERSLARVRRSTSEKG : 55
d4-des-Tps : -----MCNGNLPAS : 9

60      *      80      *      100      *
d4-des-Olu : -----MMSLEARREARLRPRPDVAIPGMEDPWNDEKWKQVKWTVFRD : 42
d4-des-Ota : SALVLERESEREKEEGGKARAEGTRFQRPDVAIPGGADPWNDEKWTKTWTVFRD : 110
d4-des-Tps : TAQLKSTSKPQQQHEHRTISKSELAQHNTPKSIPWCAVHSTPATDPSHSNNKQHAH : 64

120      *      140      *      160
d4-des-Olu : VAYDDEGDFEIRHDCENWLNINAIICRCIAIMDSYHLRPEVATARFRMIPKLEGFPP : 97
d4-des-Ota : VAYDDEGDFEIRHDCENWLNINAVCRICAIIESEYHLRPEVATARFRMIPKLEDFPP : 165
d4-des-Tps : IVLEEDTDSASRHEGCDELLLAERKDAIVIEEETMHPKGVPEISLIQKIQIGVMBE : 117

*      180      *      200      *      220
d4-des-Olu : VDAVAKSPRENDSPLEANNRNRYRBEIEEIEEKIKK--HMGGDHATITILSIAAF : 150
d4-des-Ota : VEAVPKSPRENDSPLEANNRNRYRBEIEEIEEKIKK--HQGGDHGDGDDSGERRL : 210
d4-des-Tps : EAFRDSFYSWTDSDFETVIEKREYVERIEEIEEIKLDRRGSIEIWKALFLLVGEIWC : 171

*      240      *      260      *
d4-des-Olu : AYG--VYATIPGFLSGCLLGA----GAWHGLTIQPCANHCAMSPSPAMVGLLEL : 199
d4-des-Ota : LLMP-CTYSPGVPFRLPPVSR---GRGIVSRFRICANHCAMSPSPAMVGLLEL : 269
d4-des-Tps : LYKMYTSDIDQYGIATAYSIGMGTFAAFVGTCTIQDGNHCIFAQNKLDNRFACW : 226

280      *      300      *      320      *
d4-des-Olu : INDIHFCGSLMRYRHQVSEHIIHC-----DNAMIQDYVTA : 235
d4-des-Ota : INDIHFCGSLMRYRHQVSEHIIHC-----DNAMIQDYVTA : 305
d4-des-Tps : ILLDIHFCGSAFTWELQIMIGHHPYTNVLDGVEEERKERGEDVALEEKDQPEFAIS : 281

340      *      360      *      380
d4-des-Olu : MPDLRFDRRPKAWYHREQHRYMFLAFPILOAFQVGDIVGFFTRDTEGAKLHGA : 290
d4-des-Ota : MPDLRFDRRPKSWYHREQQRYMFLAFPILOAFQVGDIAAIFTRDTEGAKLHGA : 360
d4-des-Tps : GRLYHIENVRYGSVNVNMRREIAMKVIITGYIMGLPIYFHGMLRGVGLFVIGLIL : 336

*      400      *      420      *      440
d4-des-Olu : TTWEIADVVGKFFHFGLAAP----LMSHAASAVVAGIVGFACQGVLACTF : 340
d4-des-Ota : TTWEIADVVGKIVHFGLLGP----LMNHAVSSVVLGIVGFACQGVLACTF : 410
d4-des-Tps : CGELIADVFNHVIETSYGTKDLVGGASIVDEKKEVKPTTVIGDTPVKTREE : 391

*      460      *      480      *
d4-des-Olu : AVSHV--VPEARLPEDTGGAEAWERDVGQQLVTSADMG--GKIGVFFIIGLNLOV : 391
d4-des-Ota : AVSHV--VAEARIPEDTGGAEAWERDVGQQLVTSADMG--GKIGVFFIIGLNLOV : 461
d4-des-Tps : ALKSISNNNKKVNGEKISVSPVFNDAAVVQQLVTSADMGSPGSWFVHHSGLSHQI : 446

500      *      520      *      540      *
d4-des-Olu : BHHLLPAGFVHYPAIAKIVAEAAKMGSEYSNYRTIPGIVAFWKFVLDVCTAE : 446
d4-des-Ota : BHHLLPAGFVHYPAIAKIVKEEAALKMSEYASNYRTIPGIVQFWRFVLDVCTAE : 516
d4-des-Tps : BHHLLPSECHTINCHIQDVAVESTCEYGVVYQSESNIEVAISGKMISHVLDVCTAE : 501

560      *
d4-des-Olu : QIDVLLPKFANPQLSPAIN : 466
d4-des-Ota : QIGEVPLKIPNPQLAPKLA : 536
d4-des-Tps : CE----- : 503

```

Fig. 3

```

                *           20           *           40           *
d5-des-Olu : -----MPSAARSRASKRANATTDVATTAPEATLDPT : 31
d5-des-Ota : ----- : -
d5-des-Olu : MTTVAEIVDDDARRAGKGATRRRRRATTRVARDDAREATYTAAEVARHAR : 50
d5-des-Tps : -----MPPNAEVKNLRSRSIPTKKSSSSSSSTANDDPATQSTSPVNRTLKS : 45

                60           *           80           *           100
d5-des-Olu : R--AYTRYRGVVYDVTEFQHRHPGGAQLLSLCVGRDATILIESHHLRPEV : 79
d5-des-Ota : ----- : -
d5-des-Olu : ADDCWVIVRGGVYDVTRFVPRHPGG-NMIYVKAGGECTALFDSYHPERAR : 99
d5-des-Tps : LNGNEIAIDGVIYDIDGFV--HPGG-EVISFFGGNDVTVQYKMIHP---Y : 89

                *           120           *           140           *
d5-des-Olu : VRKYMKTLPVVEGAAGAFGKEETF PKPLDSAVYRAIQRRVRDEVVEPMKA : 129
d5-des-Ota : ----- : -
d5-des-Olu : ATLEKYRIGALRRDAGEREDEVDVEYLKDDLREGEFYADCKAGAAKYFKD : 149
d5-des-Tps : HNSKHLEKMRVAGKIADYSTYKFDTPFEREIKSEVFKIVRRGREFGTG : 139

                160           *           180           *           200
d5-des-Olu : KSGR-----EAHGRGGCVVDAGVVVLT FVAAMVAYWRAPSALTGCALGLA : 174
d5-des-Ota : ----- : -
d5-des-Olu : NKLDPRVHWEMYAKTLVILTGVVGHYGSFFAPSASF AAALALAVLHGTC : 199
d5-des-Tps : YFLR-----AFFYIALFFTMQYTFATCTTFTTYDHWYQSGVFIAIVFGIS : 184

                *           220           *           240           *
d5-des-Olu : GYWSGTGLQHTANHGGLAKSGFWNQFWGWLGN DVAIGKSSVEWRYHHMVS : 224
d5-des-Ota : -----MVS : 3
d5-des-Olu : KAEVGVSIQHDANHGAYGNN---RTWLHAMQLTLD AVGASSFMWKQQHVA : 246
d5-des-Tps : QAFIGLNVQHDANHGAASKR---PWVNDLLGSGADL IGGCKWNWLAQHWT : 231

                260           *           280           *           300
d5-des-Olu : -[H][S][C][N]DADL[D]R[V]Y[T]A[L]P[L]L[R]L[D]P[S]----QELK[W][E][H][R]Y[D]A[F]P[A]P[H]W[P] : 269
d5-des-Ota : -[H][S][C][N]DADL[D]R[V]Y[T]A[L]P[L]L[R]L[D]P[S]----QELK[W][E][H][R]Y[D]A[F]P[A]P[H]W[P] : 48
d5-des-Olu : G[H][A]T[V]E[G]I[D]P[D]I[R]C[S]E[K]D[V]R[R]V[N]E[H]---Q[P]H[E]P[Y]H[R]V[Q]H[V]L[A]M[Y]G : 293
d5-des-Tps : -[H][A]T[V]H[A]D[K]D[P]S[F]S[S]E[P]V[F]N[F]N[D]Y[P]I[G]H[P]K[R]K[W][H]R[F]Q[G]L[F]L[L]S : 280

                *           320           *           340           *
d5-des-Olu : FLWLAAQVGD AQNILIDRAS PGVEYKGLMKNEI ALYLLG-----KVLH[R] : 313
d5-des-Ota : FLWLAAQVGD AQNILIDRAS PGVAYKGLMANEVA LYVLG-----KVLH[R] : 92
d5-des-Olu : LLSEFKSCEVDDFN AFFSGRIGWVKVMKFTRGE AVAFWGS-----KLAWA[R] : 338
d5-des-Tps : FYWVSMVFEN---PQVIDLRHAGAAYVGFQME NDFIVKRRKYAMALRAMY[R] : 327

```

```

          360          *          380          *          400
d5-des-Olu : GLLLGVPAYIHGLSN-VVVPFLAYGAFGSWVWCWFITVSNLEALTPMNL : 362
d5-des-Ota : GLLLGVPAYLHGLSN-ADVVPFLAYGAFGSWVWCWFITVSNLEALTPVNL : 141
d5-des-Olu : YYLYLPAKYSHRSIGQLLALWTVTEFVTGAFVLAEMRQVAHVVGDVHFFRL : 388
d5-des-Tps : YFNIYCPVNNGLTWSTVGIILLMGVSESLVLSGLVIVSNLFENSERDPT : 377

          *          420          *          440          *
d5-des-Olu : SKSTKN----DAGAWQTEVTSASMGN--SEWSEFSCENLQVEHIDPPDPCA : 406
d5-des-Ota : NKSTKN----DAGAWQTEVTSASMGN--AFWSEFSCENLQVEHIDPPDPCA : 185
d5-des-Olu : NEKNQLN--KGMGEADIMTSADRAHGSKFWTHESECTNYQVVIHPPDPCA : 436
d5-des-Tps : SEYRKTGEQVCFKSDVWELLSSTVGG--IVAGCLVSEVNFQVEHIDPPDPCA : 425

          460          *          480          *          500
d5-des-Olu : HNLVPRKQVPIIKDECKNACTAYTGYGGYFGLIPITRDMFSYTHKMHQRP : 456
d5-des-Ota : HNLVPRKQVPIIKDECAKACVRYTGYGGYTGLIPITRDMFSYTHKMCRTAK : 235
d5-des-Olu : HVHFLALADILKAAADTHGSLHTQIIPTFWSAIPRAH---ESHILARVCHRAY : 483
d5-des-Tps : SAWVDFLAKVAREICKVHCVRVAYVPIYIQNHST---VSYVHGTETGAR : 472

          *
d5-des-Olu : KAM----- : 459
d5-des-Ota : LA----- : 237
d5-des-Olu : VPSLRTVG-- : 491
d5-des-Tps : WELQPLSGRA : 482

```

Fig. 4

```

                *           20           *           40           *
d6-des-Olu : MCVETTEGTSRTMANERTSSSSSLSEGGTPTVTVGMGSEDAGKKTRNASV : 50
d6-des-Ota : MCVETEN-----N-DCIPTVEIAFDGE---RERAEANV : 29
d6-des-Tps : -----MGKCGDAAAATKRSG-----ALKLAE : 21

                60           *           80           *           100
d6-des-Olu : TAWTKELSEPHALAKSEFERRVYTIIEGVEYDVAHDF--KHHPGGSVIYYMLSNTG : 99
d6-des-Ota : KLSAEKMSPAALAKSEFARRVYVIEGVEYDVAHDF--KHHPGCTVIFYALSNTG : 78
d6-des-Tps : KPQKYTWSEVKKHISEPDDAVYVHONKVYDMSNNYDHPGCG--AVVFTHAGD : 69

                *           120          *           140          *
d6-des-Olu : ADATEAFKEFHYSSEKKARSEALAALPHKSEVDAATREPIEDEAMLKDFAQWR : 149
d6-des-Ota : ADATEAFKEFHRSSEKKARSEALAALPSRPAKTAK--VDDAEMLQDFAKWRK : 126
d6-des-Tps : DMTDIFAAFHAQGSSEQAMMSSEKEYIGDLISESVEHKDQRQLDFEKGYRDLRA : 119

                160          *           180          *           200
d6-des-Olu : KELEREGSEFKPSPAHVAYREAE LAAMFALGTAEMHARWHVASSEIVYSCFF : 199
d6-des-Ota : ELERDGFSEFKPSPAHVAYREAE LAAMYALGTYLYARYVVSSEVYACFFG : 176
d6-des-Tps : KLVMMGMSSEKSSKMYAYKCSFNMCMLVAVAMSEYYSDSLAMHISEGALLLG : 169

                *           220          *           240          *
d6-des-Olu : G--ARCEVYQSEEGGNSSTGNIWSEDKRISQAFAAGFGLASSEGDMNNMSEINK : 247
d6-des-Ota : ---ARCCMVQSEEGGSSSTGNIWSEDKRISQAFTAGFGLAGSEGDMNNSMSEINK : 223
d6-des-Tps : LEWQQCEVFAHDFLEHSEVFKQRKSEGDLVGISEWGDLMQGFSEMQWSEKKNSEING : 219

                260          *           280          *           300
d6-des-Olu : HHEATE-----QKVRHSEMDSEHTTETPAVSEFNSAVSEENSEPRG-----SESK : 284
d6-des-Ota : HHEATE-----QKVRHSEMDSEHTTETPAVSEFNTAVSEDNSEPRG-----SESK : 260
d6-des-Tps : HHEAVENLHNSSLDSQDGESEDESEEMSELESESLKQASESFRSEINKGKDSTSEVSE : 269

                *           320          *           340          *
d6-des-Olu : LWFSEFLQAMNVEVPTSGMVSEFSEWMEFVLHPRNAT-----SERRKSFE : 322
d6-des-Ota : YWFSEFLQAMNVEVPTSGLVSEFSEWMEFVLHPSKAT-----SEKGGKYE : 298
d6-des-Tps : YAFSEFLQAMNVEVPTSGMVSEFSEWMEFVLHPSKAT-----SEKGGKYE : 319

                360          *           380          *           400
d6-des-Olu : EAAMFSAHVIRSEAVIKAVVSEVSESWIASYGLSEAAATMWASSECCSEFAHSES : 369
d6-des-Ota : ELVWMLAAHVIRSEAVIKAVVSEVSESLAMQSYGLSEALATSWVSECCSEFAHSES : 345
d6-des-Tps : PLLEKLGITSEHYSEWMEFVLSSSESEGRWSELPYSEIMYSEFTATCSSELESEALVSEG : 369

                *           420          *           440          *
d6-des-Olu : TSETHLSDVVPSEDKHLSSEVRYAVDHEITSEINP-----NNSVSEMLMSEYENCSEY : 415
d6-des-Ota : TSETHLSDVVPSEADEHLSSEVRYAVDHEITSEIDP-----SQGWSEMLMSEYENCSEY : 391
d6-des-Tps : LSENGSSEVYDATTRPDESEVQLQVTTSEVSEVSEIGGHGISEPQFSEVSEVSEFCSEGITSEY : 419

```



```

                                460          *          480          *          500
d6-des-Olu : I I I I I I D I I QFRQPEVS RRFVPEAKKNNNNKVLTYYGAWKATFGN I I I I I I : 465
d6-des-Ota : I I I I I I S I I QFRQPEVS RRFVPEAKKNNNNKVMTYAGAWKATLGN I I I I I I : 441
d6-des-Tps : D I I I I I M I I RNNIAKCH ELVES I I I I I I G I I I I I I HEADMWDGTVEVLQH I I I I I I : 469
    
```

```

                                *
d6-des-Olu : GKH I I I I HGSQRVKSSEA : 482
d6-des-Ota : GKH I I I I HGQHSKTA-- : 456
d6-des-Tps : SDD I I I I EMVKDFPAM-- : 484
    
```

Fig. 5

```

                *           20           *           40           *
d12-des-O1 : MMTTANVSRVAATRMTTSTTSTRRRVMASKYIARTATTTTTDARGRAHRR : 50
d12-des-O1 : ----- : -
d12-des-Ot : ----- : -
d12-des-Tp : -----MGKGGRSVTRAQTAEKSAH : 19

                60           *           80           *           100
d12-des-O1 : AGAIALGGFEDLPRSGLEGQALTFPHKKEFPSRAAVLSNTEDEGKPKKDDTA : 100
d12-des-O1 : -----MQEVLRAITPRECEHERDTG : 18
d12-des-Ot : -----MQEGVRNINENLEPETGHL : 18
d12-des-Tp : TIQTFTDGRWVSPYNPLAKDAPELP-----SKGEIKAVLKLCEERSYL : 63

                *           120           *           140           *
d12-des-O1 : KSLMYAAVSTAMTVGCGLIAAATLPLQA-----AAMPAALAAAV : 140
d12-des-O1 : KSLAYAACSTAITLACGALAWACVPVTA-----AAMPVAVAVFV : 58
d12-des-Ot : ERPWRSGRCGRDPSNNGAGFRFFSLKG-----FMPANWAYFV : 58
d12-des-Tp : HSMYFVLRDVTMAVACAYIAHSTLSTDIPELLSVDALKKMLLGANTLAFW : 113

                160           *           180           *           200
d12-des-O1 : NCTIATCCNMTMHPGCHNAPS DNRFIQDAVGYAHTSALHPYATSSMQRSHA : 190
d12-des-O1 : TCTAATCCNVAAPHCCCHGAPSDDKTIQDAVGYAHTSLHPVATSSMQRSHA : 108
d12-des-Ot : TCTAATCCNVAAPHCCCHGAPSDNKTLODAVGYVHTSLHPVATSSMQRSHA : 108
d12-des-Tp : MECILRCHMMLAHCCCHGAPSPSQTFRDFWERTLHQAVLVAATLAAQYSHA : 163

                *           220           *           240           *
d12-des-O1 : VHHSPUNHTECEHHVAVYKGLKGD-----LNLKAKKNICECEPAIL : 233
d12-des-O1 : VHHSPUNHVECEHHVAVARLGTEDAN-----VMFKLRGLICECEPTFL : 151
d12-des-Ot : VHHSPUNHVECEHHVAVARLGTEDAN-----VVFKLRELICECEPTFF : 151
d12-des-Tp : KHHRETNIMDCESHVAVNIAKEMGLNEKNERSGGYAAIHEALICECEPAMP : 213

                260           *           280           *           300
d12-des-O1 : QIVTHLVECEHVAHTTCEHICE SARGVTNHF LPNIN----TGALECEPFGSW : 279
d12-des-O1 : NIVGVFALCEHVAHTTCEHICE PVRGNTNHF LPFMGE---KGKHALCEPGKW : 198
d12-des-Ot : NIVGVFALCEHVAHTTCEHICE PVRGNTNHF LPFMGE---KGKHALCEPGKW : 198
d12-des-Tp : QIFAHLVECEHVAHTTCEHICE RLGQDGKELQAGEIIDHYRPWSKLRPTKL : 263

                *           320           *           340           *
d12-des-O1 : KKVYYSDTEVRFVGVIAAWVAQCEWAPFVALCECEYTFVNFMLVGVYV : 329
d12-des-O1 : AKRVWQSDVGVVVLGAI AAWAAHSEVATVALCECEYIVTNFMLVGVYV : 248
d12-des-Ot : AKRVWQSDVGVVVLGAI AAWAAHSEIATVALCECEYIVTNFMLVGVYV : 248
d12-des-Tp : RFRALSTDAI AAWVGVYFAAQEYVLPVVLWCECELDWNQAVMLVGVYV : 313
    
```

```

                                360          *          360          *          400
d12-des-O1 : [REDACTED] : 379
d12-des-O1 : [REDACTED] : 298
d12-des-Ot : [REDACTED] : 298
d12-des-Tp : [REDACTED] : 362
    
```

```

                                *          420          *          440          *
d12-des-O1 : ECAI [REDACTED] : 427
d12-des-O1 : NHTI [REDACTED] : 346
d12-des-Ot : NTPF [REDACTED] : 346
d12-des-Tp : FHEM [REDACTED] : 412
    
```

```

                                460          *
d12-des-O1 : GEGKGAMWFT [REDACTED] : 442
d12-des-O1 : G----DEWVFT [REDACTED] : 362
d12-des-Ot : G----DEWVFT [REDACTED] : 361
d12-des-Tp : DG-VQYYKSLE [REDACTED] : 434
    
```

Fig. 6

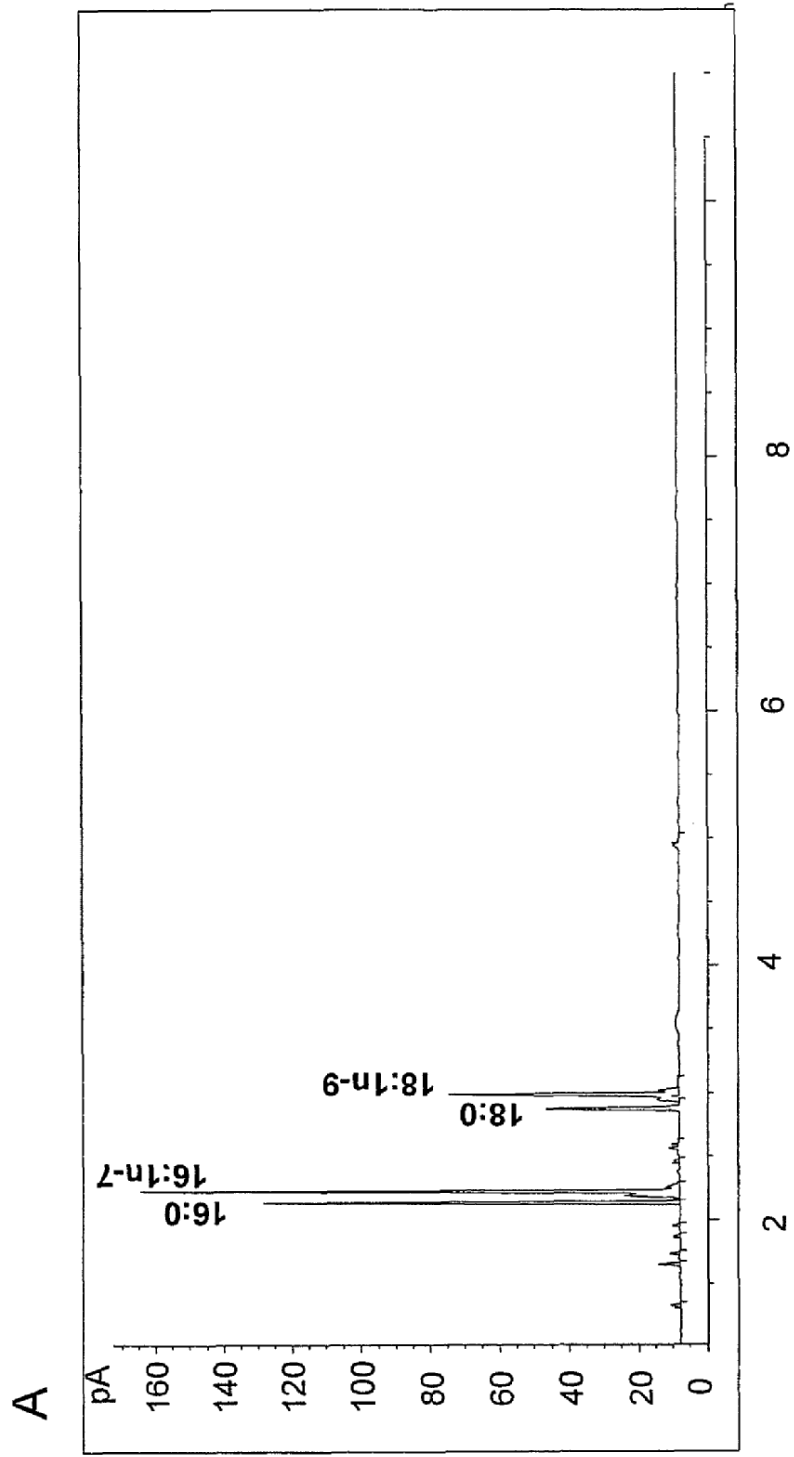


Fig. 6 continuación

B

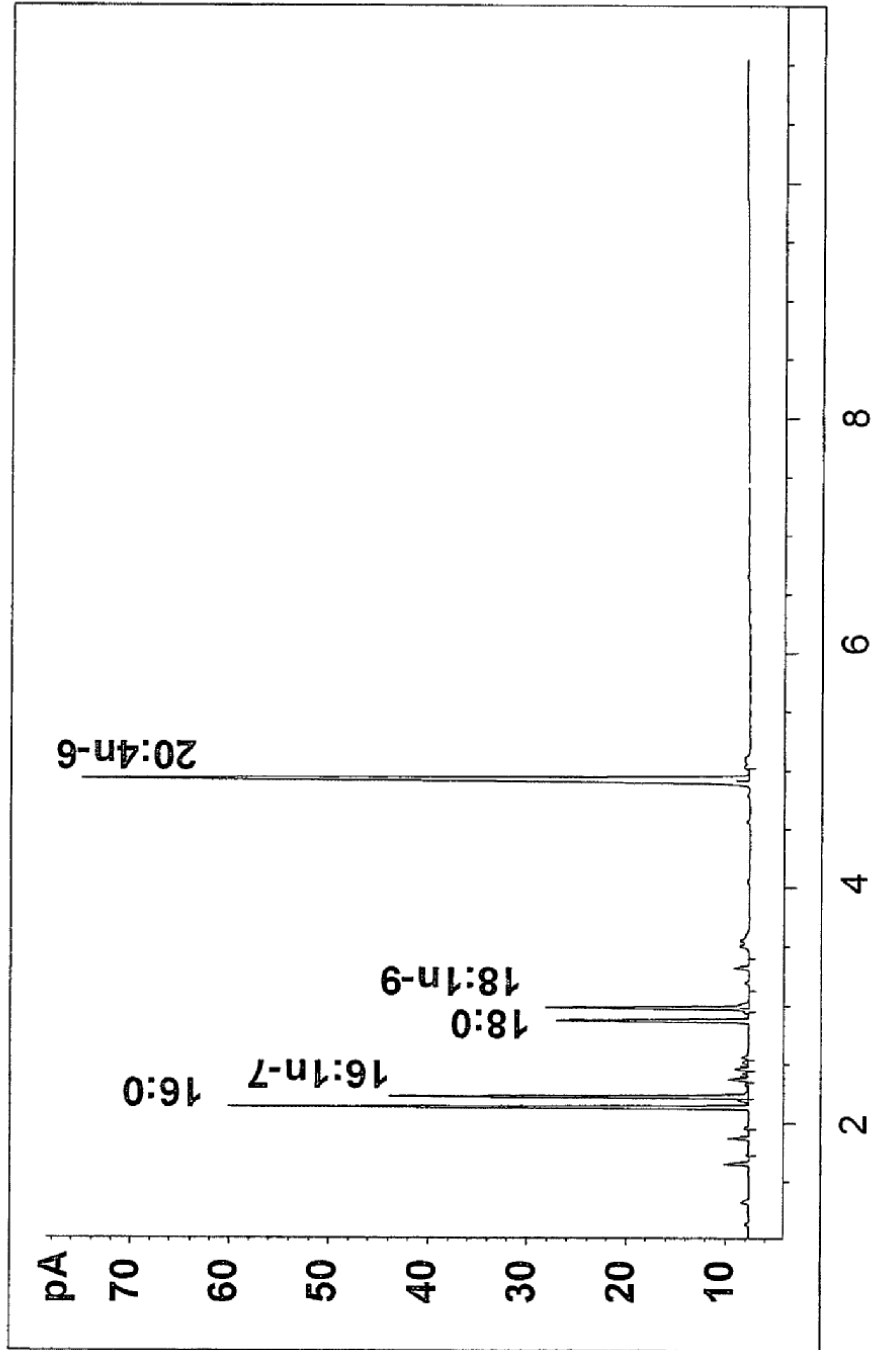


Fig. 6 continuación

C

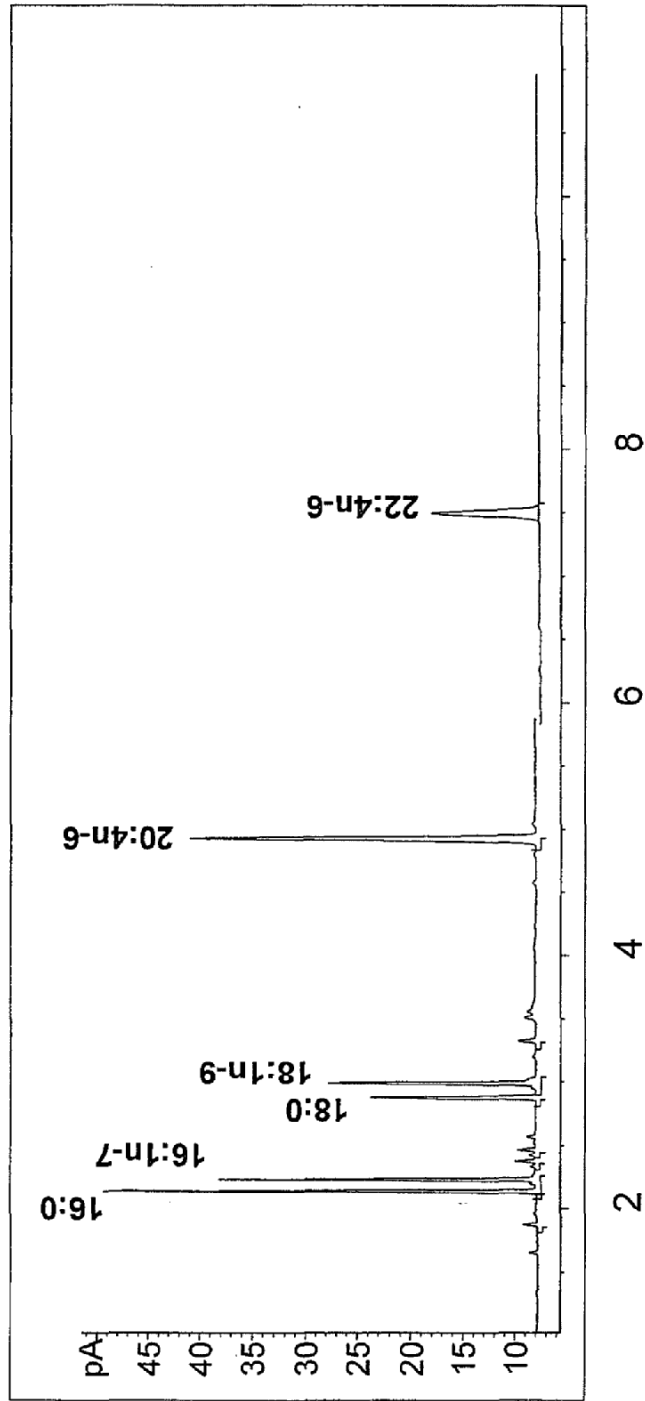


Fig. 7

A

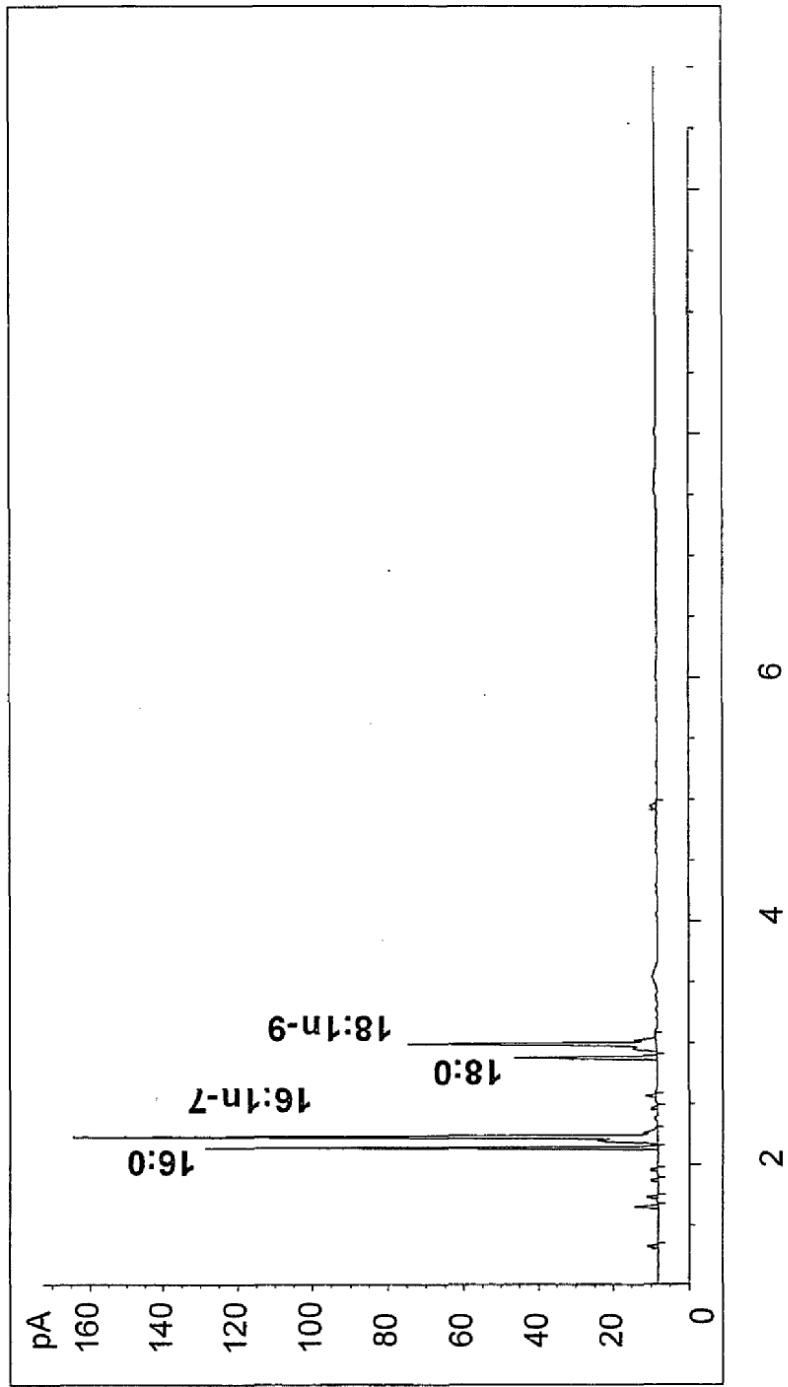


Fig. 7 continuación

B

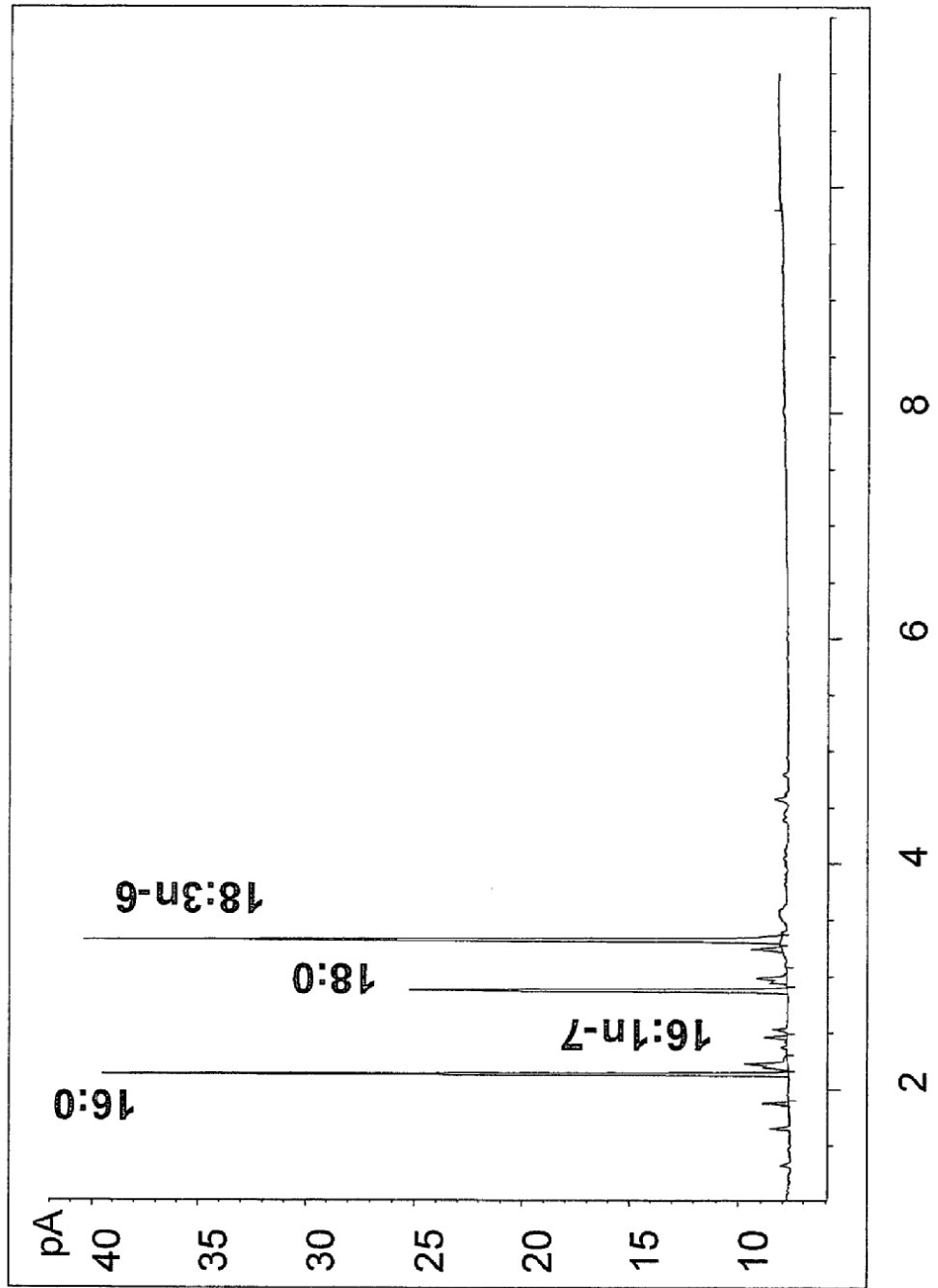


Fig. 7 continuación

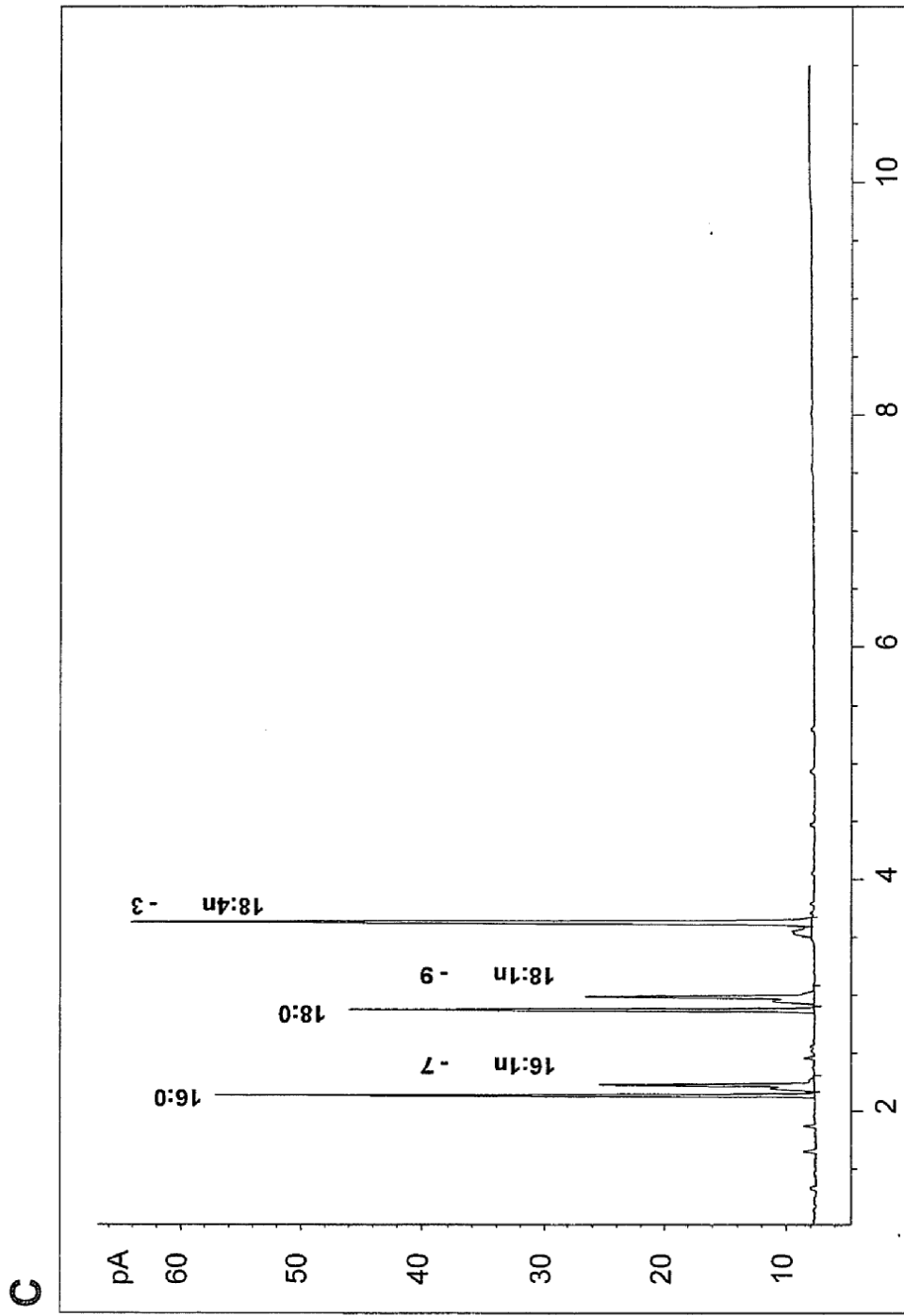


Fig. 7 continuación

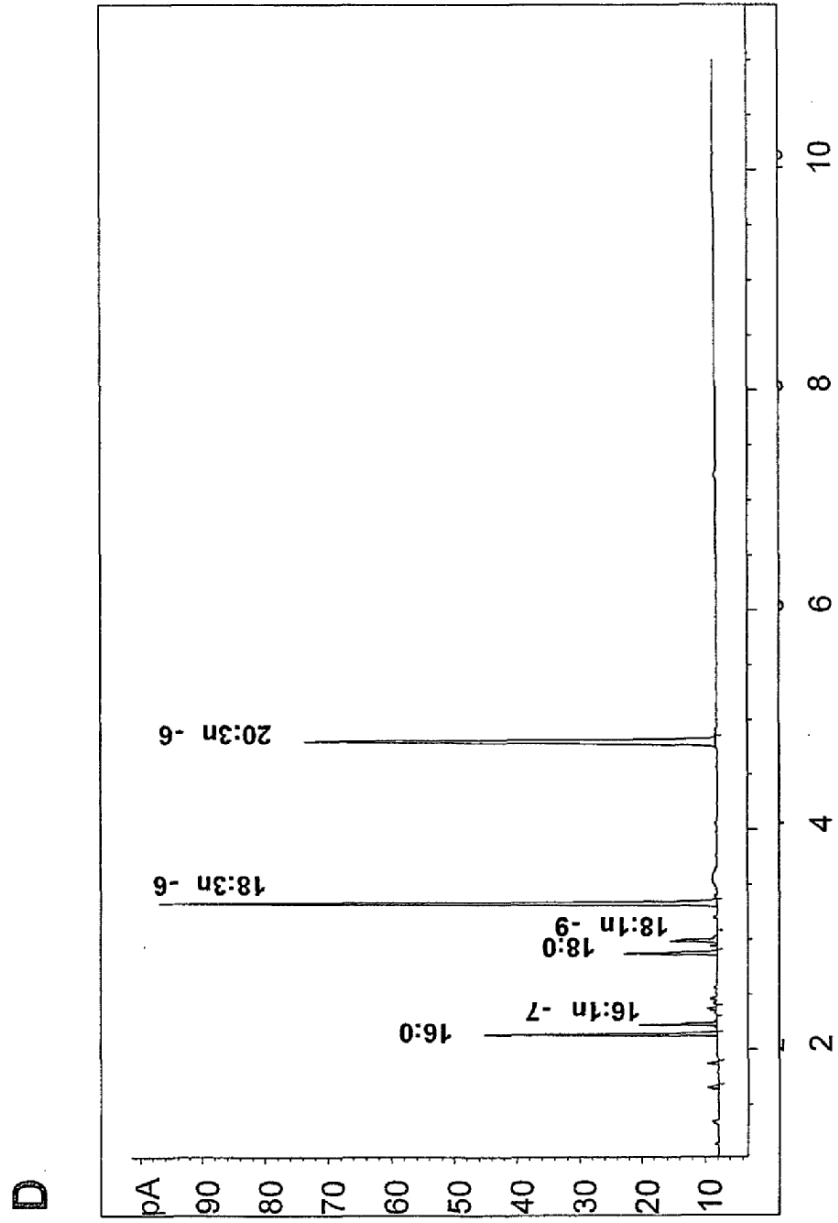


Fig. 7 continuación

E

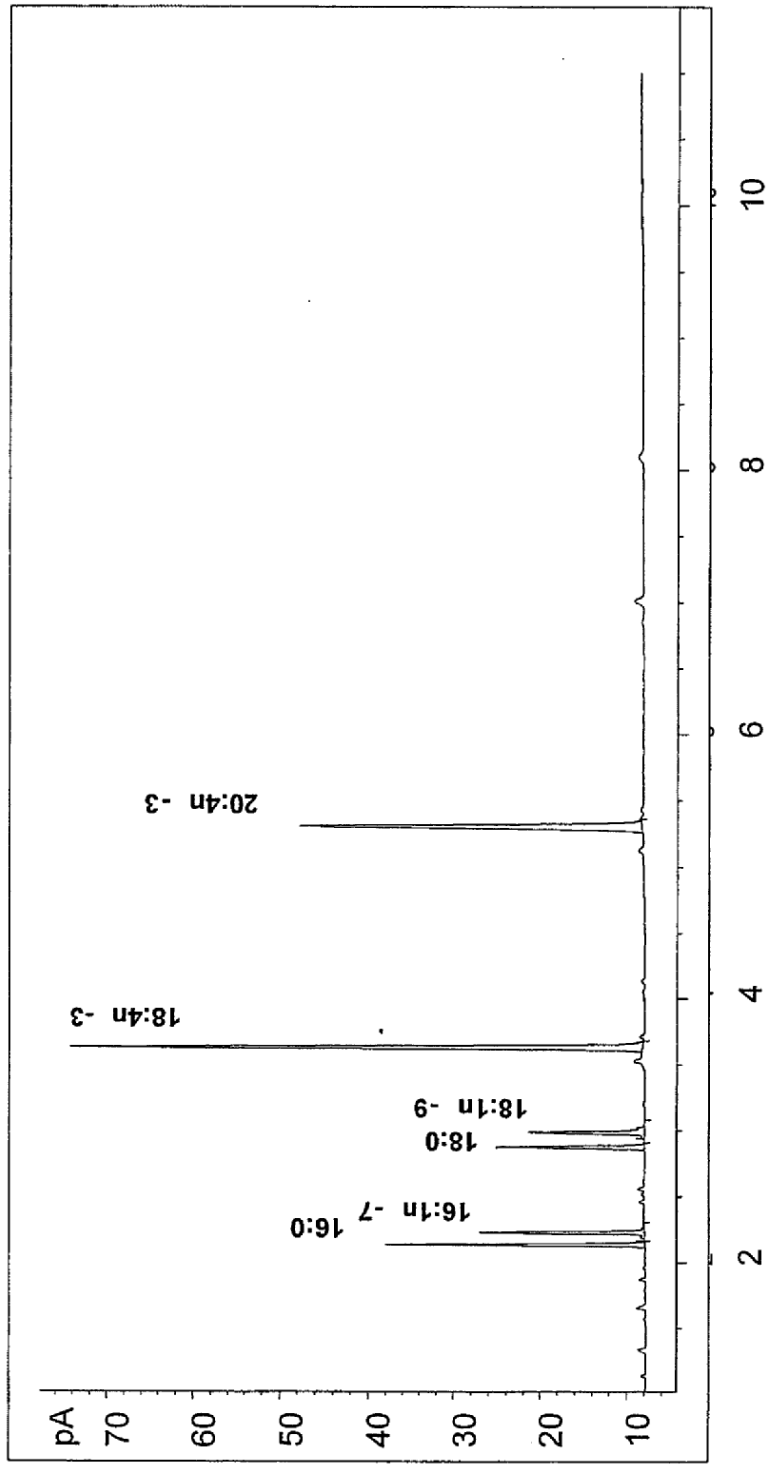


Fig. 8

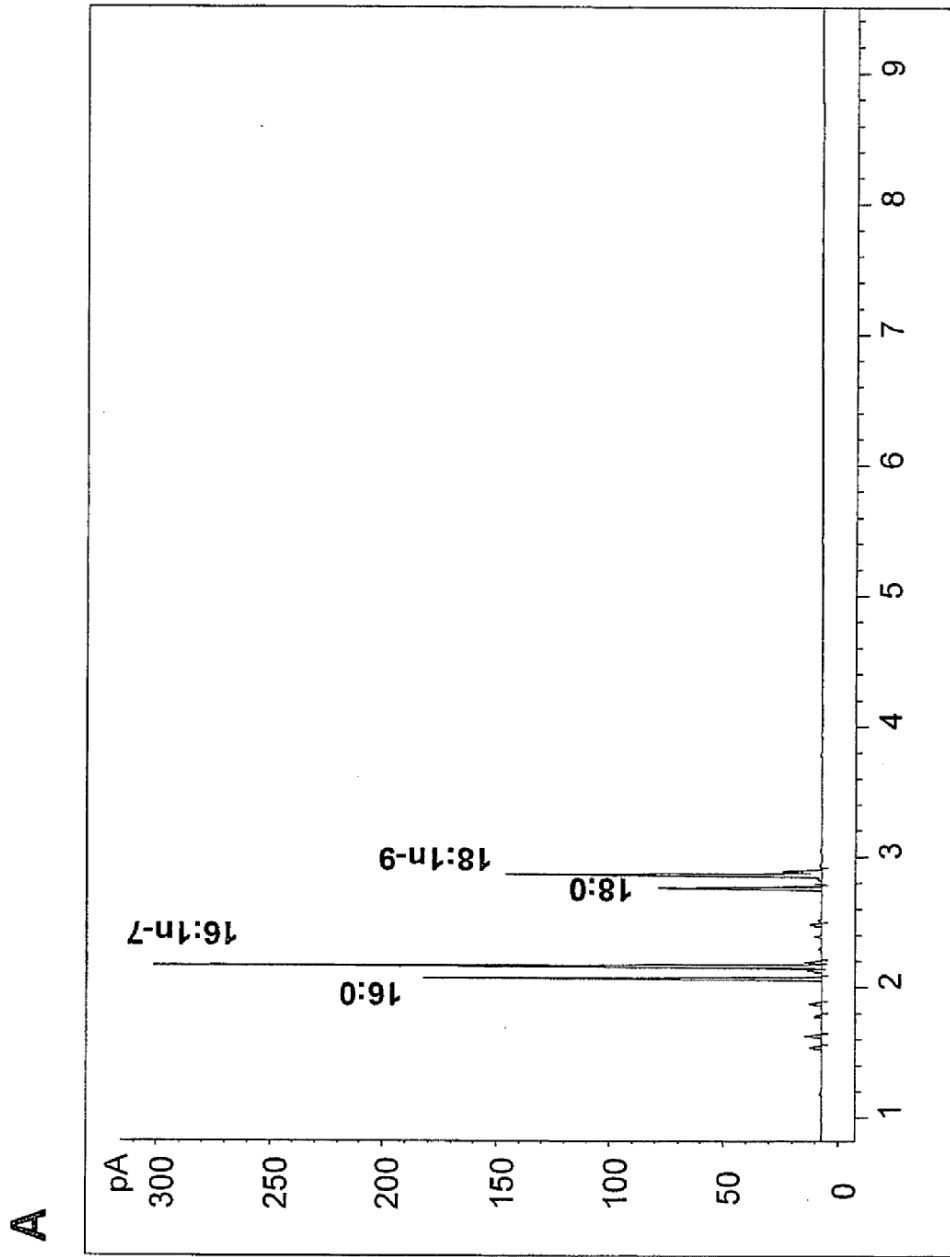


Fig. 8 continuación

B

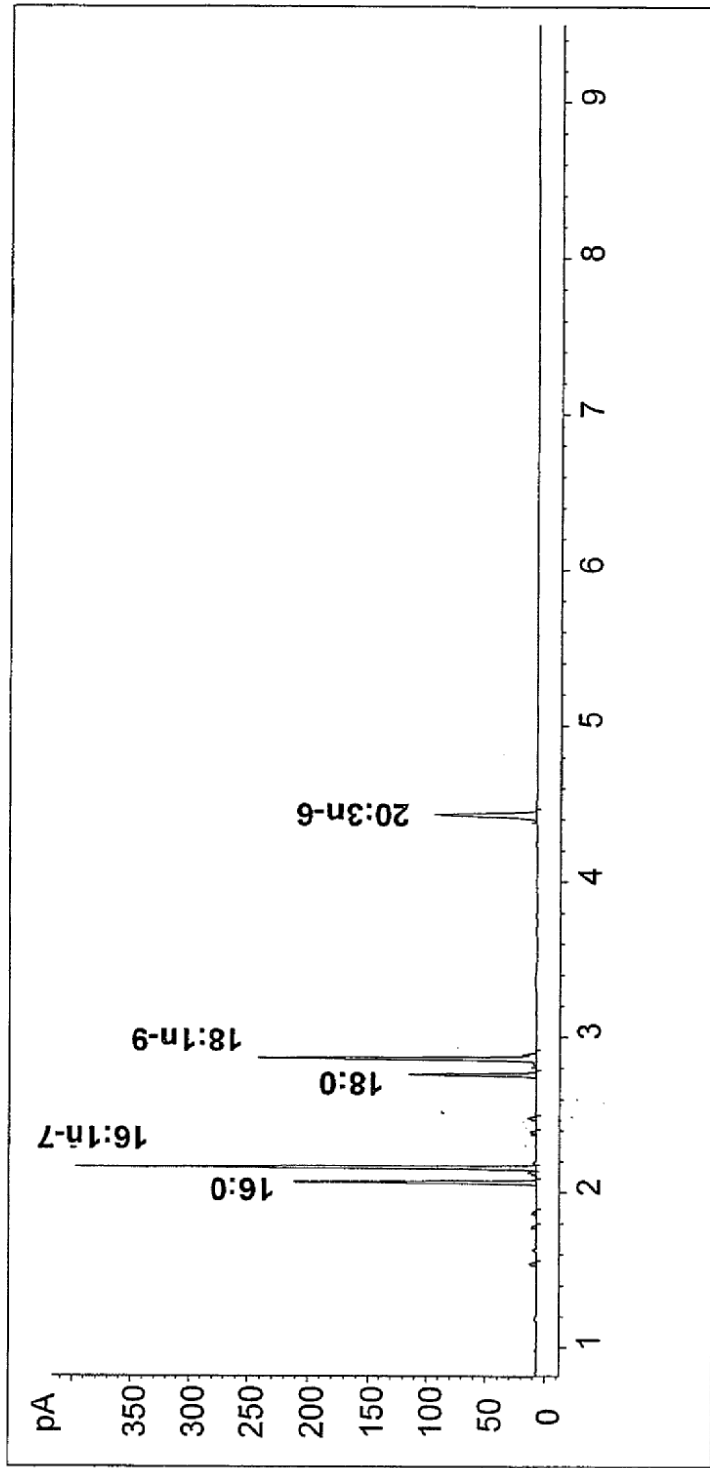


Fig. 8 continuación

C

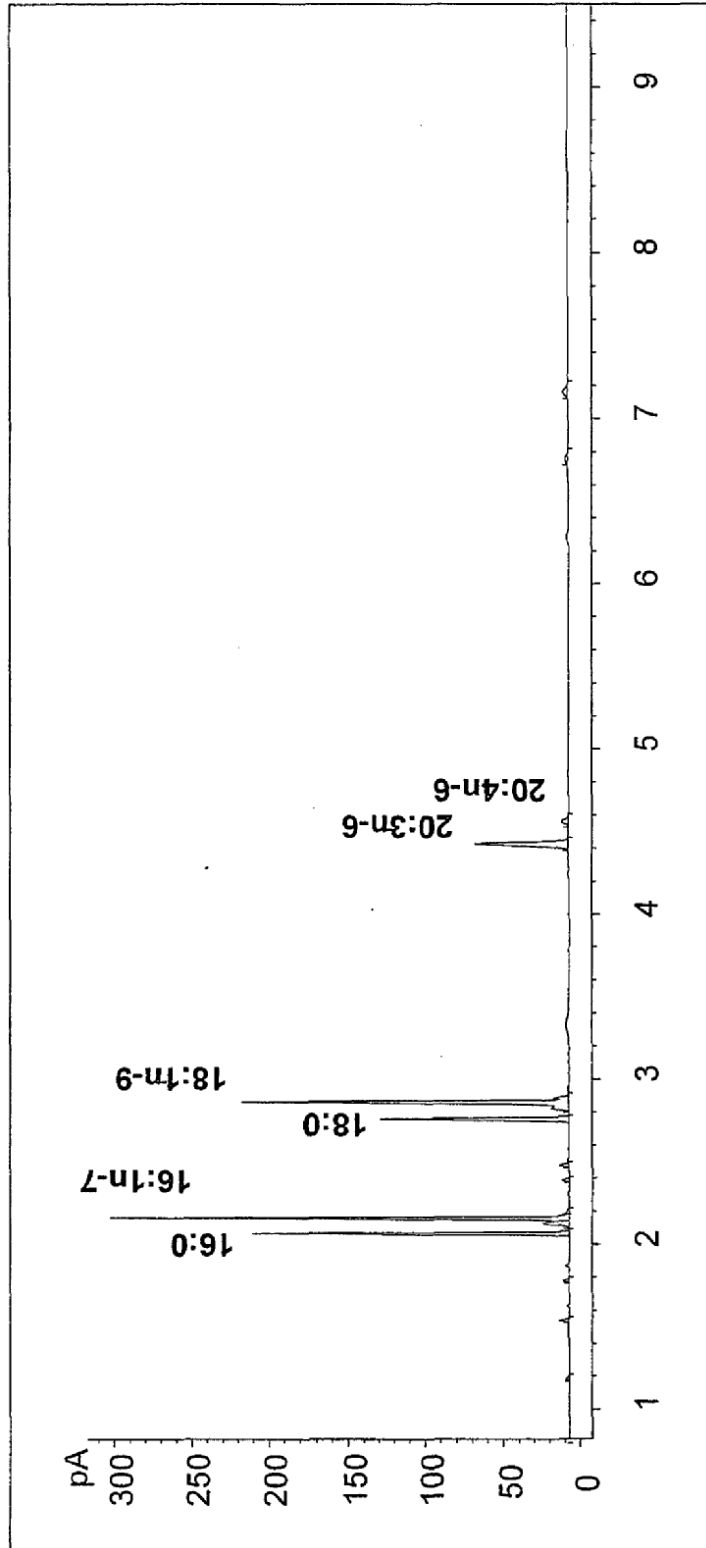


Fig. 9

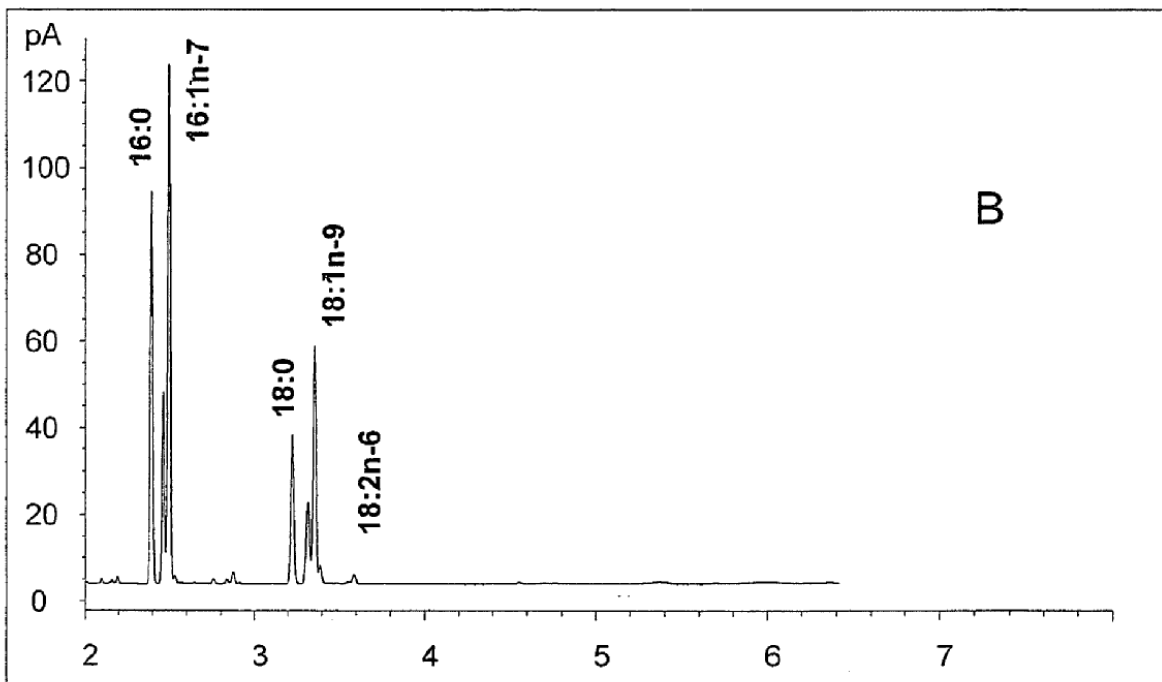
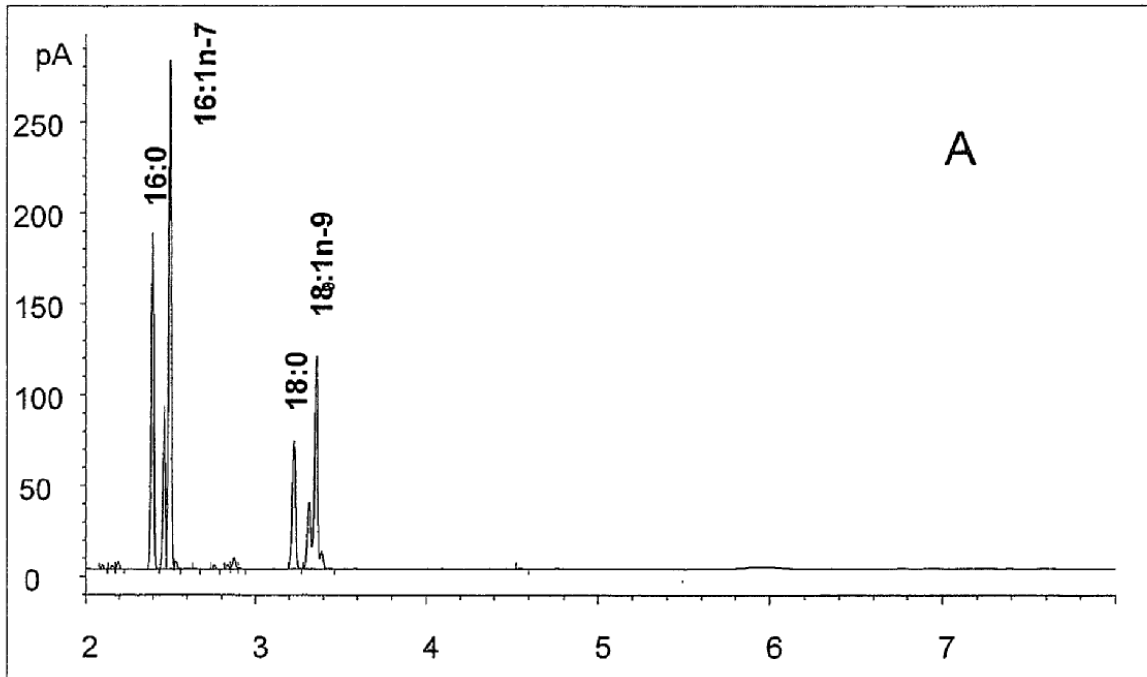


Fig. 10

A

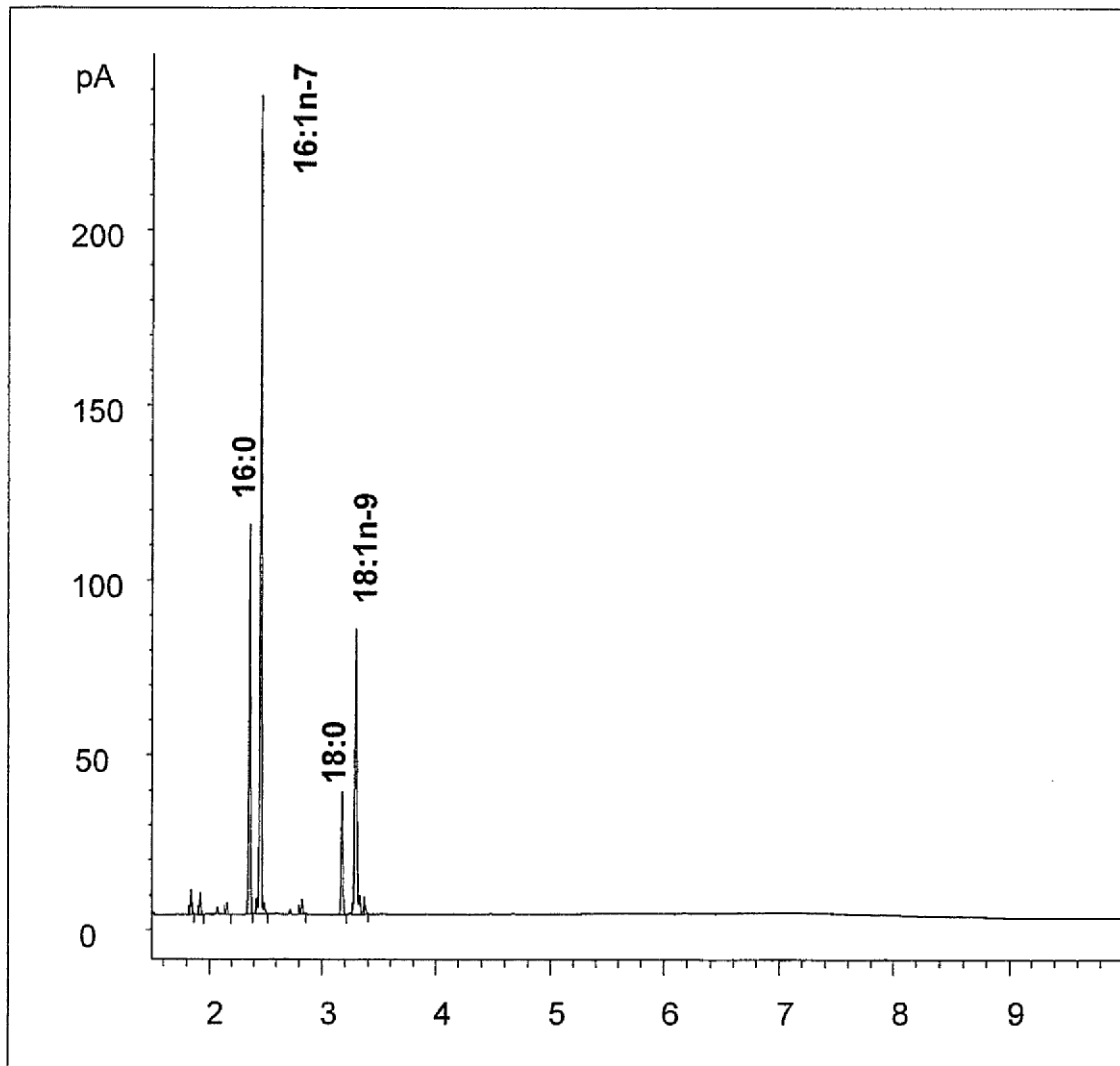


Fig. 10 continuación

B

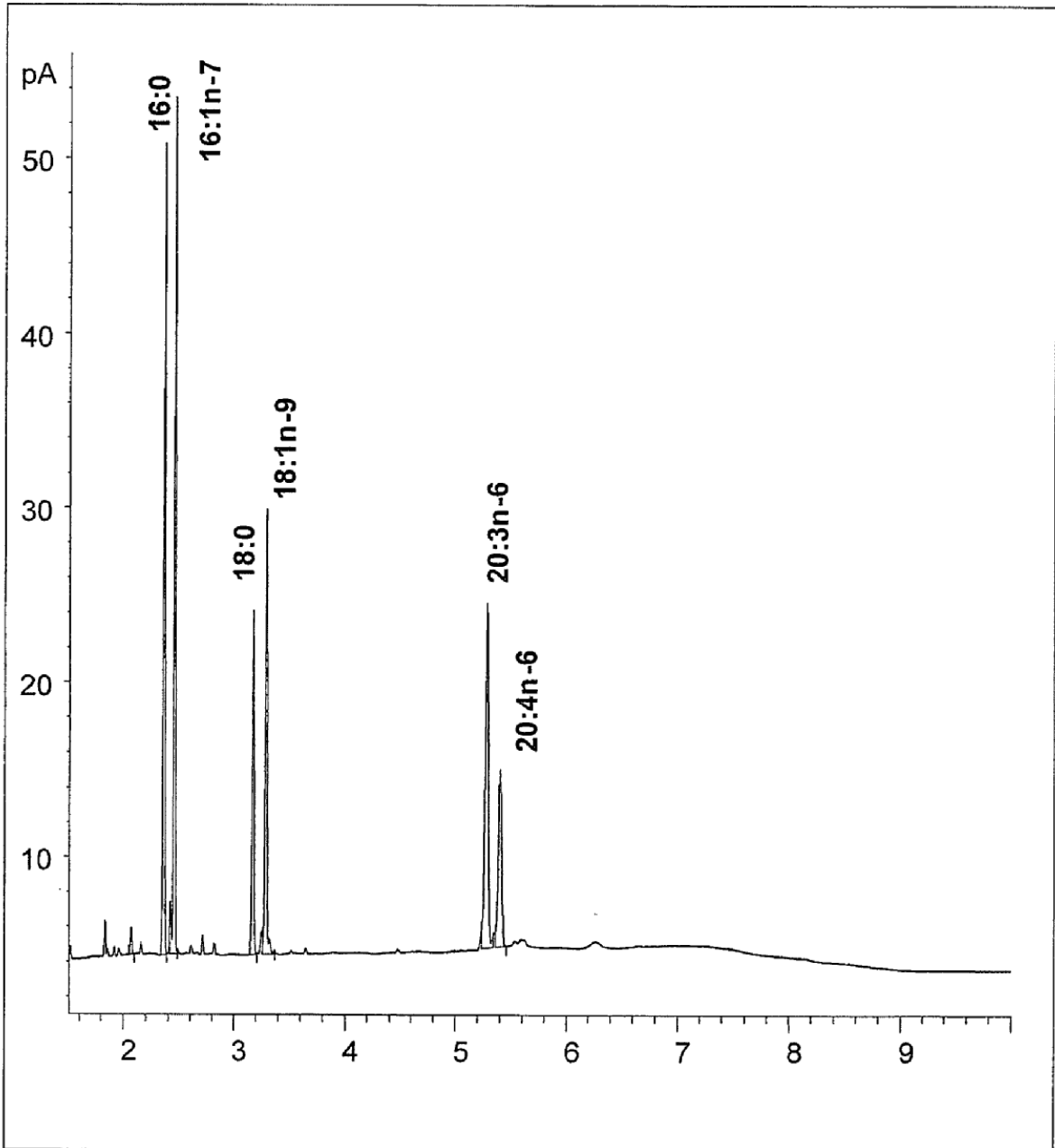


Fig. 10 continuación

C

