

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 647 081**

51 Int. Cl.:

**G01N 33/50** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **08.07.2010 PCT/GB2010/051128**

87 Fecha y número de publicación internacional: **13.01.2011 WO11004197**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **08.07.2010 E 10734548 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.09.2017 EP 2452193**

54 Título: **Método de selección para el envejecimiento celular**

30 Prioridad:

**08.07.2009 GB 0911885**

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

**19.12.2017**

73 Titular/es:

**SIBELIUS LIMITED (100.0%)  
41 Cornmarket Street  
Oxford OX1 3HA, GB**

72 Inventor/es:

**MELLOR, ELIZABETH JANE;  
YOUDELL, MICHAEL;  
NAIR, ANITA y  
AKOULITCHEV, ALEXANDRE**

74 Agente/Representante:

**SÁEZ MAESO, Ana**

ES 2 647 081 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

Método de selección para el envejecimiento celular

## 5 Campo de la invención

La presente invención se refiere a los métodos de selección para identificar compuestos que tienen un efecto sobre el envejecimiento de una célula, particularmente el envejecimiento cronológico de una célula.

## 10 Antecedentes

El objetivo del complejo de rapamicina, TORC1, se conserva desde la levadura hasta el hombre y tiene un papel fundamental en detectar y señalar el estado de nutrientes y el estrés de la célula, controlando de este modo, el equilibrio entre el crecimiento celular<sup>1-5</sup> y la supervivencia celular<sup>6-11</sup>. En la levadura en gemación el TORC1 promueve el crecimiento fermentativo de la glucosa y regula negativamente la respiración<sup>12,13</sup>. El TORC1 contiene una quinasa relacionada con la fosfatidilinositol quinasa (PI3-K), ya sea el Tor1 o el Tor2. La rapamicina macrólida<sup>14</sup>, en un complejo con Fpr1 (prolina rotamasa sensible a Fk506), se une al Tor1/2 y provoca que las células entren en un estado que se parece a la limitación de nutrientes<sup>15</sup> probablemente debido a un cambio en la especificidad del sustrato de la quinasa Tor<sup>16</sup>. Este nuevo estado de la célula se asocia con cambios en los patrones de la expresión génica, particularmente los genes requeridos para la respiración y la resistencia al estrés<sup>6,10,17,18</sup>. La expresión de muchos genes del TORC1 depende de la familia SAGA de complejos coactivadores transcripcionales que incluyen SAGA (Spt-Ada-Gcn5-Acetiltransferasa)<sup>19,20</sup>, SLIK (semejantes a SAGA)<sup>21</sup> y SALSA (SAGA alterado, Spt8 ausente)<sup>22-24</sup>. SAGA, SLIK y SALSA contienen la lisina acetiltransferasa (KAT) Gcn5<sup>21-23</sup>, con lisina 14 en la histona H3 (H3K14ac) como sustrato, pero difieren en su abundancia, los genes que regulan y la composición de las subunidades<sup>19,24</sup>.

25

Sangkyu K. y otros, Biogerontology, (2004), vol. 5, no. 5, pág. 305 - 316, se titula "*The histone acetyltransferase GCN5 modulates the retrograde response and genome stability determining yeast longevity*".

30

Barros M. H. y otros, J. Biol. Chem. (2004) vol. 279, no. 48, pág. 49883 - 49888, se titula "Higher respiratory activity decreases mitochondrial reactive oxygen release and increases life span in *Saccharomyces cerevisiae*".

35

Stephens L. S. y otros, J. Biol. Chem. (2003), vol. 278, no. 15, pág. 13390 - 13397, se titula "Sip2, an N-myristoylated beta subunit of Snf1 kinase, regulates aging in *Saccharomyces cerevisiae* by affecting cellular histone kinase activity, recombination at rDNA loci, and silencing".

Lorenz D. R. y otros, Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2009, vol. 106, no. 4, pág. 1145 - 1150, se titula "A network biology approach to aging in yeast".

40

La patente de los EE.UU núm. 2006/234250 se titula "*Methods of screening and compositions for life span modulators*" y se publicó el 19 octubre de 2006.

La patente de los EE.UU núm. 2003/207325 se titula "*Methods for identifying agents which alter histone protein acetylation, decrease aging, increase lifespan*" y se publicó el 6 de noviembre de 2003.

45

Ashrafi K., y otros, Genes and Development, 2000, vol. 14, no. 15, pág. 1872 - 1885, se titula "Sip2p and its partner snf1 p kinase affect aging in *S. cerevisiae*".

50

Friis R. M. N. y otros, Nucleic Acids Research, 2009, vol. 37, no. 12, pág. 3969 - 3980, se titula "A glycolytic burst drives glucose induction of global histone acetylation by picNuA4 and SAGA".

Jiang Lihua y otros, Journal Of Biological Chemistry, (200709), vol. 282, no. 38, pág. 27923 - 27934, se titula "Global assessment of combinatorial post-translational modification of core histones in yeast using contemporary mass spectrometry".

55

Los inventores han descubierto que la acetilación de H3K18 es fundamental para un mecanismo que controla el equilibrio entre el crecimiento celular y la longevidad. Han identificado además una serie de genes involucrados en los complejos SAGA SLIK y SALSA cuya interrupción resulta en un aumento de la vida útil cronológica.

## Resumen de la Invención

60

De acuerdo con un primer aspecto de la presente invención, se proporciona un método para aumentar la vida útil cronológica de una célula que comprende la interrupción de la función del complejo Spt-Ada-Gcn5-Acetiltransferasa (SAGA) en dicha célula, en donde, la interrupción se efectúa a través de la interrupción de al menos un gene seleccionado del grupo que consiste en Spt7 (sec. con núm. de ident.: 12), Spt8 (sec. con núm. de ident.: 14), y sus homólogos, o a través de la interrupción de un producto de al menos un gen; en donde, "homólogo" significa un gen análogo de un organismo diferente que realiza la misma función; y proporciona que el método no comprenda un método para el

65

tratamiento de un cuerpo humano o animal mediante cirugía o terapia o un método de diagnóstico practicado en un cuerpo humano o animal.

Se describe además un método para identificar un modulador potencial de la vida útil cronológica (CLS) de una célula, que comprende los etapas de

- i) poner en contacto una célula que tiene un estado de acetilación de la Histona 3 Lisina 18 (H3K18) conocido con un compuesto de prueba; y
- ii) determinar si dicho compuesto tiene un efecto sobre el estado de acetilación de H3K18 en dicha célula;

en donde, un cambio en el estado de acetilación de H3K18 en la célula indica que el compuesto modula la CLS.

De acuerdo con un cuarto aspecto de la presente invención, se proporciona un método para identificar el estado de replicación de una célula que comprende identificar el estado de acetilación de H3K18, donde la presencia de una modificación de acetilo de H3K18 indica que la célula es una célula que se replica activamente y la ausencia de una modificación de acetilo de H3K18 indica una célula que ya no se está replicando.

Se describe además un método para identificar un cambio en la CLS de una célula que comprende identificar la acetilación de H3K18 en la célula y compararlo con el estado de acetilación de una célula de control, en donde, la pérdida de H3K18Ac en comparación con la célula de control indica una CLS incrementada y la adquisición de H3K18Ac cuando se compara con la célula de control indica una CLS reducida.

Se describe además un método para diagnosticar un trastorno asociado con un cambio en la CLS de una célula, dicho método comprende identificar el estado de acetilación de H3K18 en una célula previamente aislada de un sujeto y comparar dicho estado de acetilación con el estado de acetilación de una célula de control.

#### Descripción detallada de la invención

De acuerdo con un primer aspecto, se proporciona un método para aumentar la vida útil cronológica de una célula que comprende la interrupción de la función del complejo SAGA en dicha célula, en donde la interrupción se efectúa a través de la interrupción de al menos un gen seleccionado del grupo que consiste en Spt7, Spt8, y sus homólogos, o a través de la interrupción de un producto del al menos un gen, en donde "homólogo" significa un gen análogo de un organismo diferente que realiza la misma función.

Como se utiliza en la presente descripción, el término vida útil cronológica se refiere al tiempo en que las células en un cultivo de fase estacionaria permanecen viables.

Se entenderá que la función del complejo SAGA puede interrumpirse directa o indirectamente. Los complejos SAGA, SUK y SALSA juegan un papel crucial en el control del estado de acetilación y la CLS de una célula, pero difieren en sus niveles en dependencia del estado de la célula y su entorno.

Como se utiliza en la presente descripción, los términos directa e indirectamente en relación con la interacción con los complejos enumerados se refieren a una interacción ya sea con el complejo mismo o con un producto génico de un gen que codifica un péptido que forma parte del complejo o con el producto del gen de un gen que permite la formación del complejo.

El experto comprenderá que los genes anteriores de *S. cerevisiae* tienen homólogos en otros organismos, que incluyen los mamíferos. Por ejemplo, Spt3 muestra homología con el SUPT3H-203 humano; Gcn5 muestra homología con el KAT2B-001 humano y el KAT2A-001; Spt7 muestra homología con el SUPT7H humano y SNF1 muestra homología con el PRKAA1 y PRKAA2.

Se entenderá que estos genes codifican productos que forman parte de los complejos SAGA, SUK y/o SALSA, o interactúan con dichos complejos de manera tal que afectan la acetilación de las histonas en una célula.

Preferentemente, la interrupción se efectúa a través de la interrupción de SPT7 (sec. con núm. de ident.: 11) o SPT7-217 (sec. con núm. de ident.: 19).

Como se utiliza en la presente descripción, el término "interrumpiendo la función", "interrupción de la función" o "interrumpe la función" cuando se usa en relación con un gen o un producto génico se refiere a interrumpir la expresión del gen o interrumpir la actividad del polipéptido codificado. Se entenderá además que puede interrumpirse cualquier etapa de la expresión génica entre el inicio de la transcripción y la producción de una proteína madura. El experto comprenderá que esto incluirá medios epigenéticos para controlar la expresión génica a través del control de la estructura de la cromatina, así como de medios de transcripción, traducción y post traducción para controlar la expresión génica.

Se entenderá que la interrupción de la expresión de un gen como se utiliza en la presente descripción significa prevenir o inhibir la producción de un polipéptido funcional mediante cualquier medio conocido en la técnica y que la interrupción de la actividad del polipéptido codificado se refiere a interrumpir la interacción del polipéptido funcional con uno o más de sus compañeros de unión de manera que el polipéptido no realiza su función. La producción o función puede prevenirse total

o parcialmente. En una modalidad, preferentemente la producción o la función del producto génico se previene completamente, es decir, no hay producto génico activo. En algunos casos, la producción o la función del producto génico puede interrumpirse de tal manera que solo haya aproximadamente un 5 %, aproximadamente un 10 % aproximadamente un 20 %, aproximadamente un 30%, aproximadamente un 50 %, aproximadamente un 60 %, aproximadamente un 70 %, aproximadamente un 80 %, aproximadamente un 90 % o aproximadamente un 95 % del nivel de tipo silvestre de la expresión restante.

Como se utiliza en la presente descripción mediante la inhibición de la producción de un polipéptido funcional, se entiende que la producción del producto génico puede prevenirse o inhibirse por (a) desactivar dicho gen; (b) silenciar postranscripcionalmente dicho gen a través, por ejemplo, del uso de iRNA o RNA antisentido (silenciamiento génico); (c) silenciar transcripcionalmente dicho gen mediante, por ejemplo, técnicas epigenéticas; (d) prevenir o alterar la función del producto génico mediante la introducción de al menos una mutación puntual; (e) inactivar post traduccionalmente el producto génico.

En una modalidad preferida, la expresión del gen o su homólogo se interrumpe mediante iRNA.

Por ejemplo, la célula puede transformarse con un plásmido/vector que codifica un iRNA bajo el control de un promotor. Será evidente que este promotor puede ser un promotor constitutivo y/o un promotor específico de tejido.

Como se utiliza en la presente descripción, el término iRNA se refiere a la interferencia del RNA (iRNA). Este es un método de silenciamiento génico postranscripcional (PTGS) en eucariotas inducidos por la introducción directa de dsRNA (Fire A, y otros, (Nature, 391, 806-811, 1998). En una modalidad preferida adicional la expresión del gen se interrumpe a nivel transcripcional / DNA. Por ejemplo, dicha interrupción puede efectuarse mediante la inserción de al menos un nucleótido en el gen o la eliminación de al menos un nucleótido del gen.

En un ejemplo adicional, la interrupción del gen se efectúa mediante la introducción de al menos una mutación puntual.

Se entenderá que en el caso de la interrupción de la interacción del polipéptido con uno o más de sus compañeros de unión. Esta interrupción puede ser por cualquier medio adecuado, por ejemplo, la inhibición competitiva, la inhibición no competitiva, la inhibición mixta o la inhibición no competitiva.

La presente invención incluye el uso de secuencias que tienen un grado de identidad de secuencia u homología de secuencia con secuencias de aminoácidos de los polipéptidos definidos en la presente o de cualquier secuencia de nucleótidos que codifica dicho polipéptido (de aquí en adelante se refiere a "secuencia(s) homóloga (s)"). En la presente, el término "homólogo" significa una entidad que tiene una cierta homología con las secuencias de aminoácidos en cuestión y las secuencias de nucleótidos objeto. En la presente, el término "homología" puede corresponderse con "identidad".

La secuencia de aminoácidos y/o secuencia de nucleótidos homóloga debería proporcionar y/o codificar un polipéptido que retiene la actividad funcional y/o mejora la actividad de la enzima.

En el presente contexto, se toma una secuencia homóloga para incluir una secuencia de aminoácidos que puede ser al menos 50, 60, 70, 75, 80, 85 o 90 % idéntica, preferentemente al menos 95 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia en cuestión. Típicamente, los homólogos comprenderán los mismos sitios activos, etc., que la secuencia de aminoácidos en cuestión. A pesar de que la homología puede considerarse además en términos de similitud (es decir, residuos de aminoácidos que tienen propiedades/funciones químicas similares).

En el presente contexto, se toma una secuencia homóloga para incluir una secuencia de nucleótidos que puede ser al menos 50, 60, 70, 75, 80, 85 o 90 % idéntica, preferentemente al menos 95 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido de la presente invención (la secuencia en cuestión). Típicamente, los homólogos comprenderán las mismas secuencias que codifican los sitios activos, etc. como la secuencia en cuestión. A pesar de que la homología puede considerarse además en términos de similitud (es decir, residuos de aminoácidos que tienen propiedades/funciones químicas similares).

Las comparaciones de homología pueden realizarse a simple vista, o más habitualmente, con la ayuda de programas de comparación de secuencias disponibles fácilmente. Estos programas informáticos disponibles en el mercado pueden calcular el % de homología entre dos o más secuencias.

El % de homología puede calcularse sobre secuencias contiguas, es decir, una secuencia se alinea con la otra secuencia y cada aminoácido en una secuencia se compara directamente con el aminoácido correspondiente en la otra secuencia, un residuo a la vez. Esto se llama un alineamiento "desacoplado". Típicamente, tales alineamientos desacoplados se realizan solo sobre un número relativamente corto de residuos.

A pesar de que este es un método muy simple y consistente, no toma en consideración que, por ejemplo, en un par de secuencias idénticas, una inserción o delección hará que los siguientes residuos de aminoácidos se desalineen, por lo tanto resulta potencialmente en una gran reducción en el % de homología cuando se realiza un alineamiento global.

- El cálculo del % de homología máxima, por lo tanto, primero requiere la producción de un alineamiento óptimo, teniendo en cuenta las penalizaciones de interrupción. Un programa informático adecuado para llevar a cabo dicho alineamiento es el Vector NTI (Invitrogen Corp.). Ejemplos de software que pueden realizar comparaciones de secuencias incluyen, pero no están limitados a, el paquete BLAST (ver Ausubel y otros 1999 Short Protocols in Molecular Biology, 4ta Ed - capítulo 18), BLAST 2 (ver FEMS Microbiol Lett 1999 174(2): 247-50; FEMS Microbiol Lett 1999 177(1): 187-8 y [tatiana@ncbi.nlm.nih.gov](mailto:tatiana@ncbi.nlm.nih.gov)), FASTA (Altschul y otros 1990 J. Mol. Biol. 403-410) y AlignX por ejemplo. Al menos BLAST, BLAST 2 y FASTA están disponibles para búsquedas fuera de línea y en línea (ver Ausubel y otros 1999, páginas 7-58 a 7-60).
- 5 Adecuadamente, el grado de identidad con respecto a una secuencia de nucleótidos se determina sobre al menos 20 nucleótidos contiguos, preferentemente sobre al menos 30 nucleótidos contiguos, preferentemente sobre al menos 40 nucleótidos contiguos, preferentemente sobre al menos 50 nucleótidos contiguos, preferentemente sobre al menos 60 nucleótidos contiguos, preferentemente sobre al menos 100 nucleótidos contiguos.
- 10 Adecuadamente, el grado de identidad con respecto a una secuencia de nucleótidos puede determinarse a lo largo de toda la secuencia.
- Como se utiliza en la presente descripción, el término fragmento se refiere a un fragmento de la secuencia que proporciona y/o codifica un polipéptido que conserva la actividad funcional y/o mejora la actividad de la enzima.
- 20 Cuando se refiere a un fragmento polipeptídico, preferentemente, el fragmento tiene al menos 50 aminoácidos de longitud. Con mayor preferencia, el fragmento comprende al menos 100, 200, 300, 400 o 500, 600, 700, 800, 900 o 1000 aminoácidos continuos de la secuencia en cuestión, por ejemplo, la sec. con núm. de ident.: 19, hasta y se incluye un polipéptido que comprende un aminoácido menor que la proteína de longitud completa.
- 25 Cuando se refiere a un fragmento de polinucleótido, preferentemente el fragmento comprende al menos 100 nucleótidos, con mayor preferencia, al menos 200, 500, 800, 1000, 1500 o más nucleótidos, hasta y se incluye un polinucleótido que comprende un nucleótido menor que el polinucleótido de longitud completa.
- 30 El experto entenderá que los polinucleótidos que codifican un polipéptido particular pueden diferir entre sí debido a la degeneración del código genético. Se incluyen en la presente descripción el uso de dichos polinucleótidos que codifican el polipéptido de la presente invención.
- 35 Será más evidente para las personas con experiencia en la técnica que el término secuencia homóloga en relación con una secuencia de polinucleótidos puede referirse a una secuencia que se une en condiciones rigurosas a la secuencia del polinucleótido.
- Las condiciones de hibridación se basan en la temperatura de fusión ( $T_m$ ) del complejo de unión a nucleótidos, como se muestra en Berger y Kimmel (1987, Guide to Molecular Cloning Techniques, Methods in Enzymology, Vol. 152, Academic Press, San Diego CA), y confieren una "rigurosidad" definida como se explica a continuación.
- 40 La restricción máxima típicamente ocurre a aproximadamente  $T_m - 5$  °C (5 °C por debajo de la  $T_m$  de la sonda); alta rigurosidad a aproximadamente 5 °C a 10 °C por debajo de la  $T_m$ ; rigurosidad intermedia a aproximadamente 10 °C a 20 °C por debajo de la  $T_m$ ; y baja rigurosidad a aproximadamente 20 °C a 25 °C por debajo de la  $T_m$ . Como comprenderán aquellos con experiencia en la técnica, puede usarse una hibridación de rigurosidad máxima para identificar o detectar secuencias de nucleótidos idénticas aunque una hibridación de rigurosidad intermedia (o baja) puede usarse para identificar o detectar secuencias de polinucleótidos similares o relacionados.
- 45 En un aspecto preferido, la presente invención cubre secuencias de nucleótidos que pueden hibridarse con la secuencia de nucleótidos de la presente invención en condiciones rigurosas (por ejemplo, 65 °C y 0.1xSSC {1xSSC = 0.15 M NaCl, 0.015 M  $\text{Na}_3$  Citrato pH 7.0}). Donde la secuencia de nucleótidos de la invención es bicatenaria, ambas cadenas del dúplex, ya sea individualmente o en combinación, se incluyen en la presente invención. Cuando la secuencia de nucleótidos es monocatenaria, debe entenderse que la secuencia complementaria de esa secuencia de nucleótidos se incluye además dentro del alcance de la presente invención.
- 50 Las secuencias de nucleótidos que no son 100 % homólogas a las secuencias de la presente invención pero que caen dentro del alcance de la invención pueden obtenerse de varias maneras. Otras variantes de las secuencias descritas en la presente descripción pueden obtenerse por ejemplo, investigando en bibliotecas de DNA hechas de un intervalo de fuentes. Además, otros homólogos virales/bacterianos o celulares, particularmente homólogos celulares encontrados en células de mamíferos (por ejemplo, células de rata, ratón, bovino y primate), pueden obtenerse y dichos homólogos y fragmentos de éstos en general, serán capaces de hibridarse selectivamente con las secuencias que se muestran en la lista de secuencias de la presente descripción. Dichas secuencias pueden obtenerse investigando en bibliotecas de cDNA hechas de o bibliotecas de DNA genómico de otras especies de animales, e investigando dichas bibliotecas con sondas que comprenden toda o parte de la secuencia de nucleótidos expuesta en la presente descripción bajo condiciones de rigurosidad de medias a altas. Consideraciones similares se aplican a la obtención de homólogos de especies y variantes alélicas del aminoácido y/o secuencias de nucleótidos de la presente invención.
- 55 60 65

Se describe además un método para identificar un modulador potencial de la vida útil cronológica (CLS) de una célula, que comprende las etapas de

- 5 i) poner en contacto una célula que tiene un estado de acetilación de la Histona 3 Lisina 18 (H3K18) conocido con un compuesto de prueba; y  
 ii) determinar si dicho compuesto tiene un efecto del estado de acetilación de la H3K18 en dicha célula;  
 en donde, un cambio en el estado de acetilación de H3K18 en la célula indica que el compuesto modula la CLS.

10 Se sabe que la modificación de los componentes de las histonas de la cromatina a menudo refleja si los genes están activos o reprimidos y estos cambios están regulados globalmente por enzimas que depositan o eliminan las modificaciones específicas. En los genes activos, la cromatina a menudo se modifica por la acetilación (ac) de la lisina (K) o la metilación (me), particularmente de la histona H3. Los inventores han identificado una nueva lisina en la histona H3, cuyo estado de modificación parece jugar un papel crítico en la determinación de la vida útil de una célula.

15 Como se utiliza en la presente descripción, el término modulador de la vida útil cronológica se refiere a un compuesto que tiene un efecto sobre la CLS de la célula. Este efecto puede ser aumentar la CLS de la célula o disminuir la CLS de la célula. Se entenderá que, en dependencia de los fines para los que se pondrá el compuesto, puede desearse el efecto.

20 Se entenderá que el compuesto referido en la presente descripción puede ser cualquier compuesto adecuado y puede ser, por ejemplo, un compuesto de molécula pequeña o igualmente una molécula biológica tal como un péptido o ácido nucleico.

25 Por ejemplo, el compuesto puede interactuar con al menos un gen o un producto de al menos un gen seleccionado del grupo que consiste en Spt3 (sec. con núm. de ident.: 22), Rtg2 (sec. con núm. de ident.: 4), Gcn5 (sec. con núm. de ident.: 6), Ubp8 (sec. con núm. de ident.: 10), Spt7 (sec. con núm. de ident.: 12), Spt8 (sec. con núm. de ident.: 14) y o Snf1 (sec. con núm. de ident.: 16) o sus homólogos.

30 Será evidente para el experto que el gen que interactúa con el compuesto puede identificarse a través del uso de cepas mutantes knock out diferentes. Los métodos de la producción de dichas cepas son bien conocidos por el experto en la técnica e incluye, por ejemplo, la inserción de uno o más nucleótidos en la región codificante del gen. Se entenderá que, como se utiliza en la presente descripción, el término producto de al menos un gen se refiere a ya sea un ácido nucleico, por ejemplo, mRNA, o un producto peptídico.

35 En un ejemplo adicional, el compuesto interactúa con el gen designado Acs1 (sec. con núm. de ident.: 18) o un producto del gen designado Acs1.

También será evidente para el experto que el estado de acetilación de H3K18 puede identificarse por cualquier medio adecuado conocido en la técnica.

40 Por ejemplo, el estado de acetilación puede determinarse midiendo la respiración mitocondrial.

El experto entenderá que puede usarse cualquier método adecuado para medir la respiración mitocondrial. Por ejemplo, la respiración mitocondrial puede medirse incubando las células en presencia de DIOC6 y visualizando las células.

45 En un ejemplo alternativo, el estado de acetilación se determina mediante inmunofluorescencia indirecta con anticuerpos monoclonales contra H3K18 Bae en células vivas o fijadas.

La presente descripción proporciona además los ejemplos de métodos para identificar el estado de la replicación de una célula o identificar un cambio en la CLS de una célula.

50 Como se utiliza en la presente descripción, el término que identifica el estado de la replicación se refiere a identificar si una célula o la población de células en particular está dividiéndose activamente, o es capaz de dividirse activamente o si la célula o la población de células ya no pueden dividirse.

55 Como se utiliza en la presente descripción, el término que identifica un cambio en la CLS de una célula se refiere a la identificación de un cambio de etapa en una célula o la población de células desde un estado en el cual la/ellas es/son capaces de dividirse activamente a un estado en el cual la/ellas no pueden dividirse más tiempo o *viceversa*.

60 Se entenderá que este cambio puede inducirse deliberadamente o puede ocurrir naturalmente o por exposición a factores ambientales.

La célula puede ser una célula de mamífero, por ejemplo, una célula humana.

En un ejemplo, la célula es una célula madre pluripotente inducida.

65

El experto entenderá que una célula madre pluripotente inducida es típicamente una célula somática que se le ha causado regresar a un estado pluripotente ya sea por exposición a ciertas sustancias químicas o a través de la transfección con, por ejemplo, varios virus.

5 En un ejemplo adicional, la célula es una célula sospechosa de ser neoplásica y/o cancerosa. Preferentemente, la célula es una célula de una muestra que ha sido aislada previamente de un paciente sospechoso de tener o estar en riesgo de desarrollar cáncer.

10 En un ejemplo adicional, se describe un método para diagnosticar un trastorno asociado con un cambio en la CLS de una célula, dicho método comprende identificar el estado de acetilación de H3K18 de una célula aislada previamente de un sujeto y comparar dicho estado de acetilación con el estado de acetilación de una célula de control.

15 Como se utiliza en la presente descripción, el término célula de control se refiere a una célula del mismo tipo de tejido aislada del sujeto, la célula de control siendo aislada del tejido sano y con un estado de acetilación conocido.

Por ejemplo, dicho trastorno puede seleccionarse del grupo que comprende un trastorno relacionado con la edad, cáncer, trastorno sanguíneo, enfermedad de Parkinson o enfermedad de Alzheimer.

20 La invención será descrita adicionalmente con referencia a las figuras. Las referencias a las cepas en las figuras se refieren a las cepas descritas en la Tabla 1. En las figuras:

25 Figura 1, H3K14ac mediante SAGA refleja el crecimiento. La Figura 1 muestra transferencias en membranas de Western que muestran los niveles de modificaciones postraduccionales diferentes a la histona H3, en diferentes antecedentes que incluyen HA-Spt7 y Gcn5 en extracto celular total preparado a partir de células con tratamiento de prueba o tratadas con 10  $\mu$ M rapamicina un máximo de 180 minutos en el antecedente BY4741 (a, b, c, d), FY168 y FY571 (e, h), FY2 y FY2030 (f) y JR-52A (g). En el panel e La versión de Spt7 expresada desde el alelo *spt1-217* en FY571 está truncado en el aminoácido 1119 y ha perdido 213 residuos C-terminales.

30 Figura 2, SAGA y K14ac influyen en el envejecimiento. Las transferencias en membranas de Western muestran los niveles de K14ac (a) y HA-Spt7 (b) en la proteína total preparada a partir de  $1 \times 10^8$  células del antecedente FY2030 (a, b) o FY168 y FY571 (c), sujetos a biotilación, crecimiento durante 10 o 20 generaciones en cultivo exponencial (YPD) y aislamiento mediante el uso de perlas de estreptavidina magnéticas. Las células jóvenes (mayoría de menos de 5 generaciones de edad) se prepararon a partir de las células no biotiladas restantes. \* indica una versión procesada de la histona H3.

35 Figura 3, Control de SAGA, SLIK y K14ac. Las transferencias en membranas de Western muestran los niveles de H3K14ac Gcn5 o HA-Spt7 en extractos celulares totales preparados a partir de las cepas indicadas (genotipo mostrado en la Tabla 1) después del crecimiento en presencia de 10  $\mu$ M rapamicina (+) o tratamiento de prueba (-) durante 3 horas. Las cepas WT son BY4741.

40 Figura 4, Rtg2 y SLIK determinan la vida útil cronológica. a) FY168 (WT), FY571 (Spt7-217) y derivados de *rtg2 $\Delta$*  en fase exponencial teñidos con DiOC6 para evaluar el potencial de membrana mitocondrial ( $\psi$ ). La barra de la escala es de 10  $\mu$ m. b) Diluciones en base a diez seriadas de células de cepas que indicó crecimiento con aireación a la fase estacionaria en CSM que contiene glucosa al 3% y sembradas en YDP el día que se muestra para evaluar la viabilidad. El promedio de vida útil (tiempo en días hasta el 50 % de caída en la viabilidad) se calculó a partir de los recuentos de colonias, c) Fluorógrafos de los extractos proteicos totales en fase exponencial tratados sin o con ciclohexamida para inhibir la traducción citoplasmática y marcados por pulso durante 15 minutos con 35S metionina.

45 La Figura 5 muestra las transferencias en membranas de Western que muestran los niveles de modificaciones postraduccionales diferentes a la histona H3 en el extracto celular total preparado a partir de BY4741 en fase estacionaria exponencial o temprana.

50 La Figura 6 a muestra el efecto de expresar una versión truncada del C-terminal de Spt7 (Spt7-217) en la cepa FY571 y derivados en K14ac y la expresión génica. Las Figuras 12 b-i muestran el efecto de la fase de crecimiento y la presencia de RTG2 en la inducción de genes diferentes.

La Figura 7 muestra que HA-Spt7 se somete a un procesamiento del C-terminal en las células que entran en la fase estacionaria.

60 La Figura 8 muestra que K14ac se reduce a medida que las células envejecen.

65 La Figura 9 muestra el efecto de la Rapamicina en K14ac a *CIT2* (SLIK inducida) o *HMS2* (no inducida) mediante CHIP normalizada con respecto a la histona H3. El CHIP controlado por PCR en tiempo real<sup>53</sup>, se expresa como un porcentaje de entrada y se normaliza con respecto a los niveles de la histona H3 en tres preparaciones de cromatina, en la región 5' de los genes mostrados.

La figura 10 muestra que Snf1 se requiere para la reducción dependiente de rapamicina en K14ac en el tratamiento con rapamicina. a-d Las transferencias en membranas de Western que muestran los niveles de las modificaciones en la H3 en los extractos celulares totales preparados a partir de las cepas indicadas en el antecedente LPY8056 (d), BY4741 (a-b, f-g) o FY3 (c). n=3 para todos los experimentos mostrados, e Inmunofluorescencia Indirecta con anticuerpo anti-HA marcado con FITC (panel derecho) o DAPI (DNA) (panel izquierdo) de Gal83-HA. Las células se trataron con +/- 10 µM de rapamicina un máximo de 3 horas.

La Figura 11 muestra que Rtg2 se requiere para los niveles óptimos de K14ac, pero K14ac es sensible a la rapamicina en una cepa *rtg2Δ*. Las transferencias en membranas de Western muestran los niveles de modificaciones en la H3 (a) y Gcn5 (b) en extractos celulares totales preparados a partir de las cepas indicadas en el antecedente BY4741. Las células se trataron con +/- 10 µM de rapamicina un máximo de 3 horas. Rtg2 está regulado negativamente por el componente Lst8 del TORC1<sup>66</sup> y esta represión se alivia con la pérdida de la señalización del TORC1 o el tratamiento con rapamicina. Rtg2 es un componente de SLIK<sup>11</sup> que se requiere para la inducción de los genes de respuesta retrógrada en células quiescentes.

La Figura 12 muestra el efecto de la pérdida de Sch9 en la inducción de *CIT2*, *ATG1* y *ACS1* en fase estacionaria. Esta figura muestra la cuantificación por PCR en tiempo real de la transcripción inversa del RNA para los genes mostrados. Los resultados sugieren que Sch9 se requiere para mantener la integridad de SALSA y SLIK en cultivos de fase estacionaria. De acuerdo con esto, se demostró que la inducción de *ACS1* es independiente de Sch9 (los datos en la figura 9 sugieren que este gen depende de la absorción nuclear dependiente de Rtg2 de Rtg1/3 pero no de SLIK). Por el contrario, *CIT2* (dependiente de SLIK/Rtg2) y *ATG1* (SALSA pero no dependiente de SLIK) requieren Sch9 para su expresión.

La Figura 13 es una transferencia en membrana de Western que muestra que la interrupción del complejo SAGA resulta en un aumento de la acetilación de H3K18.

La Figura 14 es un gráfico que muestra que la interrupción de SAGA extiende la vida útil cronológica de las células de la levadura.

La Figura 15 es un gráfico que muestra que la interrupción de la acetilación de H3K18 resulta en una reducción significativa en la vida útil cronológica de las células de levadura.

#### Materiales y Métodos

Los detalles de las cepas se proporcionan en la Tabla 1. Las levaduras se cultivaron a 30 °C en medio rico (YPD), 1 % de bactopectona, 1 % de extracto de levadura Difco (BD y Co.), 2 % glucosa hasta una densidad de 0.4 x 10<sup>6</sup> células/ml y se trataron con 10 µM rapamicina en 90 % de etanol/10 % Tween20 o tratamiento de prueba un máximo de tres horas. Los detalles para la preparación de los extractos de las células enteras, transferencias en membranas de western y anticuerpos usados, preparación de RNA y cuantificación de RNA, inmunoprecipitación de cromatina (ChIP), protocolos para el envejecimiento, evaluación de ERC y ensayos cronológicos de envejecimiento se exponen a continuación.

Tabla 1

Cepa	Padre	Genotipo	Origen
RMY200 WT		<i>MATa</i> ; <i>ade2-10;1 his3Δ200; lys2-801; trp1Δ901; ura3-52; hht1,hhf1::LEU2; hht2,hhf2::HIS3</i> más pRM200 ( <i>CEN TRP1 HHF2 HHT2</i> )	Michael Grunstein
H3 K14R	RMY200	Más pRM200 ( <i>hht2 K14R</i> )	Michael Grunstein
H3 K18R	RMY200	más pRM200 ( <i>hht2 K18R</i> )	Michael Grunstein
YSL151 WT		<i>ura3-5; his3Δ20; leu2Δ; trp1Δ63 lys2-128Δ(hht1-hhf1)::LEU2; (hht2-hhf2)::HIS3; pTRP1-HHT2-HHF2</i>	Shelley Berger
H3 K4A	YSL151	Más pTRP1 ( <i>hht2 K4A</i> )	Shelley Berger
YZS276		<i>MATa; hta1-htb1Δ::LEU2 hta2-htb2Δ leu2-3,-112 his3-11,-15 trp1-1 ura3-1 ade2-1 can1-100</i> (pZS145 <i>HTA1-Flag-HTB1 CEN HIS3</i> )	David Allis
H2B K123R	YZS276	Más pZS14 ( <i>htb1 K123R</i> )	David Allis
LPY8056		<i>MATa; his3Δ200; leu2Δ1; ura3-52; trp1Δ63; lys2-128δ; (hht1-hhf1)Δ::LEU2</i> más pRS314B ( <i>HHF2 HHT2</i> )	Shelley Berger



ES 2 647 081 T3

	H3 S10A	LPY8056	Más PRS314B (hhf2 S10A)	
	H3 K14A	LPY8056	Más PRS314B (hhf2 K14A)	Shelley Berger
	H3 S10A K14A	LPY8056	Más PRS314B (hhf2 S10A K14A)	Shelley Berger
	BY4741		MATa; his3Δ; leu2Δ; met15Δ; ura3	Euroscarf
5	gcn5Δ	BY4741	gcn5::KanMX	Euroscarf
	spp1Δ	BY4741	spp1::KanMX	Euroscarf
	S288c		MATa; his3Δ1; leu2Δ0; met15Δ0; ura3Δ0	Open Biosystems
10	fpr1Δ	BY4741	fpr1::KanMX	Euroscarf
	fpr2Δ	BY4741	fpr2::KanMX	Euroscarf
	fpr3Δ	BY4741	fpr3::KanMX	Euroscarf
	fpr4Δ	BY4741	fpr4::KanMX	Euroscarf
15	rim15Δ	BY4741	rim15::KanMX	Euroscarf
	rtg2Δ	BY4741	rtg2::KanMX	Euroscarf
	msn2Δ	BY4741	msn2::KanMX	Euroscarf
20	msn4Δ	BY4741	msn4::KanMX	Euroscarf
	snf1Δ	BY4741	snf1::KanMX	Euroscarf
	sch9Δ	BY4741	sch9::KanMX	Euroscarf
25	dot1Δ	By4741	dot1::KanMX	Euroscarf
	L5487		MATa, ura3-52, leu2::hisG	Aaron Mitchel
	sch9Δ	L5487	sch9::URA3	Paul Nutton
30	Gal83-HA	BY4741	GAL83-HA-His3MX6	Este estudio
	Gcn5-HA	JR-52A	Más pRS314 (GCN5 3HA::his5+)	Shelley Berger
	spt20Δ	BY4741	spt20::KanMX	Euroscarf
35	spt8Δ	BY4741	spt8::KanMX	Euroscarf
	FY3		MATa ;ura3Δ0	Fred Winston
	FY2030 HA-Spt7	FY3	MATa; ura3Δ0; leu2Δ1; trp1Δ63; his4-917 δ; lys2-173R2 HA-SPT7-URA3	Fred Winston
40	HA-Spt7 snf1Δ	FY2030	snf1::KanMX	Este estudio
	HA-Spt7 sch9Δ	FY2030	sch9::KanMX	Este estudio
	FY168		M4Ta; leu2Δ1; his4-917 δ; lys2-173R2	Fred Winston
45	FY168 rtg2Δ		rtg2::KanMX	Este estudio
	FY571 spt7-217		MATa; ura3Δ0; leu2Δ1; trp1Δ63; his4-917 δ; lys2-173R2 spt7-217	Fred Winston
50	FY571 rtg2Δ	spt7-217	rtg2::KanMX	Este estudio

Preparación de extractos de células enteras de levadura.

25 ml de células se cultivaron en YPD a una DO de ~0.4 A<sub>600</sub> y se recogieron por centrifugación. Para las células tratadas con rapamicina, las células se cultivaron hasta la mitad del logaritmo seguido por la adición de 10 μM rapamicina (Sigma R0395-1MG) un máximo de 3 horas y se recogieron mediante centrifugación. Los sedimentos celulares se resuspendieron en 300 μl de 8 M urea y se rompieron mediante agitación en vórtex durante 5 minutos seguido de la adición de 200 μl de perlas de vidrio lavadas con ácido (Sigma). Los lisados se hirvieron durante 5 minutos en tampón de carga laemmli estándar.

60

Transferencia en membrana de Western

Los extractos de las proteínas se sometieron a electroforesis en geles de poliacrilamida mediante el uso de tampón de operación de Tris-glicina estándar (40 % (w/v) de glicina, 0.25 M Tris-base, 10 % (w/v) SDS) a continuación se calentaron a 90 °C durante 3 min. Las proteínas se transfirieron a una membrana de nitrocelulosa mediante el uso de la transferencia semiseca (Bio-Rad). La transferencia exitosa de la proteína se verificó por tinción con Ponceu S (0.1 % Ponceu, 5 % ácido

65

acético). Las membranas se bloquearon después en PBS que contenía 5 % de leche en polvo o BSA durante 1 hora, a continuación la incubación con anticuerpo primario: 1:3000 anti-H3 (Abcam ab1791), 1:5000 anti-H3 K9ac (Upstate 07-352), 1:3000 anti-H3 K14ac (Upstate 07-353), 1:5000 anti-H3 K18ac (Upstate 07-354), 1:10,000 anti-H3 K23ac (Upstate 07-355), 1:3000 anti-H3 K27ac (Upstate 07-360), 1:5000 anti-H3 K4me1 (Upstate 07-436), 1:2000 anti-H3 K4me2 (Upstate 07-030), 1:5000 anti-H3 K4me3 (Upstate 07-473), 1:500 anti-Gcn5 (Santa Cruz sc-9078), 1:5000 anti-Tubulina (Abcam ab6160), 1:1000 Anti-HA (Roche clon 3F10 11867423001) en 5 % leche en polvo/PBS/0.5 % Tween 20. Las membranas se lavaron después durante 6 x 5 min en PBS y se incubaron durante 1 hora con anticuerpo secundario conjugado con peroxidasa de rábano picante en 5 % leche en polvo/PBS/0.5 % Tween 20, y se lavaron durante 6 x 5 min en PBS/0.5% Tween 20. El anticuerpo unido se visualizó mediante el uso de un estuche de quimioluminiscencia Pico West (Pierce Biotechnology Ltd) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Múltiples exposiciones de cada película se realizaron para garantizar que las señales detectadas no estuvieran saturadas. Cada experimento se repitió al menos 3 veces.

#### Extracción de RNA y transferencia en membrana de Northern.

La extracción de RNA se realizó mediante el uso de la extracción con fenol caliente. Se separaron 15 µg de RNA total en geles de formaldehído al 1.1 % y se transfirieron a membranas de nylon Magna y se hornearon a 80 °C durante 2 horas. Las membranas se bloquearon mediante incubación con PerfectHyb Plus (Sigma) durante 2 horas a 65 °C. Las membranas se expusieron típicamente durante 24 horas a menos que se indicó lo contrario. Los niveles de RNA total cargado se controlaron por las especies de rRNA, que son iguales en todas las muestras a menos que se indique.

#### Aislamiento de levadura a 10 o 20 generaciones de crecimiento.

1 x 10<sup>8</sup> células de un cultivo a una OD<sub>600</sub> de 0.2 se lavaron en PBS, se biotinizaron con 3 mg de sulfo-NSH-LC-biotina a temperatura ambiente durante 15 minutos, se lavaron 6 veces con PBS y se añadieron a 1 litro de YPD precalentado que contuvo 2.5 % de glucosa y se incubó durante 10 generaciones. Las células cosechadas se lavaron en PBS. Se añadieron 400 µl de perlas de estreptavidina y se incubaron con las células en hielo durante 2 horas en PBS. Un clasificador magnético se usó para seleccionar las perlas con células biotiniladas unidas durante 20 minutos en hielo con mezcla ocasional. La mezcla se lavó y se volvió a seleccionar cinco veces mediante el uso de PBS. Las células clasificadas se añadieron a un segundo litro de YPD precalentado y se cultivaron durante 10 generaciones adicionales, se clasificaron y se lavaron exactamente como antes. La proteína o el DNA se aisló de la levadura mediante el uso de la urea y las perlas de vidrio (ver anteriormente) para su análisis mediante transferencia en membrana de Western o mediante la preparación de esferoplastos y la extracción de DNA total por extracción con fenol cloroformo exactamente como se describió<sup>51</sup>. El extracto del DNA total se separó en un gel de agarosa al 0.8 %. El DNA se visualizó mediante hibridación con sondas radiomarcadas.

#### Marcaje de la levadura con metionina 35S.

Los cultivos exponenciales en medio completo sintético con glucosa se trataron con o sin cicloheximida (250 µg/ml en 10 ml de cultivo), y la incubación se continuó durante 5 min antes de la incubación de 15 min con 100 µCi de [<sup>35</sup>S]metionina (PerkinElmer Life Sciences). La proteína total se separó en un gel de SDS-PAGE al 10 o 15 %. El gel se trató después con Enlightening (PerkinElmer Life Sciences), se secó y se expuso a una película de rayos X durante 40-72 h.

#### Microscopía.

Las células en crecimiento exponencial o después de 2.5 días en cultivo (fase estacionaria) se incubaron con el colorante sensible de potencial de membrana yoduro de 3,3'-dihexiloxacarbocianina (DiOC6) obtenido de Molecular Probes a una concentración de 20 ng/ml durante 30 minutos, se lavaron en PBS y se visualizaron mediante el uso de la exposición de 1000 ms (células exponenciales) o 250 ms (células de fase estacionaria) el canal FITC en un microscopio de fluorescencia Olympus IX-81 con una lámpara de mercurio xenón de 150 W y un objetivo de aceite de inmersión Plan NeoFluor de 150X de Olympus. Las imágenes de campo brillante (DIC) se capturaron para cada campo.

#### Optimización de las condiciones para tratar las células con rapamicina

Las células en fase exponencial de crecimiento se trataron con 10 µM de rapamicina en 90 % etano/10 % Tween 20 un máximo de 180 minutos y se examinaron los niveles de H3K14ac e histona H3. Alternativamente, las células se trataron con rapamicina hasta 20 µM durante 30 minutos. Un conjunto estándar de condiciones se determinó y para todo el trabajo en este documento el tratamiento involucrado de las células que crecían exponencialmente (0.4 x 10<sup>7</sup> célula/ml) durante 2 a 3 horas con 10 µM rapamicina.

Ensayo que muestra la dependencia de las modificaciones postraduccionales a la histona H3 en la integridad de los factores conocidos que se conoce que influyen en las modificaciones de la histona H3.

Los extractos celulares totales se prepararon a partir de células LPY8056 que expresan la histona H3 con alanina (A) sustituciones en S10 o K14 o ambos residuos, BY4741 que porta delecciones de *SPP1*, que codifica un factor requerido específicamente para H3K4me3<sup>52</sup> o *DOT1*, la metiltransferasa para H3K79<sup>53,54</sup>, o YZS276 que porta una sustitución en H2BK123<sup>55</sup>, que se requiere para H3K4me2 y H3K4me3. Las modificaciones de las lisinas en la histona H3 se controlaron

mediante transferencia en membrana de Western de los extractos proteicos celulares totales mediante el uso de anticuerpos específicos para cada modificación.

5 La HA-Spt7 se somete a procesamiento del C-terminal en las células que entran en fase estacionaria o se tratan con rapamicina.

10 Para estos experimentos se usó la cepa FY2030, que expresa una versión marcada en el N terminal de Spt7 del locus *SPT7* y FY3, un control no marcado (n=9 para **a**). Las células **a** se cultivaron en YDP hasta la fase semilogarítmica, la fase postdiaúxica o la fase estacionaria temprana y se prepararon los extractos proteicos totales, se sometieron a transferencia en membrana de Western mediante el uso del anticuerpo monoclonal 3F10 para revelar el epítipo HA. Se muestran las posiciones de los marcadores de peso molecular y una transferencia desarrollada para revelar los niveles de histona H3 que actuó como un control de carga. Se presentan tres formas de alto peso molecular de HA-Spt7, consistentes con Spt7 de longitud completa en SAGA, una forma truncada en C-terminal donde faltan aproximadamente 200 aa que se encuentran en SLIK y la forma 3 cuya función no se conoce<sup>27,25</sup>. Además, una forma que migra a 50 kDa es evidente además en estas y otras preparaciones cuando caen los niveles de Spt7 de longitud completa. **b** Una repetición del experimento mostrado arriba que muestra una versión truncada del C-terminal más extensa de Spt7 en las tres condiciones de crecimiento. Aproximadamente tres de nueve experimentos muestran un perfil como este, mientras que seis muestran bandas más discretas como en **a**.

20 Inmunofluorescencia indirecta

El estado de acetilación/metilación de una célula se evaluó mediante el uso de la inmunofluorescencia indirecta de acuerdo con el siguiente protocolo. Usar 10-50 ml de un cultivo semilogarítmico fresco de células por muestra. Preparar formaldehído fresco al 30 % (3g p-formaldehído en 5 ml de PEM, añadir 4M NaOH hasta que se disuelva y completar hasta 10 ml con PEM) y añadir 1/10<sup>th</sup> volumen de formaldehído al 30% al cultivo con agitación (en matraz cónico). Añadir 30 s más tarde, solución de gluteraldehído a una concentración final de 0.2m % (w/v). Agitar a temperatura de incubación durante 90 min. Centrifugar las células 2K 5 min y después lavar 3X en PBS o PEM (100 mM Pipes pH 6.9; 1 mM EGTA, 1 mM Mg2SO4). Resuspender las células en 10 ml de PEMS (PEM en 1M Sorbitol) y agregar 500 µl de la enzima lítica de levadura ICN (10 µg/ml). Incubar a 37 °C hasta que se digiera ~80 % de las células (alrededor de 15 min). Lavar 3 veces en 10 ml de PEMS. Resuspender en 10 ml de Triton X100 al 1 % en PEM durante 30 s. Lavar 3X en 10 ml de PEM. Evaluar aproximadamente el volumen del sedimento final. Resuspender en 2 ml de PEMBAL (PEM, 0.1 M L-lisina, 1 % BSA (sin globulina), 0.1 % Azida Na) y transferir un volumen que dará un sedimento de 20-30 µl en un centrifugado subsiguiente a cada uno de los 2 tubos Eppendorf. Colocar en una rueda giratoria durante 30 min a temperatura ambiente. Centrifugar durante 10 sec. Resuspender en 50 µl de anticuerpo primario en PEMBAL (dilución adecuada de prueba) e incubar durante 16 horas en la rueda giratoria. Lavar 3X en 1 ml de PEMBAL. Resuspender en 1 ml de PEMBAL y girar en una rueda durante 30 min. Resuspender en 50 µl de anticuerpo de cabra anti-ratón Texas Red a 20 mg/ml en PEMBAL. Incubar 16 horas en la rueda giratoria. Lavar 3X en PEMBAL. Resuspender el sedimento en 100 µl de PEMBAL y montarlo en cubreobjetos recubiertos con poli L-Lisina. Secar con secador de pelo e invertir en 1 µg/ml DAPI en 100 % de glicerol si se requiere. Usar alternativamente, un anticuerpo secundario FITC a 1/200 e incubar durante 1 hora a temperatura ambiente en una rueda. N.B. cubrir los tubos con papel de aluminio durante las incubaciones con el anticuerpo secundario. Visualizar después las células.

### Ejemplos

45 H3K14ac por SAGA refleja el crecimiento

El tipo de modificación postraduccional en los componentes de la histona de la cromatina a menudo refleja si los genes están activos o reprimidos y estos los cambios están regulados globalmente por enzimas que depositan o eliminan modificaciones específicas. En genes activos, la cromatina a menudo se modifica por la acetilación (ac) de la lisina (K) o la metilación (me), particularmente en la histona H3<sup>27</sup>. Para identificar las modificaciones postraduccionales en la histona H3 que reflejan el crecimiento celular, se prepararon extractos proteicos totales de levadura en fase estacionaria temprana. Las diferencias grandes y reproducibles en las señales en las transferencias membrana de Western permiten correlacionar los cambios en la acetilación y la metilación con la fisiología celular. Las células en fase estacionaria muestran reducciones en K14ac, K18ac y la trimetilación (me3) de K4 que no son una consecuencia de la detención del ciclo celular (Figura 5). Los cambios son similares en las células en crecimiento exponencial tratadas con la rapamicina de macrólido, que bloquea el crecimiento y la proliferación<sup>14</sup> (Figura 1 a y 10-11), lo que sugiere que la presencia de estas modificaciones refleja la capacidad proliferativa de las células.

60 Gcn5 es la principal acetiltransferasa para K14 y K18 (Figura 1b). Además, la K14ac sensible a la rapamicina detectable mediante transferencia en membrana de Western está mediado por Gcn5 en SAGA (Figura 1c). Las cepas que carecen de Spt8, específicas para SAGA<sup>22</sup> o Spt20, que se requieren para la integridad de SAGA y SLIK/SALSA<sup>23,31,32</sup>, tienen bajos niveles de K14ac que no cambian de forma detectable cuando se tratan con rapamicina. A diferencia, K14ac es resistente a la rapamicina en una cepa que carece de Ubp8, un componente de SAGA con actividad proteasa ubiquitina requerida para procesar la región C-terminal de Spt7<sup>23,25</sup> (Figura 1b). Las transferencias en membranas de Western que muestran los niveles de modificaciones en la H3 en extractos celulares totales preparados a partir de las cepas indicadas en el antecedente BY4741 se muestran en las figuras 1c- e. Las células se trataron con +/- 10 µM de rapamicina un

máximo de 3 horas. Una cepa que expresa Spt7 que carece de la 213aa C-terminal, conocida como Spt7-217<sup>33</sup> muestra además K14ac resistente a la rapamicina, lo que sugiere que SLIK y SALSA son resistentes a la rapamicina (Figura 1e). Es importante señalar que en esta cepa, la Spt7 truncada se expresa en niveles similares a Spt7<sup>33</sup> de longitud completa, por lo tanto, los altos niveles de K14ac. Los niveles de Spt7 truncado en SLIK y SALSA son normalmente mucho más bajos que Spt7 de longitud completa y hacen una contribución mínima a los niveles globales de K14ac<sup>22,23,25</sup>. Además, esta resistencia a la rapamicina es consistente con los roles en la expresión activada, pero no basal, de los genes de la caja TATA<sup>34</sup> que funcionan para promover el crecimiento cuando se agota la glucosa<sup>18,21</sup> (Figura 6). Además, esto implica el 213aa C-terminal de Spt7 en la sensibilidad a la rapamicina de K14ac por SAGA como Spt8, una subunidad específica de SAGA, se recluta a través de esta región<sup>22,23</sup>. De este modo, la rapamicina puede tener efectos diferenciales sobre SAGA y SLIK/SALSA. SAGA está activo en células cultivadas de glucosa mientras que SLIK y SALSA están activos en células limitadas de nutrientes cuando se reduce la señalización de TORC1 (Figura 6).

La cepa FY168 WT ha sido diseñada para expresar solamente Spt7 que contiene un truncamiento C-terminal (FY571 Spt7-217) similar al encontrado naturalmente en el complejo SLIK/SALSA. La proteína Spt7 se expresa en niveles similares a Spt7<sup>10</sup> de longitud completa. Se investigaron los niveles de K14ac en esta cepa y la influencia de Rtg2, el regulador retrógrado y el componente de SLIK sobre la actividad de esta cepa. La Figura 6a muestra que el K14ac no se reduce significativamente en esta cepa cuando se introduce una delección de *RTG2*. Rtg2 se requiere para la actividad HAT dirigida de H3 del complejo<sup>11</sup>. Esto puede reflejar los niveles naturalmente bajos de SLIK en células en comparación con este complejo. Además, se probaron las respuestas transcripcionales (mediante el uso de la transcripción inversa acoplada a PCR en tiempo real mediante el uso de cebadores a los loci indicados; No indica reacción sin adición de RTasa a la reacción para controlar la contaminación del DNA) en esta cepa en crecimiento exponencial (log) y en fase estacionaria temprana (Stat o SP). Los niveles de transcripción se normalizaron a U4snRNA. Los niveles de este transcrito caen a la mitad en las células de fase estacionaria (datos no mostrados). **b** Los niveles de transcripción de rDNA, controlados mediante el uso de un conjunto de cebadores a la región intergénica entre las regiones 25S y 18S, se reducen más de 7 veces en fase estacionaria. **c** El gen de respuesta retrógrada *CCIT21*<sup>12</sup> se induce en las células de fase estacionaria y depende de Rtg2 en los antecedentes WT Spt7 (FY168) y Spt7-217 (FY571), como se esperaba. **d** La inducción de ACS1, que codifica la sintasa CoA de acetil mitocondrial, se induce en la fase estacionaria y depende de Rtg2. En las células que contienen altos niveles del complejo SLIK/SALSA, el gen no se induce. SLIK/SALSA puede reprimir la expresión de ACS1 o alternativamente, los altos niveles de SLIK/SALSA pueden secuestrar Rtg2 creando un *RTG2* nulo. **e** La inducción de *ATG1*, un regulador de la autofagia<sup>13</sup>, otra respuesta inducida por inanición, muestra no dependencia de Rtg2. En lugar de ello, las cepas que expresan Spt7-217 muestran un aumento de más de dos veces en los niveles de mRNA de *ATG1* bajo condiciones de inanición lo que sugiere un papel para el complejo de SALSA. Los patrones de expresión de estos tres genes pueden definir cómo los complejos SLIK/SALSA contribuyen a la regulación génica. Se propone que *ATG1* es dependiente de SALSA e independiente de SLIK y Rtg2. A diferencia, *CIT2* requiere el complejo SLIK para su activación mientras que ACS1 depende de Rtg2 pero no de SLIK (la función de Rtg2 para regular la absorción nuclear de Rtg1/3 como activadores). La expresión en una serie de otros loci se controla además (*f-i*) en la fase logarítmica. Las modificaciones de las lisinas en la histona H3 se controlan mediante transferencia en membrana de Western de los extractos proteicos totales mediante el uso de anticuerpos específicos para la modificación o la proteína indicada. n=2 para cada experimento. La proteína total y el RNA se prepararon a partir de los mismos cultivos para el experimento mostrado.

Una versión marcada de HA de N terminal de Spt7 se usó para examinar sus niveles y la integridad en células tratadas con rapamicina (Figura 1f) o en células en fase estacionaria (Figura 7). Los niveles reducidos y el truncamiento del C-terminal de Spt7 se producen en ambas condiciones y, al comprometer la integridad de SAGA<sup>23</sup>, se explica la reducción de K14ac. De este modo, la integridad de SAGA está controlada por el truncamiento del C-terminal de Spt7 que ocurre cuando las células entran en fase estacionaria o en el tratamiento con rapamicina. Los niveles de Gcn5, pero no su RNA<sup>18</sup>, caen además significativamente en las células WT tratadas con rapamicina (Figura 1g). A diferencia, los niveles de Gcn5 son más altos en las células tratadas con rapamicina que expresan Spt7-217 (Figura 1h). De este modo, la reducción en Gcn5 es probable que sea una consecuencia del truncamiento C-terminal y la reducción en los niveles de Spt7.

SAGA disminuye con la edad en las células en crecimiento

Los datos sugieren que la actividad de SAGA es un marcador del crecimiento y la proliferación. A medida que las células envejecen, tanto la capacidad proliferativa como la función mitocondrial se reducen. Experimentos se llevaron a cabo para evaluar si SAGA cambia durante el envejecimiento mediante la evaluación de los niveles en células jóvenes (generalmente <5 generaciones de edad) en comparación con las células después de 10 o 20 generaciones de crecimiento. A medida que las células envejecen, los niveles de K14ac caen (Figura 2a) y esto se asocia con una disminución general de los niveles de HA-Spt7, en particular, una caída en HA-Spt7 de longitud completa y formas truncadas aumentadas de HA-Spt7 que apoyan la pérdida de la función de SAGA durante el envejecimiento (Figura 2b). A diferencia, en la cepa que expresa solo Spt7 truncado C-terminalmente (Spt7-217), K14ac no cae en las células viejas (Figura 2c). Las preparaciones proteicas totales se realizaron a partir de células jóvenes o las células biotiniladas después de 20 generaciones de crecimiento en fase exponencial en medio rico, aisladas mediante el uso de perlas magnéticas de estreptavidina. La transferencia en membrana de Western de los niveles de K14ac en extractos proteicos totales preparados a partir de FY168 (WT) y FY571 que expresan Spt7-217. Los niveles de histona H3 se evaluaron para controlar la carga. Puede verse en la Figura 8 que hay diferencias en la cantidad de proteína aislada. Los niveles de K14ac caen en la cepa WT vieja pero no en la cepa que expresa Spt7-217, lo que sugiere que la región C-terminal de Spt7 se requiere para la

reducción en K14ac y que la SAGA es el objetivo de esta regulación. Tenga en cuenta que en esta preparación hay menos "recortes" de histonas evidente que en otros experimentos (Ver Figura 2a). Estas células contienen además niveles aumentados de una forma más pequeña de histona H3, posiblemente recortada<sup>36</sup>. Esto sugiere que el mecanismo por el cual SAGA y K14ac se reducen a medida que las células envejecen es similar al que se produce en las células tratadas con rapamicina e implica el procesamiento de la región C-terminal de Spt7.

TORC1 mantiene K14ac en las células en crecimiento

Se pensó definir cómo la rapamicina influye en la acetilación por SAGA. Hay cuatro objetivos de la rapamicina en la levadura, Fpr1-4<sup>37</sup>. En presencia de la rapamicina, Fpr1 inhibe las funciones asociadas con las quinasas relacionadas con PI3 Tor1 o Tor2 dentro del complejo TORC1<sup>38</sup>. Esto apoya la señalización dependiente de TORC1 que controla los niveles globales de K14ac, K18ac y K4me3 al mantener la función SAGA en células proliferativas. La inhibición de TORC1 por la rapamicina durante las etapas tempranas del crecimiento resulta en la regulación positiva de genes regulados por SLIK/SALSA que promueven la respiración eficiente de la glucosa y la resistencia al estrés (Figura 9)<sup>20,39</sup>. Como puede verse en la Figura 9b, los niveles de la expresión de *CIT2*, regulada por el complejo TORC-1 aumentan con la adición de rapamicina.

AMPK se considera generalmente que regula negativamente la mTOR de mamífero, que resulta en una regulación negativa de la señalización de TORC1 cuando la glucosa escasea y aumentan los niveles intracelulares de AMP<sup>63</sup>. La levadura AMPK Snf1 como puede verse en la figura 10 puede funcionar de forma similar a la requerida para la reducción dependiente de rapamicina en K14ac (**a**). Los niveles de K14ac en una cepa *snf1Δ* se reducen a aproximadamente 50 % de aquellos en una cepa WT, debido a la fosforilación dirigida de Snf1 de la serina 10 en la histona H3 que promueve la acetilación de K14 mediante Gcn5<sup>64</sup>. Es importante destacar, que K14ac (**a**) y Gcn5 (**b**) y algunos de HA-Spt7 en la célula (**c**) son resistentes a la rapamicina en la cepa *snf1Δ*. Tenga en cuenta que la quinta banda\* está cargada en **c**. Tenga en cuenta que la integridad de S10 en la histona H3, fosforilada por Snf1, no influye en la sensibilidad a la rapamicina de K14ac, a pesar de que con *snf1Δ*, el nivel de K14ac se reduce en este antecedente (**d**). Se cuestiona si Snf1 está funcionando en el núcleo o el citoplasma. Gal83 se requiere para la absorción nuclear de Snf1<sup>65</sup> y Gal83 marcado de HA se mueve del citoplasma al núcleo en las células tratadas con rapamicina como se demostró por inmunofluorescencia indirecta en las células fijadas (**e**). Sin embargo, la relación entre Gal83 y Snf1 no es sencilla como las cepas *gal83Δ* muestran los niveles de WT de K14ac en las células no tratadas y cierta resistencia a la rapamicina (**f**). Los resultados similares se observaron para la proteína Gcn5 en la cepa *gal83Δ* (**g**). De este modo, parece que Gal83 se requiere para la reducción dependiente de rapamicina en K14ac y Gcn5 lo que sugiere que esta es una función nuclear para Snf1.

SLIK controla la CLS a través de Rtg2

Se examinó el potencial de membrana mitocondrial ( $\psi$ ) y la CLS en la cepa que expresa Spt7 truncado solamente (Spt7-217), y de este modo expresa niveles altos de complejos SLIK/SALSA durante el crecimiento exponencial. Tanto  $\psi$  (Figura 4a) como la CLS promedio (Figura 4b) aumentan en comparación con la WT pero la cepa parece después experimentar una pérdida rápida y completa de viabilidad alrededor del día 12 en cultivo que puede reflejar desequilibrios en los patrones de la expresión génica. Rtg2 se reprime mediante el complejo TORC1<sup>26</sup> y tiene al menos dos funciones distintas, una como regulador de la respuesta retrógrada y una segunda como un componente de SLIK<sup>13</sup>. Los niveles altos de Spt7 truncado pueden provocar el secuestro de Rtg2 en un complejo SLIK, lo que resulta en un *rtg2* nulo para otras funciones. En apoyo de esto, una cepa *rtg2* muestra un aumento del  $\psi$  en la fase exponencial (Figura 4a), aumento de la síntesis proteica mitocondrial (Figura 4c) y mejoramiento de la CLS (Figura 4b). Esto sugiere que Rtg2 funciona para reprimir la función mitocondrial cuando TORC1 está activo y que la formación de SLIK está relacionada con la señalización TORC1 reducida, lo que lleva al truncamiento de Spt7 y al alivio de la represión dependiente de Rtg2 de la respiración. Esto proporciona una forma adicional de extender la CLS. Es interesante, que tanto Spt7 como Rtg2 se informa que son proteínas asociadas mitocondrialmente<sup>13,47</sup>. Finalmente, se mostró que el aumento más marcado en la CLS se observa cuando RTG2 es eliminado de FY571 (Spt7-217) (Figura 4b), lo que tal vez refleja una fuerte inducción de genes para la autofagia, conocida por prolongar la vida útil, mediante SALSA, ya que es Rtg2 independiente. Se debería señalar que este fenotipo *rtgΔ* puede producirse además mediante la adición de inhibidores de la respiración mitocondrial.

En resumen, se muestra que la familia SAGA de los reguladores transcripcionales controla el equilibrio entre el crecimiento y la vida útil cronológica. Los cambios metabólicos que resultan en una regulación positiva o negativa de la respiración se controlan diferencialmente mediante la señalización de TORC1 y Sch9 a estos complejos. TORC1 coordina la función mitocondrial con la expresión génica a través las actividades de Spt7 y Rtg2 y la modificación de la cromatina en K14 en la histona H3, lo que proporciona una señalización TORC1 a SAGA y SLIK mecanismo altamente eficiente por el cual las células cambian el destino para controlar el equilibrio entre el crecimiento y la longevidad.

La interrupción de SAGA resulta en una acetilación de H3K18 aumentada y una extensión en la vida útil cronológica.

La Figura 13 es una transferencia en membrana de Western que muestra el aumento de la acetilación de H3K18 en cepas en las que se ha interrumpido el complejo SAGA. Como puede verse en las filas superiores de ambos paneles, la cantidad de H3K18ac presente en extractos de levadura de células enteras en las manchas en las que el complejo SAGA se ha

interrumpido se incrementa en comparación con el tipo silvestre. Las cepas que se usaron en estos experimentos fueron ya sea  $\Delta$ SPT8 o Spt7 truncada.

5 La Figura 14 muestra que las cepas de *S. cerevisiae* que tienen un complejo SAGA interrumpido tienen una vida útil cronológica aumentada. Como se muestra en la figura, las cepas FY631 y FY2030 son de tipo silvestre, la cepa FY571 expresa una proteína Spt7 truncada que carece de la región Spt7 específica de SAGA, la cepa FY2037 es  $\Delta$ SPTS (Wu, P.Y. y Winston, F., Mol Cell Biol., 22(15), p5367-5379). La vida útil se determinó como se describe en Murakami, C. y Kaeberlein, M., (2009) J. Vis. Exp., 27. En resumen, la vida útil cronológica de la levadura se refiere al perfil de viabilidad de un cultivo de levadura envejecido a lo largo del tiempo. Un cultivo de levadura se cultiva en medio líquido hasta que la fuente de carbono de la glucosa se agota y las células dejan de dividirse. En este punto, la proporción de células que están vivas y son capaces de dividirse se mide al observar las características del crecimiento de un inoculado fresco del cultivo envejecido mediante el uso de una máquina Bioscreen C. Las viabilidades en puntos de tiempo diferentes se comparan para determinar la vida útil cronológica del cultivo.

15 La Figura 15 muestra que en un mutante H3K18Q en el cual la acetilación en esta posición se interrumpe la vida útil cronológica, como medida mediante el uso del método anterior, se reduce en comparación con el tipo silvestre. En la cepa de levadura H3K18Q, ambas copias endógenas del gen H3 han sido eliminadas y reemplazadas por una copia única del gen H3 que contiene una sustitución de la lisina 18 por glutamina. En la cepa de tipo silvestre que se muestra en la figura, los genes H3 eliminados han sido reemplazados por una sola copia salvaje del gen.

20 Diferentes modificaciones o variaciones de los métodos descritos y sistemas de la presente invención serán evidentes para aquellos con experiencia en la técnica sin apartarse del alcance de la presente invención como se definió en las reivindicaciones anexas.

25

## Referencias

- 1 De Virgilio, C. y Loewith, R., Cell growth control: little eukaryotes make big contributions. *Oncogene* 25, 6392-6415 (2006).
- 5 2 Martin, D. E. y Hall, M. N., The expanding TOR signaling network. *Curr Opin Cell Biol* 17, 158-166 (2005).
- 3 Rohde, J. R., Bastidas, R., Puria, R. y Cardenas, M. E., Nutritional control via Tor signaling in *Saccharomyces cerevisiae*. *Curr Opin Microbiol* 11, 153-160 (2008).
- 4 Ljungdahl, P.O., Amino-acid-induced signalling via the SPS-sensing pathway in yeast. *Biochem Soc Trans* 37, 242-247 (2009).
- 10 5 Wullschleger, S., Loewith, R. y Hall, M. N., TOR signaling in growth and metabolism. *Cell* 124, 471-484 (2006).
- 6 Bonawitz, N. D., Chatenay-Lapointe, M., Pan, Y. y Shadel, G. S., Reduced TOR signaling extends chronological life span via increased respiration and upregulation of mitochondrial gene expression. *Cell metabolism* 5, 265-277 (2007).
- 7 Fabrizio, P., Pozza, F., Pletcher, S. D., Gendron, C. M. y Longo, V. D., Regulation of Longevity and Stress Resistance by Sch9 in Yeast. *Science* 292, 288-290 (2001).
- 15 8 Powers, R. W., 3rd, Kaerberlein, M., Caldwell, S. D., Kennedy, B. K. y Fields, S., Extension of chronological life span in yeast by decreased TOR pathway signaling. *Genes Dev* 20, 174-184 (2006).
- 9 Kaerberlein, M. y otros, Increased life span due to calorie restriction in respiratory-deficient yeast. *PLoS Genet* 1, e69 (2005).
- 10 Lavoie, H. y Whiteway, M., Increased respiration in the sch9Delta mutant is required for increasing chronological life span but not replicative life span. *Eukaryot Cell* 7, 1127- 1135 (2008).
- 20 11 Medvedik, O., Lamming, D. W., Kim, K. D. y Sinclair, D. A., MSN2 and MSN4 link calorie restriction and TOR to sirtuin-mediated lifespan extension in *Saccharomyces cerevisiae*. *PLoS Biol* 5, e261 (2007).
- 12 Kim, D. H. y otros, mTOR interacts with raptor to form a nutrient-sensitive complex that signals to the cell growth machinery. *Cell* 110, 163-175 (2002).
- 25 13 Liu, Z. y Butow, R. A., Mitochondrial retrograde signaling. *Annu Rev Genet* 40, 159-185 (2006).
- 14 Kunz, J. y Hall, M. N., Cyclosporin A, FK506 and rapamycin: more than just immunosuppression. *Trends Biochem Sci* 18, 334-338 (1993).
- 15 Heitman, J., Movva, N. R. y Hall, M. N., Targets for cell cycle arrest by the immunosuppressant rapamycin in yeast. *Science* 253, 905-909 (1991).
- 30 16 Peterson, R. T., Beal, P. A., Comb, M. J. y Schreiber, S. L., FKBP12-rapamycin-associated protein (FRAP) autophosphorylates at serine 2481 under translationally repressive conditions. *J Biol Chem* 275, 7416-7423 (2000).
- 17 Cheng, C., Fabrizio, P., Ge, H., Longo, V. D. y Li, L. M., Inference of transcription modification in long-live yeast strains from their expression profiles. *BMC Genomics* 8, 219 (2007).
- 35 18 Smets, B. y otros, Genome-wide expression analysis reveals TORC1-dependent and - independent functions of Sch9. *FEMS Yeast Res* 8, 1276-1288 (2008).
- 19 Baker, S. P. y Grant, P. A., The SAGA continues: expanding the cellular role of a transcriptional co-activator complex. *Oncogene* 26, 5329-5340 (2007).
- 20 Biddick, R. K., Law, G. L., Chin, K. K. y Young, E. T., The transcriptional coactivators SAGA, SWI/SNF, and mediator make distinct contributions to activation of glucose-repressed genes. *J Biol Chem* 283, 33101-33109 (2008).
- 40 21 Pray-Grant, M. G. y otros, The novel SLIK histone acetyltransferase complex functions in the yeast retrograde response pathway. *Mol Cell Biol* 22, 8774-8786 (2002).
- 22 Sterner, D. E., Belotserkovskaya, R. y Berger, S. L., SALSA, a variant of yeast SAGA, contains truncated Spt7, which correlates with activated transcription. *Proc Natl Acad Sci USA* 99, 11622-11627 (2002).
- 45 23 Wu, P. Y. y Winston, F., Analysis of Spt7 function in the *Saccharomyces cerevisiae* SAGA coactivator complex. *Mol Cell Biol* 22, 5367-5379 (2002).
- 24 Belotserkovskaya, R. y otros, Inhibition of TATA-binding protein function by SAGA subunits Spt3 and Spt8 at Gcn4-activated promoters. *Mol Cell Biol* 20, 634-647 (2000).
- 25 Hoke, S. M., Liang, G., Mutiu, A. I., Genereaux, J. y Brandl, C. J., C-terminal processing of yeast Spt7 occurs in the absence of functional SAGA complex. *BMC Biochem* 8, 16 (2007).
- 50 26 Giannattasio, S., Liu, Z., Thornton, J. y Butow, R. A., Retrograde response to mitochondrial dysfunction is separable from TOR1/2 regulation of retrograde gene expression. *J Biol Chem* 280, 42528-42535 (2005).
- 27 Berger, S. L., The complex language of chromatin regulation during transcription. *Nature* 447, 407-412 (2007).
- 28 Nakanishi, S. y otros, A comprehensive library of histone mutants identifies nucleosomal residues required for H3K4 methylation. *Nat Struct Mol Biol* 15, 881-888 (2008).
- 55 29 Martin, D. G., Grimes, D. E., Baetz, K. y Howe, L., Methylation of histone H3 mediates the association of the NuA3 histone acetyltransferase with chromatin. *Mol Cell Biol* 26, 3018-3028 (2006).
- 30 Taverna, S. D. y otros, Yng1 PHD finger binding to H3 trimethylated at K4 promotes NuA3 HAT activity at K14 of H3 and transcription at a subset of targeted ORFs. *Mol Cell* 24, 785-796 (2006).
- 31 Grant, P. A. y otros, Yeast Gcn5 functions in two multisubunit complexes to acetylate nucleosomal histones: characterization of an Ada complex and the SAGA (Spt/Ada) complex. *Genes Dev* 11, 1640-1650 (1997).
- 60 32 Sterner, D. E. y otros, Functional organization of the yeast SAGA complex: distinct components involved in structural integrity, nucleosome acetylation, and TATA-binding protein interaction. *Mol Cell Biol* 19, 86-98 (1999).
- 33 Gansheroff, L. J., Dollard, C., Tan, P. y Winston, F., The *Saccharomyces cerevisiae* SPT7 gene encodes a very acidic protein important for transcription in vivo. *Genetics* 139, 523-536 (1995).
- 65 34 Huisinga, K. L. y Pugh, B. F., A genome-wide housekeeping role for TFIID and a highly regulated stress-related role for SAGA in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol Cell* 13, 573- 585 (2004).

- 35 Santos-Rosa, H. y otros, Histone H3 tail clipping regulates gene expression. *Nat Struct Mol Biol* 16, 17-22 (2009).
- 36 Dolinski, K., Muir, S., Cardenas, M. y Heitman, J., All cyclophilins and FK506 binding proteins are, individually and collectively, dispensable for viability in *Saccharomyces cerevisiae*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 94, 13093-13098 (1997).
- 5 37 Lorenz, M. C. y Heitman, J., TOR mutations confer rapamycin resistance by preventing interaction with FKBP12-rapamycin. *J Biol Chem* 270, 27531-27537(1995).
- 38 Yorimitsu, T., Zaman, S., Broach, J. R. y Klionsky, D. J., Protein kinase A and Sch9 cooperatively regulate induction of autophagy in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol Biol Cell* 18, 4180-4189 (2007).
- 39 Urban, J. y otros, Sch9 is a major target of TORC1 in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol Cell* 26, 663-674 (2007).
- 40 Wei, M. y otros, Tor1/Sch9-regulated carbon source substitution is as effective as calorie restriction in life span extension. *PLoS Genet* 5, e1000467 (2009).
- 10 41 Kaerberlein, M. y otros, Regulation of yeast replicative life span by TOR and Sch9 in response to nutrients. *Science* 310, 1193-1196 (2005).
- 42 Smith, D. L., Jr., McClure, J. M., Matecic, M. y Smith, J. S., Calorie restriction extends the chronological lifespan of *Saccharomyces cerevisiae* independently of the Sirtuins. *Aging cell* 6, 649-662 (2007).
- 15 43 Bonawitz, N. D., Rodeheffer, M. S. y Shadel, G. S., Defective mitochondrial gene expression results in reactive oxygen species-mediated inhibition of respiration and reduction of yeast life span. *Mol Cell Biol* 26, 4818-4829 (2006).
- 44 Burtner, C. R., Murakami, C. J., Kennedy, B. K. y Kaerberlein, M., A molecular mechanism of chronological aging in yeast. *Cell Cycle* 8, 1256-1270 (2009).
- 45 Shamji, A. F., Kuruvilla, F. G. y Schreiber, S. L., Partitioning the transcriptional program induced by rapamycin among the effectors of the Tor proteins. *Curr Biol* 10, 1574-1581 (2000).
- 20 46 Roosen, J. y otros, PKA and Sch9 control a molecular switch important for the proper adaptation to nutrient availability. *Mol Microbiol* 55, 862-880 (2005).
- 47 Sickmann, A. y otros, The proteome of *Saccharomyces cerevisiae* mitochondria. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100, 13207-13212 (2003).
- 25 48 Vellai, T., Autophagy genes and ageing. *Cell Death Differ* 16, 94-102 (2009).
- 49 Nagy, Z. y Tora, L., Distinct GCN5/PCAF-containing complexes function as co-activators and are involved in transcription factor and global histone acetylation. *Oncogene* 26, 5341-5357 (2007).
- 50 Rodgers, J. T., Lerin, C., Gerhart-Hines, Z. y Puigserver, P., Metabolic adaptations through the PGC-1 alpha and SIRT1 pathways. *FEBS Lett* 582, 46-53 (2008).
- 30 51 Kent, N. A. y Mellor, J., Chromatin structure snap-shots: rapid nuclease digestion of chromatin in yeast. *Nucleic Acids Res* 23, 3786-3787 (1995).
- 52 Morillon, A., Karabetsov, N., Nair, A. y Mellor, J., Dynamic lysine methylation on histone H3 defines the regulatory phase of gene transcription. *Mol Cell* 18, 723-734 (2005).
- 35 53 Ng, H. H. y otros, Lysine methylation within the globular domain of histone H3 by Dot1 is important for telomeric silencing and Sir protein association. *Genes Dev* 16, 1518-1527 (2002).
- 54 van Leeuwen, F., Gafken, P. R. y Gottschling, D. E., Dot1p modulates silencing in yeast by methylation of the nucleosome core. *Cell* 104, 745-756 (2002).
- 55 Lee, J. S. y otros, Histone crosstalk between H2B monoubiquitination and H3 methylation mediated by COMPASS. *Cell* 131, 1084-1096 (2007).
- 40 56 Saleh, A. y otros, TOM1 p, a yeast hect-domain protein which mediates transcriptional regulation through the ADA/SAGA coactivator complexes. *J Mol Biol* 282, 933-946 (1998).
- 57 Duncan, K., Umen, J. G. y Guthrie, C., A putative ubiquitin ligase required for efficient mRNA export differentially affects hnRNP transport. *Curr Biol* 10, 687-696 (2000).
- 45 58 Pray-Grant, M. G. y otros, The novel SLIK histone acetyltransferase complex functions in the yeast retrograde response pathway. *Mol Cell Biol* 22, 8774-8786 (2002).
- 59 Scott, R. C., Juhasz, G. y Neufeld, T. P., Direct induction of autophagy by Atg1 inhibits cell growth and induces apoptotic cell death. *Curr Biol* 17, 1-11 (2007).
- 60 Reinders, A., Burckert, N., Boller, T., Wiemken, A. y De Virgilio, C., *Saccharomyces cerevisiae* cAMP-dependent protein kinase controls entry into stationary phase through the Rim15p protein kinase. *Genes Dev.* 12, 2943-2955 (1998).
- 50 61 Fabrizio, P., Pletcher, S. D., Minois, N., Vaupel, J. W. y Longo, V. D., Chronological aging-independent replicative life span regulation by Msn2/Msn4 and Sod2 in *Saccharomyces cerevisiae*. *FEBS Lett* 557, 136-142 (2004).
- 62 Pedruzzi, I. y otros, TOR and PKA signaling pathways converge on the protein kinase Rim15 to control entry into G0. *Mol Cell* 12, 1607-1613 (2003).
- 63 Hardie, D. G., AMPK and Raptor: matching cell growth to energy supply. *Mol Cell* 30, 263-265 (2008).
- 55 64 Lo, W.-S. y otros, Snf1--a Histone Kinase That Works in Concert with the Histone Acetyltransferase Gcn5 to Regulate Transcription. *Science* 293, 1142-1146 (2001).
- 65 Vincent, O., Townley, R., Kuchin, S. y Carlson, M., Subcellular localization of the Snf1 kinase is regulated by specific beta subunits and a novel glucose signaling mechanism. *Genes Dev* 15, 1104-1114 (2001).
- 66 Giannattasio, S., Liu, Z., Thornton, J. y Butow, R. A., Retrograde response to mitochondrial dysfunction is separable from TOR1/2 regulation of retrograde gene expression. *J Biol Chem* 280, 42528-42535 (2005).
- 60 67 Butow, R. A. y Avadhani, N. G., Mitochondrial signaling: the retrograde response. *Mol Cell* 14, 1-15 (2004).
- 68 Howitz, G.A y otros, Adenovirus Small e1a Alters Global Patterns of Histone Modification. *Science*, 321, 5892, 1084 - 1085 (2008).



Lista de Secuencias

Sec. con núm. de ident.: 1  
sch9

5  
1 MMNFFTSKSS NQDTGFSSQH QHPNGQNNGN NNSSTAGNDN GYPCKLVSSG PCASSNNGAL  
61 FTNFTLQTAT PTTAISQDLY AMGTTGITSE NALFQMKSMN NGISSVNNNN SNTPTIITTS  
121 QEETNAGNVH GDTGGNSLQN SEDDNFSSSS TTKLLSSTS SLSINQREAA AAAYGPDTDI  
181 PRGKLEVTII EARDLVTRSK DSQPYVVCTF ESSEFISNGP ESLGAINNNN NNNNNNQHNQ  
10 241 NQHINNEN TNPDAASQHH NNNSGWNGSQ LPSIKEHLKK KPLYTHRSSS QLDQLNSCSS  
301 VTDPSKRSSN SSSGSSNGPK NDSSHPIWHH KTTFDVLGSH SELDISVYDA AHDHMFLLGQV  
361 RLYPMIHNLA HASQHQWHSK KPRVIDEVVS GDILIKWTYK QTKKRHYGPQ DFEVLRLLGK  
421 GTFGQVYQVK KKDTQRIYAM KVLKSKVIVK KNEIAHTIGE RNILVTTASK SSPFIVGLKF  
481 SFQTPTDLYL VTDYMSGGEL FWHLQKEGRF SEDRAKFYIA ELVLALEHLH DNDIVYRDLK  
541 PENILLDANG NIALCDFGLS KADLKDRNT FCGTTEYLAP ELLLDETYG KMVDFWVSLGV  
15 601 LIFEMCCGWS PFFAENQKM YQKIAFGVK FPRDVLQEG RSVFKGLLNR NPKHRLGAI  
661 DGRELRAHPF FADIDWEALK QKKIPPPFKP HLVSETDTSN FDPEFTTAST SYMNKHQPM  
721 TATPLSPAMQ AKFAGPTFVD ESAIDHEVNN NRKFLQNSYF MEPGSFIPGN PNLPPDEDVI  
781 DDDGDEDIND GFNQEKNNN SHSQMDFDGD QHMDFEVSG RFEI

20 Sec. con núm. de ident.: 2  
Sch9  
>YHR205W Chr 8

25 AtgatgaatTTTTTcatcaaaatcgtcgaatcaggatactggatttagctctcaacaccaacatccaaatggac  
agaacaatggaacaataatagcagcaccgctggcaacgacacggatcccatgtaaacgggtgccagtgggcc  
ctgcgcttcatcaataatggcgcccttttaagaattttactttcaaaactgcaacgcccaccgctatttagt  
caggacttatatgcaatgggcacaacaggaataacatcagaaaatgccctttttcaaatgaagtcaatgaataatg  
gaatatcatcagttaataataacaacagcaacccccctacgattattaccacgtcacaggaagaaactaatgctgg  
`aaatgtacatggcgatccgggtggcaattctttgcaaaattctgaagatgacaactttcttccagttctaccac  
caaatgcttactctcttcccacttctctcgctatcaataaatcaacgagaagcagcagcagctgcttattggtccagat  
30 accgatattcttaggggtaaacatagaagtacaataatagaagcagctgacctagtcactagatcaaggattcac  
agccttatggtggttacttttgagagttcagagttcatttctaattggtctgagtcactagggccattataata  
taacaacaataacaacaacaataatcagcataatcaaaaccagcattataacaacaacaacgaaaatacaaacct  
gacgctgctagccagcattataataaacagtggttggaaacggttctcagttaccatcgataaaagagcacttga  
agaaaaaacccctttatacacacagatcatcttcccaattagatcagctaaactcttgccttccagtaaccgatcc  
35 gagcaaacggttcttcaatcttctcgctgggttcttcaaatggtccaaagaatgatagttcacatccaataggcat  
cacaagacaacggttgatggttttgggatctcactcggaaatagatatttctggtttatgatgctgccacgaccata  
tgttcttaggccaagtttagactgtatccaatgatcataaatttagcacatgcttcccaacaccaatggcacagttt  
gaaacctcgcggttatgatgaagttggtccggtgatatttcaaatggacttcaaaacagacaaagaaaaga  
cattatggcccacaagatttgaagttcttgcattatgggtaagggacttttggccaagttaccaagttaaga  
agaaagacactcaagaatttataatcaaatgaaagtctctccaagaaagtattgtcaagaaaatgagatcgcca  
40 cacaattggcgaaagaaatcctagtcacgacagcgtccaaatcgtcccattcatgtcggattgaagtttcc  
tttcaaacaccaacagatctgtatttggctcactgattatagtggtgggaaattattctggcatttcaaaaagg  
agggcgttttccggaagacagagcgaattctatctcgtgagttagtcctagcgttagaacatttacacgataa  
cgatcgtttacagggacctaagcgtgaaacattctactcgtatgccaacggtaaacatcgctcttggcagttt  
ggtcttctaagctgacttgaaggatagaacaacacatttggcgaccacggaatacctggcaccagaattgt  
tactggacgaaacggctacacaaaatggtcgatttctggtctcaggtggtttgatatttgaaatggttggg  
45 ttggtccctttcttggcgaaaataatcaaaaatgtacaaaatgtccttggtaagtcatttcccgata  
gacgtactgtcacaagggagggtcttttgaaggggttactaaacagaaaccccaaacatagactcggtgcca  
ttgatgatggaagagaactcagagctcatccatttttcgagatctcactgggagccttgaagcagaaaaaat  
tccaccaccttcaaacctcacctagctcggagacggatcctcgaattttgaccagagttcaccaacagcttca  
acttcatacatgaacaagcaccagccgatgatgactgctacccgctatctccagccatgcaagcaagtttgctg  
gtttcacctttgttgatgagtcgcatcagtaaacagcttaataacaacagaaaatttctcaaaaactcgtactt  
50 tatggaacctggttcttattccccggaaatccaaacttacctccagacgaagatgtcatgatgatgacggggac  
gaggacatcaatgatggattcaaccaagagaaaaatagaacaacagccattcgcagatggacttcgacggcgacc  
aacacatggatgacgaatttgcagtggaagattcgaatatga

Sec. con núm. de ident.: 3  
Rtg2

55 1 MSTLSDSSTE TEVVSRLNCG IVDIGSNGIR FSISSKAAHH ARIMPCVFKD RVGLSLYEVQ  
61 YNTHTNAKCP IPRDIIKEVC SAMKRFLIC DDFGVPETSV RVIATEATRD AINADEFVNA  
121 VYGSTGWKVE ILQDETRV GYGVVSSFN TVRGLYLDVA GGSTQLSIVI SSHGEVKQSS  
181 KPVSLPYGAG TLLRRMRTDD NRALFYEIKE AYKDAIEKIG IPQEMIDDAK KEGGFDLWTR  
241 GGGLRGMGHL LLYQSEGYPI QTLINGYACT YEEFSSMSDY LFLKQKIPGS SHEHKIFKVS  
60 301 DRRALQLPAV GLFMSAVFEA IPQIKAVHFS EGGVREGSLY SLLPKETRAQ DPLLIASRPY  
361 APLLTEKYLY LLRTSIPQED IPEIVNERIA PALCNLAFVH ASYPKELQPT AALHVATRGI  
421 IAGCHGLSHR ARALIGIALC SRWGGNIPES EEKYSQLELQ VVLRREGDKAE ALRIVVWTKY  
481 IGTIMYVICG VHPGGNIRDN VFDFHVKRS EVETSLKELI IDDANTTKVK BESTRKNRGY  
541 EVVVRISKDD LKTSASVRSR IITLQKKVRK LSRGSVERVK IGVQFYEE

**Sec. con núm. de ident.: 4**

**Rtg2**

>YGL252C Chr 7

5 atgtcaacacttagcgatagtgataccgagactgaggctgctgctcgagaaacttggtggaatcgctcgacataggtt  
 ctaatggatttcgcttttagtatatcttccaaggctgcacatcatgcaagaattatgccttgtgtttttaaagatag  
 ggttgctcttctctatacgaagttcaataataacacatcgaacgcaaaatgcctattcccagagatattata  
 aaagaggtttgctctgcatgaaagagattcaaatatttggcagatgatttgggtgacctgaaactagtgccagag  
 taattgcaacagaagccacgcgagatgctattaacgctggaatgttggtaagctgtttacggtagcactggctg  
 gaaagtagaataattagccaggaagatgaaactagggtcggcatataggtgtgtttcctcatttaatacagta  
 10 agaggtctatctagatgtggcaggtggttagtactcagttatcatgggtaataagctcgcacggagaagtcagc  
 acttttttagagattaagaagcgtacaaagatgcgattgaaaaatgggtatcctcaagaatgattgatgac  
 gccaagaaagaggtggatttgacctttggaccctgggggtggtttaaagaggtatgggacatctgctctttacc  
 agtcggaaggttatccatccaacaataataacggatgcttgcacttatgagaattctcgtctatgtcaga  
 15 ttatctattcctaaaaaataaccaggtctctcaaaagagcataaaaatattaaaggttctgatagaagggct  
 ttacaactcctgocgttgggttggctcatgagtgctgttttgaagcgattcccagatcaaagctgtacatttta  
 gtgaggtgggtgctcgagaggttctactttatctctctcctcaaaagaaatcgctgcacaagatccattgcta  
 tgctcctccttatgctccattacttactgaaaaatctctatctattgagaacatcaatcccacaagagat  
 ataccgaaatagtaaacgaaaggttgcctctgtttatgtaacttagcatttggctcatgcctcttaccaaagg  
 agttacaaccaacagctgcattacatgttgctacaagaggataatagccggctgctatggattatctcacagagc  
 tagagcgtgataggaattgctctatgtagtagatggggcggcaacattccggaatctgaagaaaaatactccaa  
 20 gaattagaacaagtagttctacgcgaaggtgataaagctgaagcattgataaggtgagcgaaggtatattg  
 gtacgattatgtatgtgatttgcgggttccatccaggtggtaatatcagagataacgtatttgatttccatgttct  
 taagcgttagtgaggtgagaccagtttaaaagaatcaatcattgtagtgcaaacactacaaggtaaaagaagaa  
 tccacgcgtaaaaatcgccgggtatgaagtggttggagaattagtaaggacgatcttaaaacaagtgcttccggtc  
 gttccagaattatcagctacaaaagaaagtagcgaagctatctagaggaaggttagagaggggttaaaattggcgt  
 25 gcaattttatgaagaataa

**Sec. con núm. de ident.: 5**

**Gcn5**

1 MVTKHQIEED HLDGATTDPE VKRVKLENNV EEIQPEQAET NKQEGTDKEN KGKFEKETER  
 61 IGGSEVVTDV EKGIVKFEFD GVEYTFKERP SVVEENEGKI EFRVVMNDNT KENMMVLTLGL  
 121 KNIFQKQLPK MPKEYIARLV YDRSHLSMAV IRKPLTVVGG ITYRPFDKRE FAEIVFCAIS  
 181 STEQVRGYGA HLMNHLKDYV RNTSNIKYFL TYADNYAIGY FKKQGFTRKI TLDKSIWMGY  
 241 IKDYEGGTLM QCSMLPRIRY LDAGKILLLO EAALRRKIRT ISKSHIVRPG LEQFKDLNNI  
 301 KPIDPMTIPG LKEAGWTPEM DALAQRPKRG PHDAAIQNIL TELQNHAAAW PFLQPVNKEE  
 35 361 VPDYYDFIKE PMDLSTMEIK LESNKYQKME DFIYDARLVF NNCRMYNGEN TSYYKYANRL  
 421 EKFFNKNVKE IPEYSHLID

**Sec. con núm. de ident.: 6**

**Gcn5**

40 tcttaaacacttatgggacgcaaaaaatgcgtcttctctccctcgtctgttggtttatgtaggcgtaaatgatggt  
 tgcttgcacaacaaatgaatcgtacagagagaattctagccaaggcaattattgcactgcaagtagtactgagtag  
 gttaaactgtctagaataacattaaatgagatgtagcaatgcagatccttccctcagtaggcttaatgctccactag  
 aatttttgaccagccactatttgcctttttcgcactccttttcaataactcgagagcaaaagcaaaaaataagac  
 45 atgtagtgctgctgtagtggaaaagaatcaatagaaactttcaaaacgcgtttaaaccagcagatattaaagtgttgg  
 acctaaacaatatatcgactattgaaattcttacgaagattttttatagttggatattcatabattcttacaact  
 ctctctactttcagttttttgaaactatgtatcattatatacgtttatggatttttcaaacctaaacaattata  
 ctgctgtaaatggttgattaaagcaataaaaaaaacaaaggattggtaagggaagacccgtgagccgcccacaaagtct  
 50 tcagttaactcaggttcgtattctacatttagatgggtcacaacacatcagattgaaaggatcactggatggagct  
 acgacggatcccgaagttaaacgggtaaaattagaaaaaacaggttgaagaaatacaacctgagcaggctgagacca  
 ataaacaagagggcaccgataaaagagaataaaaggaaggttcgagaagaaactgagagaaataggaggatctgaagt  
 ggttacagatggtgaaaaaggaattgtcaaatttgaatttgatgggttgaatacacattcaaaagagagaccaggt  
 gtcgtagaggaataaaggtaaaattgagtttaggggtggtgaataatgataataactaaagaaaacatgatggtcc  
 55 taactggatttaaaaaacatttttcaaaagcaattaccaaaaatgcccagaataacattgcccaggttagtctatga  
 tcgaagtcacttccatggctgtcatttaggaagccattgactgtcgtaggtggcacaataatcagaccttctgat  
 aagagagaattcgcagaaattgttttctgctccatcagttcgcaggaacaggtacgctggttatgggtcgcacataa  
 tgaatcacttaaaagactatgttagaaatcctcgaacataaaaatatttttgacatagcagataattacgctat  
 60 tggatccttcaaaagcaaggtctcactaaagaaatcacgttggataaaaagtatatggatgggatataataaagat  
 tatgaaggtggtacgctgatgcaatgttctatgttaccagaatacagatattggacgcaggttaagattctattat  
 tacaagaagcggcctgcgaagaaaaataagaacgatttgcgaatcgcatattgtaaggcctgggttagagcaatt  
 caaagacttaacaataatacaaacgattgatccaatgactattcctggctgaaagaagccggctggactcccagag  
 atggatcgcttggcacaacgctcccaagcgtggtccacacgatgcagcaataacagaataactcagagctacaaa  
 65 atcatgcagcagcttggcctctctacaaccggttaataaaagagggtccccgactattatgatttttcaaaaga  
 gccaatggacttgagccatggaataaaaatagagagcaacaaatatacagaagatggaagacttcatatgat  
 gccagattgggtttaaacaattgcccgaatgtacaatggcgaagaatacgtcgtattacaagtagtctaataaggctag  
 agaaattctcaataataaagtaaaagaaatacctgaatattctcacttattgatattgctgtagaagaagcttt  
 tccgctactattcctttcgaagaagaaataaattggttagtacggcgagacgatgtgatcaattgaggtatttttac  
 tacttttcttctcaatttttgaaggttttcttcttcttggtagtgtagcgttggatttacctttatgtaactatatt

Sec. con núm. de ident.: 7

Tor1

1	MEPHEEQIWK	SKLLKAANND	MDMDRNVPLA	PNLNVNMNMK	MNASRNGDEF	GLTSSRFDGV	
5	61	VIGSNGDVNF	KPILEKIFRE	LTSDYKEERK	LASISLFDLL	VSLEHELSE	EFQAVSNDIN
	121	NKILELVHTK	KTSTRVGAVL	SIDTLISFYA	YTERLPNETS	RLAGYLRGLI	PSNDVEVMRL
	181	AAKTLGKLV	PGGTYTSDFV	EFEEKSCLEW	LTASTEKNSF	SSSKPDHAKH	RALLIITALA
	241	ENCPYLLYQY	LNSILDNIWR	ALRDPHLVIR	IDASITLAKC	LSTLRNRDPQ	LTSQWVQRLA
	301	TSCEYGFQVN	TLECIHASLL	VYKEILFLKD	PFLNQVFDQM	CLNCIAYENH	KAKMIREKIY
	361	QIVPLLASFN	PQLFAGKYHL	QIMDNYLEIL	TNAPAKKIPH	LKDDKPQILI	SIGDIAYEVG
10	421	PDIAPYVKQI	LDYIEHDLQT	KFKFRKKFEN	EIFYCIGRLA	VPLGPVLGKL	LNRNILDLMF
	481	KCPLSDYMQE	TFQILITERIP	SLGPKINDEL	LNLVCSTLSG	TPFIQPGSPM	EIPSFRRERA
	541	REWRNKSILQ	KTGESNDNN	DIKIIQAFR	MLKNIKSRFS	LVEFVRIVAL	SVIEHTDPRV
	601	RKLAALTSCE	IYKDNICKQ	TSLHSLNTVS	EVLSKLLAIT	IADPLQDIRL	EVLKLNLPFC
	661	DPQLAQPDNL	RLLFIALHDE	SFNIOQVAME	LVGRLLSSVN	AYVIPSIIRKI	LLELLTKLKF
	721	STSSREKEET	ASLLCTLIRS	SKDVAKPYIE	PLLNVLKPKF	QDTSSTVAST	ALRTIGELSV
15	781	VGGEDMKIYL	KDLFPLIKT	FQDQSNFVKR	EAALKALGQL	AASSGYVIDP	LLDYPELLGI
	841	LVNILKTENS	QNIRRQVTVL	IGILGAIDPY	RQKEREVTS	TDISTEQNAP	PIDIALLMQG
	901	MSPSNDEYYT	TVVIHCLLKI	LKDPSSLSSYH	TAVIQAIMHI	FQTLGLKCVS	FLDQIIPITIL
	961	DVMRTCSQSL	LEFYFQQLCS	LIIIVRQHIR	PHVDSIFQAI	KDFSSVAKLQ	ITLVSVIEAI
	1021	SKALEGEFKR	LVPILTTLFPL	VILENDKSSD	KVLSRRVRLR	LESFGPNLEG	YSHLITPKIV
20	1081	QMAEFTSGNL	QRSAITTIGK	LAKDVLDFEM	SSRIVHSLLR	VLSSTTSDLE	SKVIMNTLSL
	1141	LLIQMGTSFA	IFIPVINEVL	MKKHIQHTIY	DDLTRNRLNN	DVLPKILEA	NTDYKPAEQ
	1201	MEAADAGVAK	LPINQSVLKS	AWNSSQQRTK	EDWQEWKRL	SIQLLKESPS	HALRACSNLA
	1261	SMYYPPLAKEL	FNTAFACVWT	ELYSQYQEDL	IESLCLALSS	PLNPPETHQT	LLNLVEFMEH
	1321	DDKALPIPTO	SLGEYAERCH	AYAKALHYKE	IKFIKEPENS	TIESLISINN	QLNQTDAAIG
	1381	LLKHAQQHHS	LQLEKTFWFK	LERWEDALHA	YNEREKAGDT	SVSVTLGKMR	SLHALAEWEQ
25	1441	LSQLAARKWK	VSKLQTKKLI	APLAAGARGG	SGEWDMLDEY	ISVMKPKSPD	KEFFDAILYL
	1501	HKNDYDNASK	HILNARDLLV	TEISALINES	YNRAYSVIVR	TQIITEFEEI	IKYKQLPPNS
	1561	EKKLHYQNLW	TKRLLGCKQN	VDLWQVRLRI	RSLVLIKPKQD	LQIWIKFANL	CRKSGMRMLA
	1621	NKALNMLLEG	GTLVYQIRS	KPPPPVVYQA	LKYIWTGAY	KEALNHLIGF	TSRLAHLGL
	1681	DPNNMLAQSV	KLSSASTAPY	VEEYTKLLAR	CFLKQGEWRI	ATQPNWRNTN	PDAILGSYLL
	1741	ATHFDKNWYK	AWHNWALANF	EVISMVQEBT	KLNGGKNDDD	DDTAVNNDNV	RIDGSILGSG
30	1801	SLTINGNRYP	LELIQRHVVP	AIKGFHHSIS	LLETSCLQDT	LRLSTLLFNF	GGIKEVSOAM
	1861	YEGFNLMKIE	NWLEVLPLQI	SRIHQPDPTV	SNSLLSLLSD	LGKAHPQALV	YPLTVAIKSE
	1921	SVSRQKAALS	IIEKIRIHSF	VLVNQAEVLS	HELIRVAVLW	HELWYEGLED	ASRQFFVEHN
	1981	IEKMFSTLEP	LHKHLGNBEP	TLSEVSFQKS	FGRDLNDAYE	WLNNYKSKD	INNLNQAWDI
	2041	YYNVFRKITR	QIPQLQTLDL	QHVSPQLLAT	HDLELAVPGT	YFPGKPTIRI	AKFEPLFSVI
	2101	SSKQRPRKFS	IKGSDGDKYK	YVLKGHEDIR	QDSLVMQLFG	LVNTLLKNDS	ECFKRHLDIQ
35	2161	QYPAIPLSPK	SGLLGWV PNS	DTFHVLIRES	RDACKIPLNI	EHWVMLQMAP	DYENLTLLOK
	2221	IEVFTYALDN	TKGQDLYKIL	WLKSRSETW	LERRTTYTRS	LAVMSMTGYI	LGLGDRHPSN
	2281	LMLDRITGKV	IHIDFGDCFE	AAILREKYPE	KVPFRLTRML	TYAMEVSGIE	GSFRITCENV
	2341	MRVLRDNKES	LMAILEAFAL	DPLIHWGFDL	PPQKLTBQGT	IPLPLINPSE	LLRKGAITVE
	2401	EAANMEAEQQ	NETRNARAML	VLRRITDKLT	GNDIKRFNEL	DVPEQVDKLI	QQATSIERLC
	2461	QHYIGWCPFW					

Sec. con núm. de ident.: 8

Tor1

>YJR066W Chr 10

45 atggaaccgcatgaggagcagatttggaaagagtaaaacttttgaaagcgggtaacaacgatatggacatggatagaa  
atgtgccgttggcaccgaatctgaatgtgaatatgaacatgaaaatgaatgagcagcaggaacggggatgaattcgg  
tctgacttctagtaggtttgatggagtggtgattggcagtaaatggggatgtaaatTTAAGCCATTtggagaaa  
atTTCCGCAATTAACAGTGTATTACAAGGAGGAACGAAAATGGCCAGTATTTCAATTTGATCTACTAGTAT  
ccttggacatgaattgtcgatagaagagttccaagcagttcaaatgacataaacaataagattttggagctggt  
50 ccatacaaaaaaaaaacgagcactagggtagggctgttctatccatagacactttgatttctctacgcatatact  
gaaaggttgcctaacgaaacttcacgactggctggttaccttcgagggctaataccttctaatgatgtgagaggtca  
tgagactcgctgcaaagactctgggcaagttagccggttccaggaggtacatatacctctgatttctggaatttga

55

5 gataaagtcttgccttagaatggcttactgcctcccaggaagaattcattctcgagttcgaagccagaccatgct  
 aaacatgctgcgctctgattataacacagcgttggcagagaattgtccttatttactctaccaatacttgaattcca  
 tactagataacatttggagagcactaagagaccacatttgggtgatcagaattgatgctccattacattggccaa  
 atgtctttccaccctacgaaatagggatcctcagttaactagccagtggtgagagattggctacaagttgtgaa  
 10 tacggatttcaagtaaacacattagaatgcattccatgcaagtttggttggtttataaggaaatcttgtttttgaagg  
 atcctcttttgaatcaaggttccgaccaaaatgtgtcaaatgtcatagcttatgaaaatcataaagcgaatgat  
 tagagaaaagatttaccagattgttcccctattagcatcgttcaatcctcaattatttgcctggcaaatatttgcac  
 caaattatggacaactatttagagattttaaaccaatgctccagcaaaaataaccacatctcaagatgacaaac  
 cacagattttaaatacgtatgggtgatattgcatatgaagtcgggcccgatatcgcaccttatgtgaaacaaatct  
 15 tgattatattgaacatgatttacagacgaaatcacaatcagaagaatgaaatgaaatgaaatcttactgcatc  
 ggaagattggcagttcccttgggcccagcttctaggaatattttaaaccagaaatataactggacctgatgttcaaat  
 gccctctttccgactatattgcaggaaaogtttcaaatctgactgagagaataccatcactaggccccaaaataaa  
 tgacgagttgcttaacctagctgttcaaccttatctggaacaccatttatccagccaggggtaccaatggagata  
 ccatcgttttcgagagaaagagcaagagaatggagaaataaaaacatctacagaaaactgggtaagtaacgat  
 20 ttaataatgataaaaaatcattatacaagctttagaattgttaaaaaatatacaaaagcagatttctgttgggga  
 attcgtgagaattgttgcactttcttacattgagcatacagatcccagagtaaggaaactagctgcgttgacatct  
 tgtgaaatttactgtaacgataacatctgcaacaaacatcactacatctctgaacctgtatctgaagtgttat  
 caaagcttttagccattacgattgcccagccctttacaagatataccggtttagaagttttaaagaatcttaattccatg  
 tttcagatcccagttcccttggcccagctttagagactcttgtttactgcaactgcacgatgagtcgttcaaat  
 cagtcagtagcaatggagcttctgctggtaggttcttccgtaaacctgcatacgtcatcccacogataagaaaa  
 25 tactactggaactgctaaacaaaattaaaattctcaactcttctcgcgagaaaaggaagaaactgocagtttgttatg  
 tactcttatcaggtcagtaagatgttgcgaaaccttatatcgaacctctttaaagtgtcttttaccaaaatct  
 caagatctcttcaacgggtgcatcaactgcactgagaactataggtgagctatctgtttagggggcgaagata  
 tgaagatatacttaaggttcttcttcaaatatacaaacatttcaggatcaatcaaacctcttcaagagaga  
 agctgcacttaaggcccttggctcaactgacgctcatctggttacgtgatagatccttactcactatcccga  
 ttattgggtatattggtgaatataatgaagacagaaaactctcaaaatattagagacaaacagtcactttgatag  
 30 gtatactgggagctatcgaccatctgcacaaaagaacgtgaggttacctctactaccgatatactacagaa  
 gaacgcccgcctatcaaacattgctctctcagcagggcatgtctcctcgaatgatgagattataaccactgtt  
 gtcattcactgctctaaaaatcctaaaagatccatccctatcactctaccacactgcccgtgatccaagcgatta  
 tgcataattttcaaaccttggctcaaaaatgtgtttcattcttggaccagatcatcccactattttggacgta  
 cggatcactgctcagtcactattagaatttacttcaaacagcttctgtctttgattatctcgttaaggcaaac  
 35 ataaagacctgcaataaattactatttccaggcttcaagatatttctcoggttgcataagctcaaaaataacgctg  
 taagtgttattgaagcaatatcaaggctctggagggtgaattcaaaaagattggctcctcttactctgacctgtt  
 ccttgaattttggagaatgacaagctagtgacaaggtcctctccagaagggatttagagactgttagaatcgttt  
 ggtcctaacttagaaggttattcgtatttgattacaccaagatagttcaaatggcagaattcaccagcgggaacc  
 tacaaggtctgcaataaattactatttggcaaacctggccaaggtggtgacctttttgagatgtctcagaatgtt  
 40 tcaactcttacttaggtactaaagttcaacaacagagtgacgaactctcaaaagtcattatgaatactttaagtcta  
 ctgctaatacaaatgggcacatcctttgctatcttcatccctgtcattaatgaagttttaaatagaagaacatattc  
 aacacacaatatatgatgacttgacaacagaaatatacaaatgatgttttaccacaaaatcttgaagcaaa  
 tacaacgattataagcccgcggaacaaatggaggcagcagatgctggggtcgcaaaatcactataaaccaatca  
 gttttgaaaagtgcattggaattctagccaacaaagaaactaaagaagattggcaggaatgggcaaacgctctcca  
 45 ttcaattatataaagagtcacccctccatgctctaagagcttgttcaaatcttgcaagcagtgattatccactagc  
 caaagaactttttaaataccgcatctcagatgttggaccgaaactttatagccaatatacaagaagatttaattggg  
 tcaattatgatagccttactctcctttaaataccaccagaaatacatcaaacattgttaaacctggtagaattta  
 tggaaacagatgacaaggttaccacaaacaaactcaagcctgggagatgctgaaagatgtcacgctatgc  
 50 caaagcgtacattataaagagattaaatttataaagagcctgagaactcaactattgaatcattgatcagcatt  
 aacaaccagctgaatcaaacggatgctgcaatttgggtatataaagcatgcccaacaacatcattcactccaattaa  
 aggagacatggtttgaaaaattagagcgttgggaagatgcactacatgcttataatgaacgtgaaaaggcaggtga  
 tacttccgtgagcgttaccctcgttaagatgagatccctcagccttggcgaatgggaaacagttgtcgcgaattg  
 45 gcagctagaaaagtggaagtttcaagctcaaaaactaagaagctaatagctccttggcagctggtgctgcgtggg  
 ggttgggagagtggaatgatgcttgagcaatatacagcgttatgaaacctaaatctccagataaggaatttttga  
 tgcaatttttacttgcacaagaatgatcagcaaatgctagtaagcataattaaacgcccagagatttgccttgtg  
 actgaaattttccgctgtgatcaatgaaagttataatagagcatalagcgttatgttagaactcaaaataaacag  
 agtttgaggaaatcacaagataaagttccacctaattccgagaaaaaacttcaactatcaaaatctttggac  
 50 aaaaagactgctgggctgcacaaaaaatgtcgatttatggcaaaagagtgcttagagtaagatcattggtaataaag  
 cccaagcaagcctgcaaaatattggaataaaatttgcaaaatgtgtgcagaaaatctggtagaatgaggctagcaata  
 aggcattgaatatgctactagaaggaggcaacgatcctagtttaccaaatacgttcaagctcctcccagttgt  
 ttacgcgcaactaaaaatatttgggctacaggagcttataaagaagcattaaaccacttgataggatttcatcc  
 55 aggttagcgcagatcttgggttggatccgaataatgatcgcgcaaaagtgcaaacctcactgcaagtgcaagtactg  
 ctccgtatgttgaggaatacacaacaaatattagctcagatgttttttaaagcaaggtgagtgagaaatagcaacaca  
 accgaaactgggagaacacaaaatccggatgcaattcttgggtctctatttggctacacatttcgataaaaaatgg  
 tacaaggtcagggcaaatgggctctagctaaatttgaagtaaatccatgggtcagggaagagactaagctcaacg  
 gaggttaagaatgatgatgatgacacggcagttataatgataatgtgaggattgacggtagatccttaggaag  
 60 tgggtctttgactatcaatgcaacagataccgctagagcttattcaagacatggttctccagcagatcaagggc  
 ttttttctcaatctctatttagaacaagttgtttgcaagacagcttgagggttattgactcttttatttaact  
 ttgggtgattaaagaagctctcaaacagcttatgaagccttcaatttgatgaaaatagagaactggcttgaag  
 cttaccacagttgatctcgtatatacagccagatcctacgggtgagtaattcccttttgcgttgccttctgat  
 ttagggaagctcatccacaagctctcgtgtatcctttaaactgctcogcatcaagctgaaatctgtttcaagacaaa

aagcggctctttcaataatagaaaaataggattcatagtcagtcctggtaaccaggcagaattagttagtca  
 cgagttgatcagagtagccgttctatggcagcaattatggtatgaaggactggaagatcgagccgcaattttc  
 gttgaacataacatagaaaaatgttttctacttttagaacctttacataaacacttaggcaatgagcctcaaacgt  
 5 taagttaggtatcgttcagaatcatttggttagagatttgaacgatgctacgaatggttgaataactacaaaa  
 gtcacaaagacatcaataatgtgaaccaagcttgggatatttattataacgctctcagaaaaataacacgtcaata  
 ccacagttacaaaccttagacttacagcatgtttctcccagcttctggctactcatgatctcgaattggctgttc  
 ctgggacatatttcccagaaaaacctaccattagaatagcgaagtttgagccattatcttctgtgatctctcgaa  
 10 gcaaaaggccaagaaaaatctccatcaagggtagcgcagcgtaaagattataaacgcttttaaaaggcatgaagat  
 ataagacaagatagccttggatgcaattatgtgtctagtaaacactttgttgaagaatgattcagagtggttca  
 agagacatttggatccaacaataaccggctattccattgtcgcctaaactctggttactaggatgggtacaaa  
 tagtgacacattccacgttttggatcagagaaacaccgtgatgccccaaaaatccggttgaacattggaattgggt  
 atgttacaatggccccgattatgagaattgactcttttcaaaaaatgaaagtattcacgtacgctttagata  
 atacaaaaggccaagaccttataaaaatattatggttaaagagtaggctcagagacatggctgaacgtgaaac  
 aacttatacagagatctttagcagttatgtccatgactggttataatctgggactaggatgacccatcaagcaac  
 ctgatgctagatagaatcaccggtaaggttaccacattgatctcggcgattgttttgaagctgccatctaaagag  
 15 aaaaagtaccagaaaaagtgccatttagactaactaggatgttaacatacgcgaatggaagttagtgaattgaagg  
 cagtttccgaattccttggtaaaatgtcatgagagctttaaagagataataaagaatcattaaatggcgatcttggaa  
 gcttttgcgcttgatcctttgatccattggggatttgattaccgccacaaaaacttactgagcaaacctggaattc  
 ctttgcgcttgatataatccttagtgaattataaaggaagggggcaattactgtcgaagaagcggcaaatatggaagc  
 agaacaacaaaaatgagacaaaaacgcagagcaatgcttggtttgagacgtattacagataaattaacgggcaat  
 gatataagaggttcaatgaaatgagcgtcctgagcaggttgataaaactgatccaacaagccactctattgaaa  
 20 qqtatqtcacattatattqatqqtqcccattctqqtqa

**Sec. con núm. de ident.: 9**

**Ubp8**

1 MSICPHIQV FQNEKSKDGV LKTCNAARYI LNHSVPKEKF LNTMKCGTCH EINSATFMC  
 25 61 LQCGFCGCWN HSHFLSHSKQ IGHIFGINSN NGLLFCFKCE DYIGNIDLIN DAILAKYWDD  
 121 VCTKTMVPSM ERRDGLSGLI NMGSTCFMSS ILQCLIHPY FIRHSMSQIH SNNCKVRSFD  
 181 KCFSCALDKI VHELYGALNT KQASSSSTST NRQTGFYLL TCWAKINQNL AGYSQQDAHE  
 241 FWQFIINQIH QSYVLDLPA KEVSRANKQ CECIVHTVFE GSLESSIVCP GCQNSKTTI  
 301 DPFLDLSLDI KDKKKLYECL DSFHKKEQLK DFNYHCGECN STQDAIKQLG IHKLPSVLVL  
 361 QLKRFEHLN GSNRKLDDFI EFPYLNMKY YCSTKEKDKH SENGKVPDII YELIGIVSHK  
 30 421 GTVNEGHYIA FCKISGGQWF KFNDMSVSSI SQEEVLKEQA YLLFYTIRQV N

**sec. con núm. de ident.: 10**

**Ubp8**

>YMR223W Chr 13

atgagcatttggccacataacagcaagatattcagaatgaaaagctaaagatgggggttctaaaaacgtgcaatg  
 ctgcccaggtatataataatcattccgtaccacaagaaaaatcttaaacaccatgaaatggtgacatgcccagca  
 aataaactctgggtgcaactttcatgtgtctacaatgtggatttgggtgagttggaaccattcgcatctctctct  
 cacagtaaacagattgggtcacataattgggtatcaactcaataatggcctttatttggctcaaatgtgaggact  
 35 atataggaatatacagatctgattaacgatgctatcctagcgaagattgggacgagctgtgcacaaagaccatggt  
 tccatgcatggaagaagagatgggcttctggcctgatcaacatgggatccacttggttcatgagtagtattctc  
 caatgtcctaatacccttactttataggcactcaatgagtcgaattcattcctaataattgtaaagtgcggtt  
 40 ctccagataaatggttttcatgtgcactcgataaaaattggtcagactttatggagcgtgaaatacaaaagcaagc  
 ttctctgcatctacatctactaatcggaaccggatccatatacttttaacttggctggaaaatcaatcaa  
 aatctagcagggatctcaacaagatgctcatgaaatttggcagttataattaacaaaatccacaaaagctatg  
 ttcttgatttgcacaaatgccaaggaagtcagcagagcaataataagcagtgatgcatagtgatactgtggtt  
 45 tgagggctccttggaaagttctattgtgtgtccaggctgcaaaaatcctcaaaagcaaccattgatccattcttg  
 gatcttctctggatatacaagataagaaaaactttagaatgtcttgacagtttccataaaaaagaacagttga  
 aggatttcaactatcattgtggggagtgtaacagcactcaagatgcaataaaagcaactaggcatacaaaaattacc  
 atcggtttggtttggcaattgaaaagattcgaacacacttaattggaagtaacagaaaaactagacgattttatt  
 gaatttccaacttatttaaatatgaaaaatctgttcaacgaagaaaaagataagcattctgaaaatggcaagg  
 50 ttccagacattatttcaagaaatcggatattgttccacaaggggacggttaattgagggacattatattgcatt  
 ttgtaaaatctggagggcaatggtttaaattcaatgatccatggtctcctctatatctcaagaagaggtttta  
 aagaaacaggcatatttatttctacaccattcgtcaagtaattga

**Sec. con núm. de ident.: 11**

**Spt7**

1 MTERIPIKNY QRTNAKALLK LTEKLFNKNF FDLYLTSQQL VVLEYLLSIS SEEDKCLKAWD  
 55 61 YFLKGNIALN VEKSFPLTQE EEHGHAVSPA VDTRSDVSS QTIKDNNTN TNSISNENH  
 121 VENEIEDKGD NAIANEDNFV NNDESNDVEE DLFKLDLEDL KQQISGTRFI GNLSLKIRYV  
 181 LWQCAIDYIY CDRNEFGDEN DTEYTLLDVE EKEEEEIGKN EKPQNKEGIS KFAEDEDYDD  
 241 EDENYDEDST DVKNVDDPPK NLDSISSNI EIDDERLVL NISISKETLS KLTNNVEEI  
 301 MGNWNKIYHS FEYDKETMIK RLKLEESDKM IERKKKRSR SDLEAATDEQ DRENTNDEPD  
 60

361 TNQKLPTEPEG STFSDTGNKR PKQSNLTLTV NLGIENLSLK HLLSSIQQKK SOLGISDYEL  
 421 KHLIMDVRKN RSKWTSDEIRI GOEELYEACE KVVLELRNYT EHSTPFLNKV SKREAPNYHQ  
 481 IIKKSMDLNT VLKLLKSFQY DSKQEFVDDI MLIWKNCLTY NSDPHFRLRG HAIAMQKKS  
 541 QLIRMIPIKIT IRNRADLEKE IEDMEKDKDY ELDEEEVAVG SGRKGLNMG A HMLAKENGV  
 5 601 SEKSSKTVK DEAPTNDKDL TSVIPEGEKE KDKTASSTVT VHENVNKNBI KENGNKEEQD  
 661 MVEESSKTED SSKDADAANK DTEDGLQDKT AENKEAGENN EEEEEDDDED EDEDMDVDSQS  
 721 YLEKDDDRD DLEISVWKT V TAKVRAEICL KRTEYFKNGK LNSDSEAFK NPQRMKRFQD  
 781 LFLEYKEQKA LESYRQKIEQ NSIMKNGFGT VLKQEDDDQL QFHNDHSLNG NEAFKQPN  
 841 IELDDTRFLQ EYDISNAIPD IVYEGVNTKT LDKMEDASVD RMLQNGINKQ SRFLANKDLG  
 901 LTPKMNQKIT LIQQIRHICH KISLIRMLQS PLSAQNSRSN PNAFLNNHIY NYTIIDSLD  
 10 961 IDPVSQPLPH DYKNNRELIW KFMHKNISKV AMANGFETAH PSAINMLTEI AGDYLSNLIK  
 1021 TLKLHHTENS LNRGTNVEML QTTLLENGIN RPDDLFSYVE SEFGKTKKL QDIKQKLESF  
 1081 LRALLRPTLQ ELSEFNFEDE SQSFFTGFDA SELTGEDDFG FRELGLEKEF GVLSSSVPLQ  
 1141 LLTTQFQTV DGETKVAKKI QPEESDSIVY KKITKMLDA GSFWNTLLPL LQKDYERSKA  
 1201 YIAKQSKSSA NDKTSMSTSE DNSFALLEED QFVSKKTATK ARLPPTGKIS TTYKKKPIAS  
 15 1261 AFILPEEDLE NDVKADPTT VNAKVGAEAD GSSSLFLRTP QPLDPLDMD AFDDTNMGSN  
 1321 SFSLSLPLR NQ

Sec. con núm. de ident.: 12

Spt7

>YBR081C Chr 2

20 atgactgaagaataccaataaagaattatcaaaagaacaaatgccaaagctttacttaaatgactgaaaaacttt  
 ttaacaagaactttttgatctctatttaacctctcagcaattggctgcttctgaataacctgctgctgatttcaag  
 tgaagaagacaactgaaagcatgggactatttcttaaagggaaacatagcattaaatgctgaaaaatcatttcca  
 ttaacccaagaagaagaacatcacggagcgtctctcctgccgttgacacacgatcagatgatgatcatcaca  
 caaatgaaggacaataacaataactaataccaacaccagatcagcaatgaaatcatgttgaatgaaatgaaga  
 25 taaagggcgaataacgcaatagcaaatgaagataatttggtaataatgacgaaagtgaatgttgaagaagactta  
 tcaaattagatctagaggacttgaagcagcaataaagcggaaacaggtttattggaacttatcctgaaaatca  
 gatagctcttggcagtgccatagattatatactgtgatcgtaaatgagtttgggtgatgaaatgatcaga  
 atacacctattagatgttgaagagaaggaggaagggaaatggtaaaatgagaagccacaaaaaagaaggt  
 atttcgaagtctgcgaggaatgaagattacgacgatgaagacgagaactatgatgaagacgtacagacgtaaaa  
 atgctgatgatcctccaaaaactctcgattctatttctcttaataatcgaaattgacgatgaacgacgcttgg  
 30 gctaaatctcaaatatcaaaagaaacactgtcaaaagttaaaaaaaaataatgtagaagaaatattgggaaattg  
 acaaaaatttaccacagtttgaatacagataaagaactatgataaagcgattaaaacttgaagaagcgataaaa  
 tgatagagaaggaagaagaacgaagtctgaagtgattagaagcagctaccgatgaacaagatcgcgaaaaatc  
 aatgatgagccagataactcaaaaaatgcccactctgaaggttcaacattcagcagactgggaacaagcgc  
 ccaaaacaaagttaatttagatttaacagctcaatctaggcatcgaatattatcattaaagcacttctatcatc  
 tccagcaaaaaaaatccaattaggaatcagattacgaattaaaacatctgattatggatgtcagaaaaaatcg  
 35 tcaaaaatggacatcgcatgaaagaattgggcaagaggaatatacgaagcctgtgaaaaggttggtttggaaact  
 agaaactacactgagcattctacaccatttctgaataaagtgaagcaaaagagaagccccaattatcatcaaatca  
 tcaaaaagtccatggacctgaatctgttttaaaaaactgaaaagcttcaatgatgactccaaacaagaatttgt  
 agacgatattatgctaatatggaaaaatttggacctataattcagatccttcacatttttgagagggcagct  
 attgctatgcagaagaaatctctcagttgatctcagatttcaaatatcaaatccgaaacagggctgatttag  
 40 aaaaaggaattgaagatattgaaaaagacaagactacgaattagatgaggaagaggaagttgctggttctggaag  
 aaaaaggttgaatattgggagctcatatgttggcacaagagaatggcaaggtgtcagaaaaagatagctctaaaacc  
 gcaaggtgaaagcaccacaactatgatgacaactaactctctgctcctcctgaggggaaaaagagaagataaaa  
 ctgcttctactgtaacgggtacacgaaaatgtaataaagaacgaaataaaagaaaaatgggaaaaatgaagagca  
 agatattggttgaggaaagttagtaagactgaggattcatcaaaagatgctgatgctgccaagaaagatcgggaagc  
 ggactacaagataaaactgcagaaaaatgaagggctgggggaaaataatgaagaggaagaggatgatgatgacgaag  
 45 atgaagcgaagactggtgactgcaactcctatttacttgaagagatgacgatagagacgatttggaaatctc  
 cgtgtggaaaactgtaactgcaaaagtctgctgaggaaatttggcttaaaaagaactgaatattttaaaaatggaaa  
 ttaaatagtgttccagagggcttttggaaaaccacaagaatgaaaaggttcgaccagcttttcttgaatata  
 aagagcagaagctttgaatcatatcgtcaaaaaatagagcaaaattccattatgaaaaatggctttggaacagt  
 actaaaacaggaagacgatgaccaatggcagtttcataatgatcactcttaaatggaatgaagcttttgaagaa  
 caaccaatgatattgagtttagatgataccagattcctacaggaatgatgatattagtaacgccattcctgacatag  
 50 tatacagagggagtaataactaaaacattagacaagatggaagacgcttccggtggaccgcatgcttcaaaatgggat  
 caacaaaacagcagatttctggctaaacaggtattaggactaacactaaaatgaacccaaaatcacactgatt  
 cagcaaattaggcacatattgcatataaaatcctcctgatcagaatgttacagagcccttctcggctcaaaactcca  
 gaagcaatccaacgcttcccttaaacaccacattataatatacactattatgatgactcactcgatattgatcc  
 ggtgtcagacttccaacgcatgattcaaaaaaacacagggagctgatattgaaatcatgcataagaacatct  
 aaggttgcattggcctaaatgggtttgaaactgcccactcagcaataaacatgcttactgaaatcgcggggatt  
 55 acctatctaactgataaagactttgaagcttcatcatgaaactaactccttaaatagaggaaacaaatgtggaat  
 gctgcaacaaactggttggaaaacgggtatcaacagggcagacgatctatttctctatggtgaatctgaaatgggt  
 aaaaaaactaagaaacttcaggacatcaaacagaaactagaagcttttttgagagccttattaaggccaactttgc  
 aggaattgctccgagaaactttgaagacgagagccaaagctttttacaggtgactttgcccagcgaattgactgg  
 tgaagacttctttgggttttagagagctggattagaaaaggagtttggagttttgagttcatctgctccattacag  
 ttactgactactcagtttcaactgctgacggggaacccaaggtgcagggccaaaagatccaacccggaagaatcag  
 60 acagcattgtgtataagaaaatacaaaaaggtatgctggatgctggttcattctggaatactctacttcccctatt  
 acaaaaagattatgcaagcttccaagcttatatgcaaaagcaagcaagctcatctgcaaatgataaaaactcaatg  
 acttccacagaagacaattcttctgcttactagaagaggatcagtttgtctcaagaaaaccgcaacgagggcaa  
 gattacctcctactgtaagataagtaaccacatacaaaaagaaacccgatcgcaagcgcgcttatacttccagaaga  
 agacttggaaaacgacgtaaaagcggatccaacaacaaactgtaaacgccaaggtgggtgcagaaaaatgatggagat  
 65 tcttcttatttttggcaagcctcaaccttagatccttggatattggatgcttttgatgataccaaatatgg  
 gcagcaatagttcatttagcttgagccttctcgccttaatacaataa

**Sec. con núm. de ident.: 13**  
**SPT8**

5  
1 MDEVDDILIN NQVVDDEEDD EEMLSGLENDD SKQDLEGNDG GGEDEEDDDD DDEDDDDDED  
61 EREDDDEQED DDGEDDAARM DKTATPTNEH QHDEQKAAA GAGGAGDSGD AVTKIGSEDV  
121 KLSVDVGGVG SREASSSTHE ASANGEVVEY YKHMNLAAQI ADSYNIYPTA AIPQIQTHVNA  
181 LAVSRGLKYL FLGGSDGYIR KYDLLNLTLEG KLSLTILQKH SLAESIQNAG ILQSYWENEI  
241 PQQKSEMKLS ANKTDYEPKV SPVHSLLEVQS ECLFILSGLQ NGGITMQGVR YMEGSIAHYF  
301 KGRNGHTQIV NILRLNGQED RFLSGSWDKR LLEWDLQTDG IVNEFKKSRS ELSSLEMRPL  
361 YSSVDVSGNV NSGKENENAD DDMDSLFGDE DEDEKQDAGN EPVETGDGSN GEENKEQISE  
10 421 ESLNIVYDES VFMTSGLNGS VHIWDRRMTQ SPALSLERGA GVPFWCLSAC WGVVDGDHVYA  
481 GRRNACVEQF DLKMPKPIH NLKLPISIGP VSCVKAMPNN KHLLCASRDN IRLYNVEIAV  
541 DASNSTKSS KVPFLIVPGH HGGIISNLYL DPTSRFIIIST SGNRGWQGNS TDTTLYIDID  
601 LE

**Sec. con núm. de ident.: 14**  
**Spt8**

>YLR055C Chr 12

20 atggacgaggttgacgatattctaattaacaaccaggtggtggatgacgaggaggatgacgaagagatgctgagtg  
ggctggaaaacgactcaaagcaggacctcgaggggaatgatgacggtggtgaagatgaagaggatgacgatgatga  
tgatgaggacgatgatgatgacgaggacgaacgagaggacgacgatgaacaggaggacgacgatggtgaggacgac  
gcccgaagaatggataagactgctacaccgacgaatgagcaccagcatgatgagcaaaaggctgctgctgctggtg  
ctggcgggtgcaggcgatagtgccgatgctgttactaaagattggatccgaggatgtgaaattgagcgatggtgatgg  
aggagtgggtccagggaagcatcttctctacacacgaagcctctgctaattggagaggtttatgagtactataag  
cacatggttaagtcgcaagatgctggatctgacaatctaccccacggcagccatacccatccagacgacg  
tcaatgctggtggcctgctccaggggtctcaagtacctgttttggcggtagcgatggatacataaggaagtacga  
25 ctgctgaacacgcttgaggggaaacttctctaaactatcctgcagaagcattcgttggctgagctattcagaac  
gcccgtatctgacgctgactgggaaaaatgagatcccgcagaaaaatcagaaatgaaactctccgctaataaga  
cagattacgagcccaagtttagcccccttctcttgggaagtcacaagcgaatgctctttatactgagcgggct  
acagaatggtgggataccatgacgggcttctgctacatggaggggagcattgcccactattttaagggcaggaat  
ggacatacccaaatcggttaacatactgagattaaacggtcaagaggacaggtttttagtggttctcgggataagc  
30 gttctttgggaatgggatttgcagacgggtgacatagttaatgagtttaaaaaatcaaggtctgaattgtcatctt  
ggaaatgcccggctgactcctcctggtgatgtagaagcgaagacgaaagcaagatgctggcaacgaaccgctcgagcgg  
gggatgggttctaatggtgaaagagaacaaagacagatatctgaagaatcttgaacatagctatgatgaatccgt  
ttttatgacctcaggggtgaacgggtccgctgcatatttgggaccgacgcatgacgcagtcgccagcattgtctctg  
gagagaggtgcaggcgtcccaccgtggttttgcctgcatgtggggtgtagatggtgatcatgtgatgcagggga  
35 gaaggaatgctctggtgagcagtttgacttgaagatgocctcgaaacctatccataattgaaactgocctctat  
ttcagggcctgctcttctgtttaaagccatgcctaataacaagcatttactatgtgcatcgccgggataatcaga  
ttgtacaacggtgaaattgcagtagatgcttgcgaattcgactacaaagagttcctaagtgccgttctcctcgtgc  
cgggcatcaggggtgattatatacaacttatacctcgaccccacttcaagatttataataagcacaagtggaac  
cagaggctggcaggggaattctcagggacacgacccttattacgatatagacttagaatag

**Sec. con núm. de ident.: 15**  
**Snf1**

40 1 MSSNNNTNTA PANANSSHHH HHHHHHHHHH GHGGSNSTLN NPKSSLADGA HIGNYQIVKT  
61 LGEFSFGKVK LAYHTTTGQK VALKIINKKV LAKSDMQGRI EREISYLRLL RHPHIKLYD  
121 VIKSKDEIIM VIEYAGNELF DYIVQRDKMS EQEARRFFQO IISAVEYCHR HKIVHRDLKP  
45 181 ENLLLDHELN VKIADFGLSN IMTDGNFLKT SCGSPNYAAP EVISGKLYAG PEVDVWSCGV  
241 ILYVMLCRRR PFDDDESIPVL FKNISNGVYT LPKFLSPGAA GLIKRMLIVN PLNRISLHEI  
301 MQDDWFKVDL PEYLLPPDLK PHPEENENN DSKKDGSSPD NDEIDDLVN ILSSTMGYEK  
361 DEIYESLESS EDTPAFNEIR DAYMLIKENK SLIKDMKANK SVSDELDTFL SQSPPTFQQQ  
421 SKSHQKSQVD HETAKQHARR MASAITQORT YHQSPFMDQY KEEDSTVSIL PTSLPQIHRA  
481 NMLAQGSPAA SKISPLVTKK SKTRWHFGIR SRSYPLDVMG EIYIALKNLG AEWAKPSEED  
541 LWTIKLRWKY DIGNKTNTNE KIPDLMKMVI QLFQIETNNY LVDFKFDGWE SSGDDTTVS  
50 601 NISEDEMSTF SAYPFLHLTT KLIMELAVNS QSN

**Sec. con núm. de ident.: 16**  
**Snf1**

YDR477W Chr 4

55

atgagcagtaacaacaacacacacagcacctgccaatgcaaatcttagccaccaccaccaccatcaccaccatc  
accaccaccatcacgggtcatggtcggaagcaactcgacgctaaacaatcccagtcgctcttagcggatggtgcaca  
tatcggaactaccacaaatcgtcaaacgctgggagaggggtccttggtaaagttaaattggcatatcataccact  
5 acgggccaaaaagttgctctaaaaatcattaataagaaggttttggcaaaagatgatgcagggcagaattgaaa  
gagaaatctcttagactcttaagacacccccacatcatcaactgtatgatgtatcaaatccaaagatga  
aatcattatggttatagagtacgcccgggaacgaattgtttgactatattgttcagagagacaaaatgagcagcaa  
gaggcaagaagattttccagcagatcatcagtgccgtcagtagtccatagggcacaaaattgtccatagagatc  
tgaagcctgaaaacttactactagatgagcatctgaatgtaaagatgcccgttttgggttctgcaaacatcatgac  
10 tgatggtaattcttaaagacttctgtggttctcccaattatgcccgtcctgaagtatcagcggtaagctgtac  
gcagcccagaagtggaagctgtggtcatggtgggttatcctttatgttatgctttgctcgtcctaccgtttgacg  
atgaaagcatcccagtgcttttcaagaatcatcagcaacgggttttacacctgacctaaatttttatctcctggagc  
tgctgggtcaatcaaaagaattgttaatcgttaatccattgaacagaaataagcattcatgaaattatgcaagacgat  
tgggtcaaaagttgacctgccaagaatctactctccaccagatttgaaccacaccagaagaagagaatgaaaata  
atgactcaaaaaggatggcagcagcccagataacgatgaaattgatgacacacctgtcaatattttatcatcgac  
15 catgggttacgaaaaagacagatattatgagtccttagaatcatcagaagacactcctgcattcaacgaattagg  
gacgcgtacatgtgattaaggagaataaattcttgatcaaggatgaaaggcaaaaagcgtcagtgatgaaac  
tggatacctttctgtcccagtcacctccaactttcaacaacaaagcaaatccatcaaaagagtcagtagatcac  
tgaactgccaagcaacacgcaagaaggatggcaagtgctatcactcaacaaggacatataccaatcaccttc  
atggatcagataaaagaagaactctacagtttccattttgctacatctttacctcagatccacagagctaata  
tggtagcacaaggttgcagctgacctctaaaatctcctcttgaacgaaaaatctaaaacgagatggcattt  
20 tggatcacgatctcgtcatatccattagacgttatgggtgaaatttatatgacctgaagaatttgggtgcccga  
tgggccaagccatcgaagaggatttatggactatcaaatgaagtggaatgatattggaacaagacaaaaca  
ctaataaaaaatacctgatttaataaaggaatcaatatttcaaatgaaaccaataatatttgggtgga  
tttcaaatgtgagcgtgggaaagtagttatggagatgatactactgtttctaataattctgaagatgaaatgagt  
acttttccagcctaccatttttacatttaacaacaaaactaattatggaattagccgttaacagtcacaagcaatt  
ga

25 **Sec. con núm. de ident.: 17**  
**ACS1**

1 MSPSAVQSSK LEEQSSEIDK LKAKMSQSAA TAQRKKEHEY EHLTSVKIVP QRPISDRLQP  
61 AIATHYSPHL DGLQDYQRLH KESIEDPAKF FGSKATQFLN WSKPFDKVI PDPKTGRPSF  
30 121 QNNAWFLNGQ LNACYNCVDR HALKTPNKKA IIFEGDEPGQ GYSITYKELL EEVCQVAQVL  
181 TYSMGVKRGD TVAVYMPMPV EAIITLLAIS RIGAIHSVVF AGFSSNSLRD RINDGDSKVV  
241 ITTDESNRGG KVIETKRIVD DALRETPGVR HVLVYRKTNN PSVAFHAPRD LDWATEKKKY  
301 KTYYPCTPVD SEDPLFLLYT SGSTGAPKGV QHSTAGYLLG ALLTMRYTFD THQEDVFFTA  
361 GDIGWITGHT YVYGPLLLYG CATLVFEGTP AYPNYSRYWD IIDEHKVTQF YVAPTALRLL  
421 KRAGDSYIEN HSLKSLRCLG SVGEPAAEV WEWYSEKIGK NEIPIVDTYW QTESGSHLVT  
35 481 PLAGGVTPMK PGSASFPPFG IDAVVLDPNT GEELNTSHAE GVLAVKAAWP SFARTIWKNH  
541 DRYLDTYLNP YPGYYFTGDG AAKDKDGYIW ILGRVDDVVN VSGHRLSTAE IEAAIIEDPI  
601 VAECAVGFN DDLTGQAVAA FVVLKKNKSSW STATDDELQD IKKHLVFTVR KDIGPFAAPK  
661 LIILVDDLPK TRSGKIMRRI LRKILAGESD QLGDVSTLSN PGIVRHLIDS VKL

40 **Sec. con núm. de ident.: 18**  
**Acs1**  
**>YAL054C Chr 1**

atgtcgccctctgcccgtacaatcatcaaaactagaagaacagtcgaagtgaattgacaagttgaagcaaaaatgt  
cccagtcctgcccactgcccagcagaagaaggaacatgagatgaaacatttgactcctggtcaagatcgtgccaca  
45 acggcccattctcagatagactgcagcccgaattgctaccactattctccacttggacgggtgacaggactat  
cagccttgcaacaaggagctctattgaaagacctgctaaagttctcgggttcaaaagctaccaatttttaaacggg  
ctaagccattcgataaggtgttcatcccagaccctaaaacgggcaggccctcctccagaacaatgcatggttcct  
caacggccaaataaacgctgttacaactgtgtgacagacatgacctgaagactcctaaacaagaagccattatt  
tctgaaggtgacgagcctggccaaggctattccattacacacaggaactacttgaagaagttgtcaagtgccac  
50 aagtgctgacttactctatggcggttcgcaagggcgatactgttgcggtgacatgacctggtcccagaagcaat  
cataacctgttggccatttcccgtatcgggtgcaattcactccgtagctcttgcggggtttcttccaactccttg  
agagatcgtatcaacgatggggactcctaaagttgtcatcactacagatgaaatcaacagaggtggtaagtcattg  
agactaaaagaattgttgatgacgcccgaagagagaccccaggcgtgagacacgctctgggttatagaagaccaa  
caatccatctggttgccttccatgccccagagatttggattgggcaacagaaaaagaagaatacaagacctactat  
ccatgcacacccgttgattctgaggatccattatcttgggtgatacgtctggttctactggtgcccccaagggtg  
ttcaacattctaccgaggttacttgtggggagcttgggtgacctgcgctacacttttgacactcaccagaaga  
55 cgttttctcagcagctggagacattggctggattacaggccacactatggtgttatgggtcccttactatattggt  
tgtgctgacttactctatggcggttcgcaagggcgatcctgctaccacaaatctaccgcttattgggatattatgtagaacaca  
aagtcacccaaatattatgtgcgccaactgcttggcttgggtgaaaagagctgggtgatcctacatcgaataatca  
ttccttaaaatcttggctgcttgggttcgggtcgggtgagccaaatgctgctgaagttgggagtggtactctgaa  
aaaataggtaaaaaatgaaatcccattgttagacaacctactgccaacagaatctggttcgcatctggtcaccocgc  
60 tggctgggtggtttacacaaatgaaacggggttctgcctcattccccttctcgggtattgatgcagttgttcttga  
ccctaacactgggtgaaagacttaacaccagccacgcagaggggtgctctgcccgtcaagctgcatggccatcattt  
gcaagaactattggaaaaatcatgataggtatctagacacttattgaaccttaccctggctactatttctactg  
gtgaggtgctgcaaaaggaataaggtatggttatatctggaattttgggtcgtgtagacagatggtggaagcgtctctg  
tcaccgtctgtctaccgctgaaattgaggctgctattatcgaagatccaatttggccgagtggtgctgttctgga  
ttcaacgatgacttgaactgggtcaagcagttgctgcaatttgggtggttgaaaaacaaatctagttggtccaccgcaa  
cagatgatgaattacaagatataagaagcatttggcttactggttagaaaagacatcgggcccatttggccgacc  
65 aaaattgatcttttagctgacttggcacaagatccgcaaaaattatgagacgtattttaagaaaaatc  
ctagcaggagaagtgtaaccaactagggcagcttctacattgtcaaacctggcattgttagacatcatttgatt  
cgggtcaagttgtaa



**Sec. con núm. de ident.: 19**  
**Spt7-217**

1	MTERIPKINY	QRTNAKALLK	LTEKLFNKNF	FDLYLTSQQL	VVLEYLLSIS	SEEDKCLKAWD	
5	61	YFLKGNIALN	VEKSFPLTQE	EEHHGAVSPA	VDTRSDDVSS	QTIKDNNTN	TNTSISNENH
	121	VEHEIEDKGD	NAIANEDNFV	NNDESDNVBE	DLFKLDLEDL	KQQISGTRFI	GNLSLKIRYV
	181	LWQCAIDYIY	CDRNEFGDEN	DTEYTLLDVE	EKEEEEIGKN	EKPQNKEGIS	KFAEDEDYDD
	241	EDENYDEDST	DVKNVDDPPK	NLDSISSSNI	EIDDERRLVL	NISISKETLS	KLKTNNEVEI
	301	MGNWNKIYHS	FEYDKBTMIK	RLKLEESDKM	IEKGGKKRSR	SDLEAATDEQ	DRENTNDEPD
	361	TNQKLPTEG	STFSDTGNKR	PKQSNLDLTV	NLGIENLSLK	HLLSSIQQKK	SQLGISDYEL
10	421	KHLIMDVKN	RSKWTSDERI	GQEELYEACE	KVVLELRNYT	EHSTPFLNKV	SKREAPNYHQ
	481	IIKKMDLNT	VLKKLKSFQY	DSKQEFVDDI	MLIWKNCLTY	NSDPHFRLG	HAIAMQKKS
	541	QLIRMIPIIT	IRNRADLEKE	IEDMEKDKDY	ELDEEEVAG	SGRKGMLMGA	HMLAKENGV
	601	SEKSSKTVK	DEAPTNDDKL	TSVIPEGEKE	KDKTASSTVT	VHENVNKNEI	KENGKNEEQD
	661	MVEESSKTED	SSKDAADAKK	DTEGLQDKT	AENKEAGENN	EEEEDDDED	EDEMVDVQS
	721	YLLEKDDDR	DLEISVWKTV	TAKVRAEICL	KRTEYFKNGK	LNSDSEAFK	NPQRMKRFQ
15	781	LFLEYKQKA	LESYRQKIEQ	NSIMKNGFGT	VLKQEDDQL	QFHNHSLNG	NEAFEKQPN
	841	TELDDTRFLQ	EYDISNAIPD	IVYEGVNTKT	LDKMEDASVD	RMLQNGINKQ	SRFLANKDLG
	901	LTPKMNQNT	LIQQRHICH	KISLIRMLQS	PLSAQNSRSN	PNAFLNNHIY	NYTIIDSLD
	961	IDPVSQLP	DYKNNRELIW	KFMHKNISKV	AMANGFETAH	PSAINMLTEI	AGDYLSNLIK
	1021	TLKLLHHTNS	LNRGTNVEML	QTTLENGIN	RPPDLFSYVE	SEFGKTKKL	QDIKQKLESF
20	1081	LRALLRPTLQ	ELSERNFED	SQSFFTGFDA	SELTGEDFF		

**Sec. con núm. de ident.: 20**  
**SPT7-217 DNA**

atgactgaaagaataccaataaagaattatcaagaacaagaatgccaagctttacttaaatgactgaaaaacttt  
 25 ttaacaagaacttttttgatctctatttaacctctcagcaatggctgcttctgaatacctgctgctgattcaag  
 tgaagaagacaagaactgaaagcattgggactatttcttaagggaacaatagcattaaatgctgaaaaaatcatttcca  
 ttaaccaagaagaagaacatcacggagcgtctctcctgcccgttgacacacgatcagatgatgatcatcaca  
 caaattaaggacaataacaataactaataccaacaccagatcagcaatgaaatcatggtgaaatgaaatgaa  
 30 taaaggcgataacgcaatagcaaatgaagataatgttgaataatgacgaaagtgaatggtgaaagaagactta  
 tcaaattagatctagaggacttgaagcagcaataaagcggaaacaaggtttatggaacttatcctgaaaaatca  
 gatacgtcttggcagtgcccatagattatatactgtgatcgtaatgagtttggatgaaatgatacaga  
 atacacctattagatggtgaaagagaaggaggaaggaatggtaaaatgagaagccacaaaaaagaaggt  
 atttcgaagttcgcgaggatgaagattacagcagatgaagcagactatgatgaagcagatcagacgtaaaaa  
 atgctgatgatcctcaaaaactcctgatctatttccctcttaataatcgaatgacgatgaacgacgcttgg  
 35 gctaaatctcaatatacaagaacactgtcaaggttaaaaaaaatgtagaagaatgatgggaaatgg  
 aacaaaatctaccacagtttgaatcagataaagaactatgataaagcagatgaaactgaaagaaagcgaataaa  
 tgatagagaaggaagaagaacgaagtcgaagtgattagaagcagctaccgatgaacaagatcgcgaaaaatc  
 aatgatgagccagatacctaatacaaaaatggccactcctgaaaggttcaacatcagcgatacgggaaacaagc  
 40 cccaaaagaagtaatttagatttaacagtcgaatcagcagatgcaaaaatttatcattaaagcactctctatc  
 tccagcaaaaaaaatcccaattaggaatcagattacgaatataaaactctgattatggatgctcagaaaaatc  
 gtaaaaatggacatcgatgaaagaatgggcaagaggaatatacgaagcctgtgaaaggttggtttggactt  
 agaaaactacactgagcattctacaccatttctgaataaagtgagcaaaagagaagcccccaattatcatcaaatca  
 45 tcaaaaagtcacagcctgaaatctgttttaaaaaactgaaaagcttcaatagactcacaacaagaatttgt  
 agacgatattatgtaaatggaaaaaatggttgacctataatcagatccttcacatttttgagagggcagctg  
 attgctatgcagaagaatctctcagttgatcgcagatgattcacaatcacaactcgaacagggctgatttag  
 aaaaggaatgaaagatggaaaaaagacaaagactacgaattagatgaggaagaggaagttgctggttctggaag  
 50 aaaaggtgaaatgagagctcatatgttgccaaagagaatggcaaggtgctcagaaaaagatagctc  
 taaaacc  
 gtcaaggtgaaagcacaacaatgatgacaactaactctgtcatcctgaggggaaaaagagaagataaaa  
 ctgctcatctactgtaacggtacacgaaaatgtaataaagaacgaaataaaaagaaaatgggaaaaatgaa  
 55 agataggtgaggaagtagtaagactgaggtatcacaagaatgctgatgctgcaaaaagatcaggaagac  
 ggactacaagataaaactgcagaaaaaagagggctgggaaaaatgaaagaggaagaggtgatgatgacgaag  
 atgaagcgaagacatggtcagctcccaatcttattactgaaaaggtgacgatagagacgatttggaaatc  
 60 cgtggtgaaaaactgtaactgccaagttcgtgcggaatttgcataaaaagaactgaatattttaaataatgg  
 taaatagtgatcagagggcttttgaaaaaaccacaagaatgaaaggttcgaccagcttttcttgaatata  
 aagagcagaaagcttagaatcattcgtcaaaaaatagagcaaaatccattatgaaaaatggcttggaaacag  
 actaaaacaggaagcagatgcaaatgcaattcataatgatcactcttaaatggaatgaaacttttgaagaag  
 caaccaatgatattgagttgatgataccagattcctacaggaatgatattagtaacgcatcctgacatag  
 65 tatacagagggagtaataactaaaaactagacaagatggaagacgcttccgtggaccgcatgctc  
 caaaaatggtat  
 caacaacaagcagatctctggtaacaaggatttaggactaacacctaataatgaaacaaaatcacactgat  
 cagcaaataggcaatagccataaaaatccctgatcagaatgttacagagccctttatcggctcaaaactcca  
 gaagcaatcccaacgcttcttaacaaccacattataaatacactattatgatgactcactcgatattgatcc  
 ggtgtcacagcttccaacgcatgatatacaaaaacaacagggagctgatattgaaatcctatgataaagaacat  
 aaggttgcattggccaatgggttgaactgccatccatcagcaataaacatgcttactgaaatcgccggggatt  
 acctatcattcgtcaagacttgaagcttcatgaaactaaactccttaaatagaggaacaaaatggtgaaat  
 gctgcaacaacactgttggaaaaaggtatcaacagggccagacgatctatttccctatggtgaaatcctgaa  
 60 aaaaaactaagaactcaggacatcaaacagaactgaaagctttttagagagccttataagggcaactttgc  
 aggagttgctccgagagaaacttgaagacgagagcaaaagctttttacaggtgactttgcccagcgaatgactgg  
 tgaagacttctt

**Sec. con núm. de ident.: 21**  
**Spt3**

1 MMDKHKYRVE IQQMMFVSGE INDPVETTS LIEDIVRGQV IEILLQSNKT AHLRGSRSIL  
 61 PEDVIFLIRH DKAKVNRLRT YLSWKDLRKN AKDQDASAGV ASGTGNPGAG GEDDLKKGAG  
 121 GEKDEKGGN MMKVKSQIK LPWELQFMFN EHPLENDDN DDMEDEDEREA NIVTLKRLKM  
 181 ADDRTRNMTK EEYVHWSDCR QASFTFRKNK RFKDWSGISQ LTEGKPHDDV IDILGFLTTFE  
 241 IVCSLTETAL KIKQREQVLQ TQKDKSQSS QDNTNFEFAS STLHRKKRLF DGPENVINPL  
 301 KPRHIEAWR VLQTIMRHR ALTNFKGGRL SSKPIIM

**Sec. con núm. de ident.: 22**

**Spt3**

5

atgatggacaagcataagatcgtgtggagattcaacagatgatggttctctgggtaaattaacgacccaccgtagaa  
 accacatcactgatagatagatagtgaggggtcaagtgatagaaattcttttacagtaaaacacggcgcatcttagg  
 ggaagtaggagcattctccctgaagacgtcattttcttgatcagacacgacaaggccaagcaatcgttgagaacatat  
 ctgtcatggaaggatttgcgtaaaaacccaaggaccaagatgctagtgcgggtgtagcgagtggcactggaaatcctggg  
 gcaggtggtgaagatgatttgaaaaaagcaggtggtggcgagaaagcgaataagatggtggaacatgatgaaggtcaag  
 aatcccaaatgaagctgccatgggaattgcagtttatgttcaatgaacatccttttagaaaataatgacgacaatgatgat  
 atggatgaggatgaacgagaagctaataatagtcactttgaaaaggctgaaaatggctgacgatagaaacacgaaacatgact  
 aaagaggagtacgtgcattggtccgattgtcgacaggcaagttttacatttaggaagaataaaaaggttcaaggactggtct  
 ggaatttcgcaatgaactgaggggaaacccccatgatgatgtgatataactggggtttctaacttttgagattgtctgt  
 tctttgacgggaaacagctctgaaaatcaaacaaagagaacaggtattacagactcaaaaggacaaatcccagcaatctagc  
 caagataataactaactttgaattgcatcatccacattacatagaaaagaaagattatttgatggacctgaaaatgttata  
 aaccgctcaaaccaaggcatatagagggaagcctggagagtactcaaaccaattgacatgaggcatagggtcttgaccaac  
 ttaaaaggtggtgactcagttctaaccaattatcatgtaa

**Listado de secuencias**

10

<110> Chronos Therapeutics

<120> Método de selección para el envejecimiento celular

15

<130> P037286WO

<150> GB 0911885.2

<151> 2009-07-08

20

<160> 22

<170> PatentIn versión 3.5

25

<210> 1

<211> 824

<212> PRT

<213> Saccharomyces cerevisiae

30

<400> 1

ES 2 647 081 T3

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

ES 2 647 081 T3

Asp Thr Asp Ile Pro Arg Gly Lys Leu Glu Val Thr Ile Ile Glu Ala  
 180 185 190  
 5 Arg Asp Leu Val Thr Arg Ser Lys Asp Ser Gln Pro Tyr Val Val Cys  
 195 200 205  
 10 Thr Phe Glu Ser Ser Glu Phe Ile Ser Asn Gly Pro Glu Ser Leu Gly  
 210 215 220  
 Ala Ile Asn Asn Asn Asn Asn Asn Asn Asn Asn Asn Gln His Asn Gln  
 225 230 235 240  
 15 Asn Gln His Ile Asn Asn Asn Asn Glu Asn Thr Asn Pro Asp Ala Ala  
 245 250 255  
 20 Ser Gln His His Asn Asn Asn Ser Gly Trp Asn Gly Ser Gln Leu Pro  
 260 265 270  
 Ser Ile Lys Glu His Leu Lys Lys Lys Pro Leu Tyr Thr His Arg Ser  
 275 280 285  
 25 Ser Ser Gln Leu Asp Gln Leu Asn Ser Cys Ser Ser Val Thr Asp Pro  
 290 295 300  
 30 Ser Lys Arg Ser Ser Asn Ser Ser Ser Gly Ser Ser Asn Gly Pro Lys  
 305 310 315 320  
 35 Asn Asp Ser Ser His Pro Ile Trp His His Lys Thr Thr Phe Asp Val  
 325 330 335  
 Leu Gly Ser His Ser Glu Leu Asp Ile Ser Val Tyr Asp Ala Ala His  
 340 345 350  
 40 Asp His Met Phe Leu Gly Gln Val Arg Leu Tyr Pro Met Ile His Asn  
 355 360 365  
 45 Leu Ala His Ala Ser Gln His Gln Trp His Ser Leu Lys Pro Arg Val  
 370 375 380  
 Ile Asp Glu Val Val Ser Gly Asp Ile Leu Ile Lys Trp Thr Tyr Lys  
 385 390 395 400  
 50 Gln Thr Lys Lys Arg His Tyr Gly Pro Gln Asp Phe Glu Val Leu Arg  
 405 410 415  
 55 Leu Leu Gly Lys Gly Thr Phe Gly Gln Val Tyr Gln Val Lys Lys Lys  
 420 425 430  
 60

ES 2 647 081 T3

Asp Thr Gln Arg Ile Tyr Ala Met Lys Val Leu Ser Lys Lys Val Ile  
 435 440 445  
 5 Val Lys Lys Asn Glu Ile Ala His Thr Ile Gly Glu Arg Asn Ile Leu  
 450 455 460  
 Val Thr Thr Ala Ser Lys Ser Ser Pro Phe Ile Val Gly Leu Lys Phe  
 465 470 475 480  
 10 Ser Phe Gln Thr Pro Thr Asp Leu Tyr Leu Val Thr Asp Tyr Met Ser  
 485 490 495  
 15 Gly Gly Glu Leu Phe Trp His Leu Gln Lys Glu Gly Arg Phe Ser Glu  
 500 505 510  
 Asp Arg Ala Lys Phe Tyr Ile Ala Glu Leu Val Leu Ala Leu Glu His  
 515 520 525  
 20 Leu His Asp Asn Asp Ile Val Tyr Arg Asp Leu Lys Pro Glu Asn Ile  
 530 535 540  
 25 Leu Leu Asp Ala Asn Gly Asn Ile Ala Leu Cys Asp Phe Gly Leu Ser  
 545 550 555 560  
 Lys Ala Asp Leu Lys Asp Arg Thr Asn Thr Phe Cys Gly Thr Thr Glu  
 565 570 575  
 30 Tyr Leu Ala Pro Glu Leu Leu Leu Asp Glu Thr Gly Tyr Thr Lys Met  
 580 585 590  
 35 Val Asp Phe Trp Ser Leu Gly Val Leu Ile Phe Glu Met Cys Cys Gly  
 595 600 605  
 Trp Ser Pro Phe Phe Ala Glu Asn Asn Gln Lys Met Tyr Gln Lys Ile  
 610 615 620  
 40 Ala Phe Gly Lys Val Lys Phe Pro Arg Asp Val Leu Ser Gln Glu Gly  
 625 630 635 640  
 45 Arg Ser Phe Val Lys Gly Leu Leu Asn Arg Asn Pro Lys His Arg Leu  
 645 650 655  
 Gly Ala Ile Asp Asp Gly Arg Glu Leu Arg Ala His Pro Phe Phe Ala  
 660 665 670  
 50 Asp Ile Asp Trp Glu Ala Leu Lys Gln Lys Lys Ile Pro Pro Pro Phe  
 675 680 685  
 55 Lys Pro His Leu Val Ser Glu Thr Asp Thr Ser Asn Phe Asp Pro Glu  
 690 695 700

ES 2 647 081 T3

5 Phe Thr Thr Ala Ser Thr Ser Tyr Met Asn Lys His Gln Pro Met Met  
705 710 715 720

Thr Ala Thr Pro Leu Ser Pro Ala Met Gln Ala Lys Phe Ala Gly Phe  
725 730 735

10 Thr Phe Val Asp Glu Ser Ala Ile Asp Glu His Val Asn Asn Asn Arg  
740 745 750

15 Lys Phe Leu Gln Asn Ser Tyr Phe Met Glu Pro Gly Ser Phe Ile Pro  
755 760 765

20 Gly Asn Pro Asn Leu Pro Pro Asp Glu Asp Val Ile Asp Asp Asp Gly  
770 775 780

25 Asp Glu Asp Ile Asn Asp Gly Phe Asn Gln Glu Lys Asn Met Asn Asn  
785 790 795 800

Ser His Ser Gln Met Asp Phe Asp Gly Asp Gln His Met Asp Asp Glu  
805 810 815

30 Phe Val Ser Gly Arg Phe Glu Ile  
820

<210> 2  
<211> 2475  
35 <212> DNA  
<213> Saccharomyces cerevisiae  
<400> 2

atgatgaatt tttttacatc aaaatcgtcg aatcaggata ctggatttag ctctcaacac 60

40 caacatccaa atggacagaa caatggaaac aataatagca gcaccgctgg caacgacaac 120

ggatacccat gtaaactggt gtccagtggg ccctgcgctt catcaaataa tggatgccctt 180

45 tttacgaatt ttactttaca aactgcaacg ccgaccaccg ctattagtca ggacttatat 240

gcaatgggca caacaggaat aacatcagaa aatgcccttt ttcaaatgaa gtcaatgaat 300

aatggaatat catcagttaa taataacaac agcaacaccc ctacgattat taccacgtca 360

50 caggaagaaa ctaatgctgg aatgtacat ggcgataccg gtggcaattc tttgcaaaat 420

tctgaagatg acaacttttc ttccagttct accaccaaat gcttactctc ttccacttct 480

tcgctatcaa taaatcaacg agaagcagca gcagctgctt atggtccaga taccgatatt 540

55 cctaggggta aactagaagt tacaataata gaagcacgtg acctagtcac tagatcaaag 600

gattcacagc cttatgttgt ttgtactttt gagagttcag agttcatttc taatggctct 660

gagtcactag gcgccattaa taataacaac aataacaaca acaataatca gcataatcaa 720

60

ES 2 647 081 T3

	aaccagcata ttaacaacaa caacgaaaat accaaccctg acgctgctag ccagcatcat	780
	aataataaca gtggttgaa cggttctcag ttaccatcga taaaagagca cttgaagaaa	840
5	aaacccttt atacacacag atcatcttcc caattagatc agctaaactc ttgctcttca	900
	gtaaccgatc cgagcaaacy ttcttctaata tcttcgtcgg gttcttcaaa tggcctcaag	960
10	aatgatagtt cacatccaat atggcatcac aagacaacgt ttgatgtttt gggatctcac	1020
	tcggaattag atatttctgt ttatgatgct gccacgacc atatgttctt aggccaagtt	1080
	agactgtatc caatgattca taatttagca catgcttccc aacaccaatg gcacagtttg	1140
15	aaacctcgcg ttattgatga agttgtgtcc ggtgatattt taatcaaatg gacttacaaa	1200
	cagacaaaga aaagacatta tggcccacaa gatthttgaag ttcttcgatt attgggtaag	1260
	ggtacttttg gccaaagtcta ccaagttaag aagaagaca ctcaaagaat ttatgcaatg	1320
20	aaagttctct ccaagaaagt tattgtcaag aaaaatgaga tcgcccacac aattggcgaa	1380
	agaaatatcc tagtcacgac agcgtccaaa tcgtcccat tcattgtcgg attgaagttt	1440
	tcctttcaaa caccaacaga tctgtatttg gtcactgatt atatgagtgg tggagaatta	1500
25	ttctggcatt taaaaagga gggccgtttt tcggaagaca gagcgaaatt ctatatcgct	1560
	gagttagtcc tagcgttaga acatttacac gataacgata tcgtttacag ggacctaaag	1620
	cctgaaaaca ttctactcga tgccaacggt aacatcgctc tttgcgattt tggctttct	1680
30	aaagctgact tgaaggatag aacaaacaca ttttgccgca ccacggaata cctggcacca	1740
	gaattgttac tggacgaaac cggctacacc aaaaatggtcg atttctggtc tctaggtgtt	1800
35	ttgatatttg aaatgtgttg tggttgttcc cctttctttg cggaaaataa tcaaaaaatg	1860
	tacaaaaaaa ttgccttttg taaagtcaaa ttccccagag acgtactgtc acaagagggg	1920
	aggctttttg taaagggttt actaaacaga aaccccaaac atagactcgg tgccattgat	1980
40	gatggaagag aactacgagc tcatccattt ttgcgagata tcgactggga ggccttgaag	2040
	cagaaaaaaaa ttccaccacc tttcaaacct cacctagtct cggagacgga tacctogaat	2100
	tttgaccag agttcacaac agcttcaact tcatacatga acaagcacca gccgatgatg	2160
45	actgctaccc cgctatctcc agccatgcaa gcaaagtttg ctggtttcac ctttgttgat	2220
	gagtcgcca tcgatgaaca cgtaataaac aacagaaaat tcctacaaa ctcgtacttt	2280
50	atggaacctg gttcctttat cccgggaaat ccaaacttac ctccagacga agatgtcatc	2340
	gatgatgacg gggacgagga catcaatgat ggattcaacc aagagaaaaa tatgaacaac	2400
	agccattcgc agatggactt cgacggcgac caacacatgg atgacgaatt tgcagtgga	2460
55	agattcgaaa tatga	2475
	<210> 3	
	<211> 588	
	<212> PRT	
60	<213> Saccharomyces cerevisiae	
	<400> 3	

65

ES 2 647 081 T3

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



ES 2 647 081 T3

Gly Tyr Pro Ile Gln Thr Ile Ile Asn Gly Tyr Ala Cys Thr Tyr Glu  
 260 265 270  
 5  
 Glu Phe Ser Ser Met Ser Asp Tyr Leu Phe Leu Lys Gln Lys Ile Pro  
 275 280 285  
 10  
 Gly Ser Ser Lys Glu His Lys Ile Phe Lys Val Ser Asp Arg Arg Ala  
 290 295 300  
 15  
 Leu Gln Leu Pro Ala Val Gly Leu Phe Met Ser Ala Val Phe Glu Ala  
 305 310 315 320  
 20  
 Ile Pro Gln Ile Lys Ala Val His Phe Ser Glu Gly Gly Val Arg Glu  
 325 330 335  
 25  
 Gly Ser Leu Tyr Ser Leu Leu Pro Lys Glu Ile Arg Ala Gln Asp Pro  
 340 345 350  
 30  
 Leu Leu Ile Ala Ser Arg Pro Tyr Ala Pro Leu Leu Thr Glu Lys Tyr  
 355 360 365  
 35  
 Leu Tyr Leu Leu Arg Thr Ser Ile Pro Gln Glu Asp Ile Pro Glu Ile  
 370 375 380  
 40  
 Val Asn Glu Arg Ile Ala Pro Ala Leu Cys Asn Leu Ala Phe Val His  
 385 390 395 400  
 45  
 Ala Ser Tyr Pro Lys Glu Leu Gln Pro Thr Ala Ala Leu His Val Ala  
 405 410 415  
 50  
 Thr Arg Gly Ile Ile Ala Gly Cys His Gly Leu Ser His Arg Ala Arg  
 420 425 430  
 55  
 Ala Leu Ile Gly Ile Ala Leu Cys Ser Arg Trp Gly Gly Asn Ile Pro  
 435 440 445  
 60  
 Glu Ser Glu Glu Lys Tyr Ser Gln Glu Leu Glu Gln Val Val Leu Arg  
 450 455 460  
 Glu Gly Asp Lys Ala Glu Ala Leu Arg Ile Val Trp Trp Thr Lys Tyr  
 465 470 475 480  
 Ile Gly Thr Ile Met Tyr Val Ile Cys Gly Val His Pro Gly Gly Asn  
 485 490 495  
 Ile Arg Asp Asn Val Phe Asp Phe His Val Ser Lys Arg Ser Glu Val  
 500 505 510

ES 2 647 081 T3

	Glu Thr Ser Leu Lys Glu Leu Ile Ile Asp Asp Ala Asn Thr Thr Lys	
	515	520 525
5	Val Lys Glu Glu Ser Thr Arg Lys Asn Arg Gly Tyr Glu Val Val Val	
	530	535 540
10	Arg Ile Ser Lys Asp Asp Leu Lys Thr Ser Ala Ser Val Arg Ser Arg	
	545	550 555 560
15	Ile Ile Thr Leu Gln Lys Lys Val Arg Lys Leu Ser Arg Gly Ser Val	
	565	570 575
20	Glu Arg Val Lys Ile Gly Val Gln Phe Tyr Glu Glu	
	580	585
20	<210> 4	
	<211> 1767	
	<212> DNA	
	<213> Saccharomyces cerevisiae	
	<400> 4	
25	atgtcaacac ttagcgatag tgataccgag actgaggtcg tgtcgagaaa cttgtgtgga	60
	atcgtcgaca taggttctaa tggatttcgt ttagtatat cttccaaggc tgcatatcat	120
30	gcaagaatta tgccttgtgt ttttaaagat agggttggtc tttctctata cgaagttcaa	180
	tataatacac atacgaacgc aaaatgccct attcccagag atattataaa agaggtttgt	240
	tctgccatga agagattcaa attaatttgc gatgattttg gtgtacctga aactagtgtc	300
35	agagtaattg caacagaagc cacgcgagat gctattaacg cggatgaatt tgttaatgct	360
	gtttacggta gcaactggctg gaaagtagaa atattaggcc aggaagatga aactagggtc	420
	ggcatatatg gtggtgtttc ctcatttaat acagtaagag gtctatatct agatgtggca	480
40	ggtggtagta ctcagttatc atgggtaata agctcgcacg gagaagtcaa gcaatccagc	540
	aaacctgtat ctttgccata tggagctgga actcttttga gaagaatgag aacagatgat	600
	aatagggcac ttttttatga gattaaagaa gcgtacaaag atgcgattga aaaaattggt	660
45	atacctcaag aatgattga tgacgccaag aaagaaggat gatttgacct ttggaccctg	720
	gggggtggtt taagaggtat gggacatctg cttctttacc agtcggaagg ttatcccatc	780
50	caaacaataa ttaacggata tgcttgcaact tatgaagaat tctcgtctat gtcagattat	840
	ctattcctaa aacaaaaaat accaggttct tcaaagagc ataaaatatt taaggtttct	900
	gatagaaggc ctttacaact tcctgccggt ggtttgttca tgagtgtgt tttgaagcg	960
55	attccccaga tcaaagctgt acattttagt gaggggtgtg ttcgagaggg ttcactttat	1020
	tctcttcttc caaaagaaat tcgtgcacaa gatccattgc taattgcgtc ccgtcttat	1080
	gctccattac ttactgaaaa atatctatat ctattgagaa catcaatccc acaagaagat	1140
60		

ES 2 647 081 T3

ataccagaaa tagtaaacga aaggattgct cctgctttat gtaacttagc atttgttcat 1200  
gctctttatc caaaggagtt acaaccaaca gctgcattac atgttgctac aagagggata 1260  
5 atagccggct gtcattgatt atctcacaga gctagagcgc tgataggaat tgctctatgt 1320  
agtagatggg gcggaacat tccggaatct gaagaaaaat actcccaaga attagaacaa 1380  
gtagttctac gcgaagtga taaagctgaa gcattgagaa ttgtatgggtg gacgaagtat 1440  
10 attggtacga ttatgtatgt gatttgccgt gttcatccag gtgtaatat cagagataac 1500  
gtatttgatt tccatgtttc taagcgtagt gaggtggaga ccagtttaa agaattaatc 1560  
15 attgatgatg caaacactac aaaggtaaaa gaagaatcca cgcgtaaaaa tcgctgggtat 1620  
gaagtgggtg tgagaattag taaggacgat cttaaaacaa gtgcttccgt tcgttcaga 1680  
attatcacgc tacaaaagaa agtacgcaag ctatctagag gaagtgtaga gagggtaaa 1740  
20 attggcgtgc aattttatga agaataa 1767

<210> 5

<211> 439

<212> PRT

25 <213> *Saccharomyces cerevisiae*

<400> 5

Met Val Thr Lys His Gln Ile Glu Glu Asp His Leu Asp Gly Ala Thr  
1 5 10 15

30 Thr Asp Pro Glu Val Lys Arg Val Lys Leu Glu Asn Asn Val Glu Glu  
20 25 30

35 Ile Gln Pro Glu Gln Ala Glu Thr Asn Lys Gln Glu Gly Thr Asp Lys  
35 40 45

40 Glu Asn Lys Gly Lys Phe Glu Lys Glu Thr Glu Arg Ile Gly Gly Ser  
50 55 60

Glu Val Val Thr Asp Val Glu Lys Gly Ile Val Lys Phe Glu Phe Asp  
65 70 75 80

45 Gly Val Glu Tyr Thr Phe Lys Glu Arg Pro Ser Val Val Glu Glu Asn  
85 90 95

50 Glu Gly Lys Ile Glu Phe Arg Val Val Asn Asn Asp Asn Thr Lys Glu  
100 105 110

Asn Met Met Val Leu Thr Gly Leu Lys Asn Ile Phe Gln Lys Gln Leu  
115 120 125

55 Pro Lys Met Pro Lys Glu Tyr Ile Ala Arg Leu Val Tyr Asp Arg Ser  
130 135 140

ES 2 647 081 T3

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

ES 2 647 081 T3

<210> 6  
 <211> 2128  
 <212> DNA  
 <213> *Saccharomyces cerevisiae*  
 <400> 6

5	tcttaaacac ttatgggcag caaaaaatgc gtctttcttc cctcgtctgt tgttttatgt	60
	agggcgtaat gatgtttgct tgtcaacaaa tgaatacgta cagaagagaa ttctagccaa	120
10	ggcaattatt gcatactgca agtactgagt acgttaacgt tgctagaata acattaaatg	180
	agatgtagca atgcagatcc ttcctcagta ggcttaatgc tccactagaa tttttgacca	240
15	gccactatth gcttttttcg caatcctttt caatactcga gagcaaagac aaaaaaata	300
	agacatgtag tgcgctgtat ggaaaagaat taattagaac tttacaaacg cgtgttaaac	360
	aggcatatth aagtgtttgg acctaaacaa tatatcgact attgaaattc ttacgcaaga	420
20	ttttttatag ttggatattc atatatctt acaactctct ctactttcag ttttttgaag	480
	ctatatgtat cattatatac gtttatggat ttttcaaacc taaacaatta tactgcgtaa	540
	atgtttgatt aagcaataaa taaaaacaaa ggatttgtaa gggaaagaccg tgagccgccc	600
25	aaaagtcttc agttaactca ggctcgtatt ctacattaga tggtcacaaa acatcagatt	660
	gaagaggatc acttgatgg agctacgacg gatcccgaag ttaaaccgggt aaaattagaa	720
	aacaacgttg aagaaataca acctgagcag gctgagacca ataaacaaga gggcaccgat	780
30	aaagagaata aaggaaagt cgagaaagaa actgagagaa taggaggatc tgaagtgggt	840
	acagatgtgg aaaaaggaat tgtcaaattt gaatttgatg gtgttgaata cacattcaaa	900
35	gagagaccca gtgtcgtaga ggaaaatgaa ggtaaaattg agtttagggt ggtgaataat	960
	gataatacta aagaaaacat gatggctccta actggattaa aaaacatttt tcaaaagcaa	1020
	ttaccaaaaa tgcccaaaga atacattgcc aggttagtct atgatcgaag tcatctttcc	1080
40	atggctgtca ttaggaagcc attgactgtc gtaggtggca taacatatcg acctttcgat	1140
	aagagagaat tcgcagaaat tgttttctgt gccatcagtt cgacggaaca ggtacgagg	1200
	tatgggtcgc atctaataa tcaacttaaaa gactatgta gaaatacctc gaacataaaa	1260
45	tatthtttga catatgcaga taattacgct attggatact ttaaaaagca aggcttcact	1320
	aaagaaatca cgttgataa aagtatatgg atgggatata ttaaagatta tgaagggtgt	1380
50	acgctgatgc aatgttctat gttaccaaga atacgatatt tggacgcagg taagattcta	1440

ES 2 647 081 T3

ttattacaag aagcggccct gcgaagaaaa ataagaacga tttcgaaatc gcatattgta 1500  
 aggcctgggt tagagcaatt caaagactta aacaatatca aaccgattga tccaatgact 1560  
 5 attcctggct tgaagaagc cggctggact cccgagatgg atgcggtggc acaacgtccc 1620  
 aagcgtggtc cacacgatgc agcaatacag aatatactca cagagctaca aatcatgca 1680  
 10 gcagcttggc ccttcttaca acccgtaat aaagaggagg tccccgacta ttatgatttt 1740  
 atcaaagagc caatggactt gagcaccatg gaaataaaat tagagagcaa caaatatcag 1800  
 aagatggaag acttcatata tgatgccaga ttggtgttta acaattgccg aatgtacaat 1860  
 15 ggcgagaata cgctgtatta caagtatgct aataggctag agaaattctt caataataaa 1920  
 gtaaaagaaa tacctgaata ttctcacctt attgattaat gcgtagaaga agcttttccg 1980  
 ctactattcc tttcgaagaa gaaataaatg ttagtagcgg cgagacgatg tgatcaattg 2040  
 20 aggttatttt actacttttc ctttcatttt tgtaaggttt tctttctttg ttagtgtgac 2100  
 gttggtattt acctttatgt aactatat 2128

25 <210> 7  
 <211> 2470  
 <212> PRT  
 <213> *Saccharomyces cerevisiae*

30 <400> 7

Met Glu Pro His Glu Glu Gln Ile Trp Lys Ser Lys Leu Leu Lys Ala  
 1 5 10 15

35 Ala Asn Asn Asp Met Asp Met Asp Arg Asn Val Pro Leu Ala Pro Asn  
 20 25 30

40 Leu Asn Val Asn Met Asn Met Lys Met Asn Ala Ser Arg Asn Gly Asp  
 35 40 45

45 Glu Phe Gly Leu Thr Ser Ser Arg Phe Asp Gly Val Val Ile Gly Ser  
 50 55 60

50 Asn Gly Asp Val Asn Phe Lys Pro Ile Leu Glu Lys Ile Phe Arg Glu  
 65 70 75 80

55 Leu Thr Ser Asp Tyr Lys Glu Glu Arg Lys Leu Ala Ser Ile Ser Leu  
 85 90 95

60 Phe Asp Leu Leu Val Ser Leu Glu His Glu Leu Ser Ile Glu Glu Phe  
 100 105 110

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

ES 2 647 081 T3

Thr Lys Lys Thr Ser Thr Arg Val Gly Ala Val Leu Ser Ile Asp Thr  
 130 135 140

5  
 Leu Ile Ser Phe Tyr Ala Tyr Thr Glu Arg Leu Pro Asn Glu Thr Ser  
 145 150 155 160

10  
 Arg Leu Ala Gly Tyr Leu Arg Gly Leu Ile Pro Ser Asn Asp Val Glu  
 165 170 175

15  
 Val Met Arg Leu Ala Ala Lys Thr Leu Gly Lys Leu Ala Val Pro Gly  
 180 185 190

20  
 Gly Thr Tyr Thr Ser Asp Phe Val Glu Phe Glu Ile Lys Ser Cys Leu  
 195 200 205

25  
 Glu Trp Leu Thr Ala Ser Thr Glu Lys Asn Ser Phe Ser Ser Ser Lys  
 210 215 220

30  
 Pro Asp His Ala Lys His Arg Ala Leu Leu Ile Ile Thr Ala Leu Ala  
 225 230 235 240

35  
 Glu Asn Cys Pro Tyr Leu Leu Tyr Gln Tyr Leu Asn Ser Ile Leu Asp  
 245 250 255

40  
 Asn Ile Trp Arg Ala Leu Arg Asp Pro His Leu Val Ile Arg Ile Asp  
 260 265 270

45  
 Ala Ser Ile Thr Leu Ala Lys Cys Leu Ser Thr Leu Arg Asn Arg Asp  
 275 280 285

50  
 Pro Gln Leu Thr Ser Gln Trp Val Gln Arg Leu Ala Thr Ser Cys Glu  
 290 295 300

55  
 Tyr Gly Phe Gln Val Asn Thr Leu Glu Cys Ile His Ala Ser Leu Leu  
 305 310 315 320

60  
 Val Tyr Lys Glu Ile Leu Phe Leu Lys Asp Pro Phe Leu Asn Gln Val  
 325 330 335

65  
 Phe Asp Gln Met Cys Leu Asn Cys Ile Ala Tyr Glu Asn His Lys Ala  
 340 345 350

70  
 Lys Met Ile Arg Glu Lys Ile Tyr Gln Ile Val Pro Leu Leu Ala Ser  
 355 360 365

75  
 Phe Asn Pro Gln Leu Phe Ala Gly Lys Tyr Leu His Gln Ile Met Asp  
 370 375 380

80  
 Asn Tyr Leu Glu Ile Leu Thr Asn Ala Pro Ala Lys Lys Ile Pro His  
 385 390 395 400

ES 2 647 081 T3

Leu Lys Asp Asp Lys Pro Gln Ile Leu Ile Ser Ile Gly Asp Ile Ala  
 405 410 415  
 5  
 Tyr Glu Val Gly Pro Asp Ile Ala Pro Tyr Val Lys Gln Ile Leu Asp  
 420 425 430  
 10  
 Tyr Ile Glu His Asp Leu Gln Thr Lys Phe Lys Phe Arg Lys Lys Phe  
 435 440 445  
 Glu Asn Glu Ile Phe Tyr Cys Ile Gly Arg Leu Ala Val Pro Leu Gly  
 450 455 460  
 15  
 Pro Val Leu Gly Lys Leu Leu Asn Arg Asn Ile Leu Asp Leu Met Phe  
 465 470 475 480  
 20  
 Lys Cys Pro Leu Ser Asp Tyr Met Gln Glu Thr Phe Gln Ile Leu Thr  
 485 490 495  
 Glu Arg Ile Pro Ser Leu Gly Pro Lys Ile Asn Asp Glu Leu Leu Asn  
 500 505 510  
 25  
 Leu Val Cys Ser Thr Leu Ser Gly Thr Pro Phe Ile Gln Pro Gly Ser  
 515 520 525  
 30  
 Pro Met Glu Ile Pro Ser Phe Ser Arg Glu Arg Ala Arg Glu Trp Arg  
 530 535 540  
 Asn Lys Ser Ile Leu Gln Lys Thr Gly Glu Ser Asn Asp Asp Asn Asn  
 545 550 555 560  
 35  
 Asp Ile Lys Ile Ile Ile Gln Ala Phe Arg Met Leu Lys Asn Ile Lys  
 565 570 575  
 40  
 Ser Arg Phe Ser Leu Val Glu Phe Val Arg Ile Val Ala Leu Ser Tyr  
 580 585 590  
 Ile Glu His Thr Asp Pro Arg Val Arg Lys Leu Ala Ala Leu Thr Ser  
 595 600 605  
 45  
 Cys Glu Ile Tyr Val Lys Asp Asn Ile Cys Lys Gln Thr Ser Leu His  
 610 615 620  
 50  
 Ser Leu Asn Thr Val Ser Glu Val Leu Ser Lys Leu Leu Ala Ile Thr  
 625 630 635 640  
 Ile Ala Asp Pro Leu Gln Asp Ile Arg Leu Glu Val Leu Lys Asn Leu  
 645 650 655  
 55



ES 2 647 081 T3

Asn Pro Cys Phe Asp Pro Gln Leu Ala Gln Pro Asp Asn Leu Arg Leu  
 660 665 670  
 5 Leu Phe Ile Ala Leu His Asp Glu Ser Phe Asn Ile Gln Ser Val Ala  
 675 680 685  
 Met Glu Leu Val Gly Arg Leu Ser Ser Val Asn Pro Ala Tyr Val Ile  
 690 695 700  
 10 Pro Ser Ile Arg Lys Ile Leu Leu Glu Leu Leu Thr Lys Leu Lys Phe  
 705 710 715 720  
 15 Ser Thr Ser Ser Arg Glu Lys Glu Glu Thr Ala Ser Leu Leu Cys Thr  
 725 730 735  
 20 Leu Ile Arg Ser Ser Lys Asp Val Ala Lys Pro Tyr Ile Glu Pro Leu  
 740 745 750  
 Leu Asn Val Leu Leu Pro Lys Phe Gln Asp Thr Ser Ser Thr Val Ala  
 755 760 765  
 25 Ser Thr Ala Leu Arg Thr Ile Gly Glu Leu Ser Val Val Gly Gly Glu  
 770 775 780  
 30 Asp Met Lys Ile Tyr Leu Lys Asp Leu Phe Pro Leu Ile Ile Lys Thr  
 785 790 795 800  
 Phe Gln Asp Gln Ser Asn Ser Phe Lys Arg Glu Ala Ala Leu Lys Ala  
 805 810 815  
 35 Leu Gly Gln Leu Ala Ala Ser Ser Gly Tyr Val Ile Asp Pro Leu Leu  
 820 825 830  
 40 Asp Tyr Pro Glu Leu Leu Gly Ile Leu Val Asn Ile Leu Lys Thr Glu  
 835 840 845  
 45 Asn Ser Gln Asn Ile Arg Arg Gln Thr Val Thr Leu Ile Gly Ile Leu  
 850 855 860  
 Gly Ala Ile Asp Pro Tyr Arg Gln Lys Glu Arg Glu Val Thr Ser Thr  
 865 870 875 880  
 50 Thr Asp Ile Ser Thr Glu Gln Asn Ala Pro Pro Ile Asp Ile Ala Leu  
 885 890 895  
 55 Leu Met Gln Gly Met Ser Pro Ser Asn Asp Glu Tyr Tyr Thr Thr Val  
 900 905 910

ES 2 647 081 T3

Val Ile His Cys Leu Leu Lys Ile Leu Lys Asp Pro Ser Leu Ser Ser  
 915 920 925

5 Tyr His Thr Ala Val Ile Gln Ala Ile Met His Ile Phe Gln Thr Leu  
 930 935 940

10 Gly Leu Lys Cys Val Ser Phe Leu Asp Gln Ile Ile Pro Thr Ile Leu  
 945 950 955 960

15 Asp Val Met Arg Thr Cys Ser Gln Ser Leu Leu Glu Phe Tyr Phe Gln  
 965 970 975

20 Gln Leu Cys Ser Leu Ile Ile Ile Val Arg Gln His Ile Arg Pro His  
 980 985 990

25 Val Asp Ser Ile Phe Gln Ala Ile Lys Asp Phe Ser Ser Val Ala Lys  
 995 1000 1005

30 Leu Gln Ile Thr Leu Val Ser Val Ile Glu Ala Ile Ser Lys Ala  
 1010 1015 1020

35 Leu Glu Gly Glu Phe Lys Arg Leu Val Pro Leu Thr Leu Thr Leu  
 1025 1030 1035

40 Phe Leu Val Ile Leu Glu Asn Asp Lys Ser Ser Asp Lys Val Leu  
 1040 1045 1050

45 Ser Arg Arg Val Leu Arg Leu Leu Glu Ser Phe Gly Pro Asn Leu  
 1055 1060 1065

50 Glu Gly Tyr Ser His Leu Ile Thr Pro Lys Ile Val Gln Met Ala  
 1070 1075 1080

55 Glu Phe Thr Ser Gly Asn Leu Gln Arg Ser Ala Ile Ile Thr Ile  
 1085 1090 1095

60 Gly Lys Leu Ala Lys Asp Val Asp Leu Phe Glu Met Ser Ser Arg  
 1100 1105 1110

Ile Val His Ser Leu Leu Arg Val Leu Ser Ser Thr Thr Ser Asp  
 1115 1120 1125

Glu Leu Ser Lys Val Ile Met Asn Thr Leu Ser Leu Leu Leu Ile  
 1130 1135 1140

Gln Met Gly Thr Ser Phe Ala Ile Phe Ile Pro Val Ile Asn Glu  
 1145 1150 1155

60

ES 2 647 081 T3

Val Leu Met Lys Lys His Ile Gln His Thr Ile Tyr Asp Asp Leu  
 1160 1165 1170  
 5 Thr Asn Arg Ile Leu Asn Asn Asp Val Leu Pro Thr Lys Ile Leu  
 1175 1180 1185  
 10 Glu Ala Asn Thr Thr Asp Tyr Lys Pro Ala Glu Gln Met Glu Ala  
 1190 1195 1200  
 15 Ala Asp Ala Gly Val Ala Lys Leu Pro Ile Asn Gln Ser Val Leu  
 1205 1210 1215  
 20 Lys Ser Ala Trp Asn Ser Ser Gln Gln Arg Thr Lys Glu Asp Trp  
 1220 1225 1230  
 25 Gln Glu Trp Ser Lys Arg Leu Ser Ile Gln Leu Leu Lys Glu Ser  
 1235 1240 1245  
 30 Pro Ser His Ala Leu Arg Ala Cys Ser Asn Leu Ala Ser Met Tyr  
 1250 1255 1260  
 35 Tyr Pro Leu Ala Lys Glu Leu Phe Asn Thr Ala Phe Ala Cys Val  
 1265 1270 1275  
 40 Trp Thr Glu Leu Tyr Ser Gln Tyr Gln Glu Asp Leu Ile Glu Ser  
 1280 1285 1290  
 45 Leu Cys Ile Ala Leu Ser Ser Pro Leu Asn Pro Pro Glu Ile His  
 1295 1300 1305  
 50 Gln Thr Leu Leu Asn Leu Val Glu Phe Met Glu His Asp Asp Lys  
 1310 1315 1320  
 55 Ala Leu Pro Ile Pro Thr Gln Ser Leu Gly Glu Tyr Ala Glu Arg  
 1325 1330 1335  
 60 Cys His Ala Tyr Ala Lys Ala Leu His Tyr Lys Glu Ile Lys Phe  
 1340 1345 1350  
 Ile Lys Glu Pro Glu Asn Ser Thr Ile Glu Ser Leu Ile Ser Ile  
 1355 1360 1365  
 Asn Asn Gln Leu Asn Gln Thr Asp Ala Ala Ile Gly Ile Leu Lys  
 1370 1375 1380  
 His Ala Gln Gln His His Ser Leu Gln Leu Lys Glu Thr Trp Phe  
 1385 1390 1395  
 Glu Lys Leu Glu Arg Trp Glu Asp Ala Leu His Ala Tyr Asn Glu

ES 2 647 081 T3

	1400		1405		1410															
5	Arg Glu 1415	Lys Ala Gly	Asp Thr 1420	Ser Val Ser	Val Thr 1425	Leu Gly Lys														
	Met Arg 1430	Ser Leu His	Ala Leu 1435	Ala Glu Trp	Glu Gln 1440	Leu Ser Gln														
10	Leu Ala 1445	Ala Arg Lys	Trp Lys 1450	Val Ser Lys	Leu Gln 1455	Thr Lys Lys														
15	Leu Ile 1460	Ala Pro Leu	Ala Ala 1465	Gly Ala Arg	Gly Gly 1470	Ser Gly Glu														
	Trp Asp 1475	Met Leu Asp	Glu Tyr 1480	Ile Ser Val	Met Lys 1485	Pro Lys Ser														
20	Pro Asp 1490	Lys Glu Phe	Phe Asp 1495	Ala Ile Leu	Tyr Leu 1500	His Lys Asn														
25	Asp Tyr 1505	Asp Asn Ala	Ser Lys 1510	His Ile Leu	Asn Ala 1515	Arg Asp Leu														
	Leu Val 1520	Thr Glu Ile	Ser Ala 1525	Leu Ile Asn	Glu Ser 1530	Tyr Asn Arg														
30	Ala Tyr 1535	Ser Val Ile	Val Arg 1540	Thr Gln Ile	Ile Thr 1545	Glu Phe Glu														
35	Glu Ile 1550	Ile Lys Tyr	Lys Gln 1555	Leu Pro Pro	Asn Ser 1560	Glu Lys Lys														
	Leu His 1565	Tyr Gln Asn	Leu Trp 1570	Thr Lys Arg	Leu Leu 1575	Gly Cys Gln														
40	Lys Asn 1580	Val Asp Leu	Trp Gln 1585	Arg Val Leu	Arg Ile 1590	Arg Ser Leu														
45	Val Ile 1595	Lys Pro Lys	Gln Asp 1600	Leu Gln Ile	Trp Ile 1605	Lys Phe Ala														
	Asn Leu 1610	Cys Arg Lys	Ser Gly 1615	Arg Met Arg	Leu Ala 1620	Asn Lys Ala														
50	Leu Asn 1625	Met Leu Leu	Glu Gly 1630	Gly Thr Ile	Leu Val 1635	Tyr Gln Ile														
55	Arg Ser 1640	Lys Pro Pro	Pro Pro 1645	Val Val Tyr	Ala Gln 1650	Leu Lys Tyr														

ES 2 647 081 T3

Ile Trp Ala Thr Gly Ala Tyr Lys Glu Ala Leu Asn His Leu Ile  
 1655 1660 1665  
 5 Gly Phe Thr Ser Arg Leu Ala His Asp Leu Gly Leu Asp Pro Asn  
 1670 1675 1680  
 10 Asn Met Ile Ala Gln Ser Val Lys Leu Ser Ser Ala Ser Thr Ala  
 1685 1690 1695  
 15 Pro Tyr Val Glu Glu Tyr Thr Lys Leu Leu Ala Arg Cys Phe Leu  
 1700 1705 1710  
 20 Lys Gln Gly Glu Trp Arg Ile Ala Thr Gln Pro Asn Trp Arg Asn  
 1715 1720 1725  
 25 Thr Asn Pro Asp Ala Ile Leu Gly Ser Tyr Leu Leu Ala Thr His  
 1730 1735 1740  
 30 Phe Asp Lys Asn Trp Tyr Lys Ala Trp His Asn Trp Ala Leu Ala  
 1745 1750 1755  
 35 Asn Phe Glu Val Ile Ser Met Val Gln Glu Glu Thr Lys Leu Asn  
 1760 1765 1770  
 40 Gly Gly Lys Asn Asp Asp Asp Asp Asp Thr Ala Val Asn Asn Asp  
 1775 1780 1785  
 45 Asn Val Arg Ile Asp Gly Ser Ile Leu Gly Ser Gly Ser Leu Thr  
 1790 1795 1800  
 50 Ile Asn Gly Asn Arg Tyr Pro Leu Glu Leu Ile Gln Arg His Val  
 1805 1810 1815  
 55 Val Pro Ala Ile Lys Gly Phe Phe His Ser Ile Ser Leu Leu Glu  
 1820 1825 1830  
 60 Thr Ser Cys Leu Gln Asp Thr Leu Arg Leu Ser Thr Leu Leu Phe  
 1835 1840 1845  
 65 Asn Phe Gly Gly Ile Lys Glu Val Ser Gln Ala Met Tyr Glu Gly  
 1850 1855 1860  
 70 Phe Asn Leu Met Lys Ile Glu Asn Trp Leu Glu Val Leu Pro Gln  
 1865 1870 1875  
 75 Leu Ile Ser Arg Ile His Gln Pro Asp Pro Thr Val Ser Asn Ser  
 1880 1885 1890  
 80

ES 2 647 081 T3

Leu Leu Ser Leu Leu Ser Asp Leu Gly Lys Ala His Pro Gln Ala  
 1895 1900 1905  
 5 Leu Val Tyr Pro Leu Thr Val Ala Ile Lys Ser Glu Ser Val Ser  
 1910 1915 1920  
 10 Arg Gln Lys Ala Ala Leu Ser Ile Ile Glu Lys Ile Arg Ile His  
 1925 1930 1935  
 15 Ser Pro Val Leu Val Asn Gln Ala Glu Leu Val Ser His Glu Leu  
 1940 1945 1950  
 20 Ile Arg Val Ala Val Leu Trp His Glu Leu Trp Tyr Glu Gly Leu  
 1955 1960 1965  
 25 Glu Asp Ala Ser Arg Gln Phe Phe Val Glu His Asn Ile Glu Lys  
 1970 1975 1980  
 30 Met Phe Ser Thr Leu Glu Pro Leu His Lys His Leu Gly Asn Glu  
 1985 1990 1995  
 35 Pro Gln Thr Leu Ser Glu Val Ser Phe Gln Lys Ser Phe Gly Arg  
 2000 2005 2010  
 40 Asp Leu Asn Asp Ala Tyr Glu Trp Leu Asn Asn Tyr Lys Lys Ser  
 2015 2020 2025  
 45 Lys Asp Ile Asn Asn Leu Asn Gln Ala Trp Asp Ile Tyr Tyr Asn  
 2030 2035 2040  
 50 Val Phe Arg Lys Ile Thr Arg Gln Ile Pro Gln Leu Gln Thr Leu  
 2045 2050 2055  
 55 Asp Leu Gln His Val Ser Pro Gln Leu Leu Ala Thr His Asp Leu  
 2060 2065 2070  
 60 Glu Leu Ala Val Pro Gly Thr Tyr Phe Pro Gly Lys Pro Thr Ile  
 2075 2080 2085  
 Arg Ile Ala Lys Phe Glu Pro Leu Phe Ser Val Ile Ser Ser Lys  
 2090 2095 2100  
 Gln Arg Pro Arg Lys Phe Ser Ile Lys Gly Ser Asp Gly Lys Asp  
 2105 2110 2115  
 Tyr Lys Tyr Val Leu Lys Gly His Glu Asp Ile Arg Gln Asp Ser  
 2120 2125 2130

ES 2 647 081 T3

Leu Val Met Gln Leu Phe Gly Leu Val Asn Thr Leu Leu Lys Asn  
 2135 2140 2145  
 5 Asp Ser Glu Cys Phe Lys Arg His Leu Asp Ile Gln Gln Tyr Pro  
 2150 2155 2160  
 10 Ala Ile Pro Leu Ser Pro Lys Ser Gly Leu Leu Gly Trp Val Pro  
 2165 2170 2175  
 15 Asn Ser Asp Thr Phe His Val Leu Ile Arg Glu His Arg Asp Ala  
 2180 2185 2190  
 20 Lys Lys Ile Pro Leu Asn Ile Glu His Trp Val Met Leu Gln Met  
 2195 2200 2205  
 25 Ala Pro Asp Tyr Glu Asn Leu Thr Leu Leu Gln Lys Ile Glu Val  
 2210 2215 2220  
 30 Phe Thr Tyr Ala Leu Asp Asn Thr Lys Gly Gln Asp Leu Tyr Lys  
 2225 2230 2235  
 35 Ile Leu Trp Leu Lys Ser Arg Ser Ser Glu Thr Trp Leu Glu Arg  
 2240 2245 2250  
 40 Arg Thr Thr Tyr Thr Arg Ser Leu Ala Val Met Ser Met Thr Gly  
 2255 2260 2265  
 45 Tyr Ile Leu Gly Leu Gly Asp Arg His Pro Ser Asn Leu Met Leu  
 2270 2275 2280  
 50 Asp Arg Ile Thr Gly Lys Val Ile His Ile Asp Phe Gly Asp Cys  
 2285 2290 2295  
 55 Phe Glu Ala Ala Ile Leu Arg Glu Lys Tyr Pro Glu Lys Val Pro  
 2300 2305 2310  
 60 Phe Arg Leu Thr Arg Met Leu Thr Tyr Ala Met Glu Val Ser Gly  
 2315 2320 2325  
 65 Ile Glu Gly Ser Phe Arg Ile Thr Cys Glu Asn Val Met Arg Val  
 2330 2335 2340  
 70 Leu Arg Asp Asn Lys Glu Ser Leu Met Ala Ile Leu Glu Ala Phe  
 2345 2350 2355  
 75 Ala Leu Asp Pro Leu Ile His Trp Gly Phe Asp Leu Pro Pro Gln  
 2360 2365 2370  
 80 Lys Leu Thr Glu Gln Thr Gly Ile Pro Leu Pro Leu Ile Asn Pro  
 2375 2380 2385

ES 2 647 081 T3

Ser Glu Leu Leu Arg Lys Gly Ala Ile Thr Val Glu Glu Ala Ala  
 2390 2395 2400  
 5  
 Asn Met Glu Ala Glu Gln Gln Asn Glu Thr Arg Asn Ala Arg Ala  
 2405 2410 2415  
 10  
 Met Leu Val Leu Arg Arg Ile Thr Asp Lys Leu Thr Gly Asn Asp  
 2420 2425 2430  
 15  
 Ile Lys Arg Phe Asn Glu Leu Asp Val Pro Glu Gln Val Asp Lys  
 2435 2440 2445  
 20  
 Leu Ile Gln Gln Ala Thr Ser Ile Glu Arg Leu Cys Gln His Tyr  
 2450 2455 2460  
 25  
 Ile Gly Trp Cys Pro Phe Trp  
 2465 2470

25 <210> 8  
 <211> 7413  
 <212> DNA  
 <213> Saccharomyces cerevisiae  
 30 <400> 8  
 atggaaccgc atgaggagca gatttgggaag agtaaaccttt tgaagcggc taacaacgat 60  
 atggacatgg atagaaatgt gccgttggca ccgaatctga atgtgaatat gaacatgaaa 120  
 35 atgaatgcga gcaggaacgg ggatgaattc ggtctgactt ctagtagggtt tgatggagtg 180  
 gtgattggca gtaatgggga tgtaaatctt aagcccattt tggagaaaat tttccgcaa 240  
 ttaaccagtg attacaagga ggaacgaaaa ttggccagta tttcattatt tgatctacta 300  
 40 gtatccttgg aacatgaatt gtcgatagaa gagttccaag cagtttcaa tgacataaac 360  
 aataagattt tggagctggt ccatacaaaa aaaacgagca ctagggtagg ggctgttcta 420  
 45 tccatagaca ctttgatttc attctacgca tatactgaaa ggttgccata cgaaacttca 480  
 cgactggctg gttaccttcg agggctaata ccttctaata atgtagaggt catgagactc 540  
 gctgcaaaga ctctgggcaa gttagccgtt ccaggaggta catatacctc tgatttcgtg 600  
 50 gaatttgaga taaagtcttg cttagaatgg cttactgcct ccacggaaaa gaattcattc 660  
 tcgagttcga agccagacca tgctaaacat gctgcgcttc tgattataac agcgttggca 720  
 gagaattgtc cttatttact ctaccaatac ttgaattcca tactagataa catttgaga 780  
 55 gcactaagag acccacattt ggtgatcaga attgatgcgt ccattacatt ggccaaatgt 840  
 ctttccacc tacgaaatag ggatcctcag ttaactagcc agtgggtgca gagattgget 900  
 60 acaagttgtg aatacggatt tcaagtaaac acattagaat gcatccatgc aagtttgtg 960



ES 2 647 081 T3

	gtttataagg	aaatcttggt	tttgaaggat	ccctttttga	atcaagtgtt	cgaccaaatg	1020
	tgtctaaatt	gcatagctta	tgaaaatcat	aaagcgaaaa	tgattagaga	aaagatttac	1080
5	cagattgttc	ccctattagc	atcgttcaat	cctcaattat	ttgctggcaa	atatttgcac	1140
	caaattatgg	acaactatth	agagatttta	accaatgctc	cagcaaataa	aataccacat	1200
	ctcaaagatg	acaaaccaca	gattttaata	tcgattgggtg	atattgcata	tgaagtcggg	1260
10	cccgatatcg	caccttatgt	gaaacaaatt	cttgattata	ttgaacatga	tttacagacg	1320
	aaattcaaat	tcagaaagaa	atthgaaaa	gaaatthttct	actgcatcgg	aagattggca	1380
	gttcccttgg	gccccgttct	aggtaaatta	ttaaacagaa	atatactgga	cctgatgttc	1440
15	aaatgcctc	tttccgacta	tatgcagaa	acgthtcaaa	ttctgactga	gagaatacca	1500
	tcactaggcc	ccaaaataaa	tgacgagttg	cttaacctag	tctgttcaac	cttatctgga	1560
	acaccattta	tccagccagg	gtcaccaatg	gagataccat	cgtthtctgag	agaaagagca	1620
20	agagaatgga	gaaataaaaa	catcctacag	aaaactgggtg	aaagtaacga	tgataataat	1680
	gatataaaaa	tcattataca	agctthttaga	atgthaaaa	atatcaaaag	cagattthtctg	1740
	ttggtggaat	tcgtgagaat	tgthtgcactt	tcttacattg	agcatacaga	tcccagagta	1800
25	aggaaactag	ctgcgthtgc	atctthtgaa	atthtacctca	aggataacat	ctgcaaaaca	1860
	acatcactac	actctctgaa	cactgtatct	gaagthttht	caaagcttht	agccattacg	1920
	attgcccagc	ctthtacaaga	tatcccgttht	gaagthttht	agaatcttht	tccatgtht	1980
30	gatccccagt	tggcacaacc	agataattht	agactcttht	ttactgcact	gcacgatgag	2040
	tcgthtcaata	tthcagthcag	agcaatggag	ctthtgcggt	ggthtgcct	cgthtaaccct	2100
	gcatacgtca	tcccactcgt	aagaaaaata	ctactggaac	tgctaaacaa	atthaaattht	2160
35	tcaacttht	ctcgagaaaa	ggaagaaact	gccagthtgt	tatgtactct	tatcaggtcg	2220
	agthaaagatg	tgcgaaacc	ttatctgaa	cctcttht	atgthtcttht	accaaatht	2280
	caagatacct	ctthtcaacggt	tgcatcaact	gcactgagaa	ctataggtga	gctatctgt	2340
40	gtagggggcg	aagatctgaa	gatctatct	aagatthtgt	thtcttht	tatcaaaaca	2400
	thtctcagatc	aatcaaacct	thtcaagaga	gaagctgcac	thtaaggccct	tggthcaact	2460
	gcagcctcat	ctggthtactg	gatagatcct	thtactcgact	atcccgaatt	atthgggtata	2520
45	thtggthgaata	tattgaaagac	agaaaactct	caaaatatta	ggagacaaac	agthcacttht	2580
	ataggtatac	tgggagctat	cgaccatata	cgccaaaaag	aacgtgaggt	tactctact	2640
	accgatata	ctacagaaca	gaacgccccg	cctatcgaca	thtctctct	catgcagggc	2700
50	atgtctctct	cgaatgatga	gtattatacc	actgtthtgc	thtactgcct	gctaaaaatc	2760
	ctaaaagatc	catccctatc	atcttaccac	actgccgtga	tccaagcgat	tatgcatatt	2820
	thtcaaacct	tggthtctaaa	atgtgthtca	thtctggacc	agatcatccc	aactattht	2880
55	gacgtaatgc	gtacatgctc	tcagthcacta	thtagaatht	actthcaaca	gctthtctct	2940
60							

ES 2 647 081 T3

	ttgattatta	tcgtaaggca	acacataaga	cctcatgtcg	attctatatt	ccaggtatc	3000
	aaagatTTTT	cttcggttgc	taagctacaa	ataacgcttg	taagtgttat	tgaagcaata	3060
5	tcaaaggctc	tggagggtga	attcaaaaaga	ttggtccctc	ttactctgac	cttgttcctt	3120
	gtaatTTTtg	agaatgacaa	gtctagtgc	aaggtcctct	ccagaagggt	attgagactg	3180
	ttagaatcgt	ttggtcctaa	cttagaaggt	tattcgcatt	tgattacacc	caagatagtt	3240
10	caaatggcag	aattcaccag	cggaaccta	caaaggctc	caataattac	tattggcaaa	3300
	ctggccaagg	atggtgacct	ttttgagatg	tcctcaagaa	ttgttcactc	tttacttagg	3360
	gtactaagtt	caacaacgag	tgacgaactc	tcaaagtc	ttatgaatac	tttaagtcta	3420
15	ctgctaatac	aatgggcac	atcctttgct	atcttcatcc	ctgtcattaa	tgaagTTTTa	3480
	atgaagaaac	atattcaaca	cacaatatat	gatgacttga	caaacagaat	attaaacaat	3540
	gatgTTTTac	ccacaaaaat	tcttgaagca	aatacaacgg	attataagcc	cgcggaacaa	3600
20	atggaggcag	cagatgctgg	ggtcgcaaaa	ttacctataa	accaatcagt	tttgaaaagt	3660
	gcatggaatt	ctagccaaca	aagaactaaa	gaagattggc	aggaatggag	caaacgtcta	3720
	tccattcaat	tattaaaaga	gtcaccctcc	catgctctaa	gagcttgctc	aaatcttgca	3780
25	agcatgtatt	atccactagc	caaagaactt	tttaataccg	cattcgcattg	tgTTTTgacc	3840
	gaactTTata	gccaatatca	agaagattta	attgggtcat	tatgtatagc	cttatcttct	3900
	cccttaaadc	caccagaaat	acatcaaaca	ttgttaaacc	tggtagaatt	tatggaacac	3960
30	gatgacaagg	cattaccaat	accaactcaa	agcctgggcg	agtatgctga	aagatgtcac	4020
	gcctatgcc	aagcgctaca	ttataaagag	attaaattta	ttaaagagcc	tgagaactca	4080
	actattgaat	cattgatcag	cattaacaac	cagctgaatc	aaacggatgc	tgcaattggt	4140
35	atattaaagc	atgcccaaca	acatcattca	cttcaattaa	aggagacatg	gtttgaaaaa	4200
	ttagagcgtt	gggaagatgc	actacatgct	tataatgaac	gtgaaaaggc	aggtgatact	4260
	tccgtgagcg	ttacactcgg	taagatgaga	tccttcatg	cccttggcga	atgggaacag	4320
40	ttgtcgcaat	tggcagctag	aaagtggaaa	gtttcgaagc	tacaaactaa	gaagctaata	4380
	gtcccttgg	cagctggtgc	tgctggggg	ttgggagagt	gggatatgct	tgagcaatat	4440
45	atcagcgtta	tgaaacctaa	atctccagat	aaggaatttt	ttgatgcaat	tttatacttg	4500
	cacaagaatg	attacgacaa	tgctagtaag	catatattaa	acgccagaga	tttgccttg	4560
	actgaaatTT	ccgcttgat	caatgaaagt	tataatagag	catatagcgt	tattgttaga	4620
50	actcaataa	taacagagtt	tgaggaaatc	atcaagtata	aacaattgcc	acctaattcc	4680
	gagaaaaaac	ttcactatca	aaatcttgg	acaaaaagac	tgctgggctg	ccaaaaaat	4740
	gtcgatttat	ggcaagaggt	gcttagagta	agatcattgg	taataaagcc	caagcaagac	4800
55	ctgcaaatat	ggataaaat	tgcaaatTTg	tgcaaaaaat	ctggtagaat	gaggctagca	4860

ES 2 647 081 T3

aataaggcat tgaatatgct actagaagga ggcaacgac ctagtttacc aaatacgttc 4920  
 aaagctcctc ccccagttgt ttacgcgcaa ctaaaatata tttgggctac aggagcttat 4980  
 5 aaagaagcat taaaccactt gataggatth acatccaggt tagcgcagta tcttggtttg 5040  
 gatccgaata atatgatcgc gcaaagtgtc aaactctcaa gtgcaagtac tgctccgtat 5100  
 gttgaggaat acacaaaatt attagctcga tgttttttaa agcaaggtga gtggagaata 5160  
 10 gcaacacaac cgaactggag aaacacaaat cgggatgcaa ttcttggttc ttatctattg 5220  
 gctacacatt tcgataaaaa ttggtacaag gcatggcata attgggcctt agctaatttt 5280  
 gaagtaatat ccatgggtca ggaagagact aagctcaacg gaggtaagaa tgatgatgat 5340  
 15 gatgacacgg cagttaataa tgataatgtg cggattgacg gtagtatcct aggaagtgg 5400  
 tctttgacta ttaatggcaa cagatacccg ctagagctta ttcaaagaca tgttgttcca 5460  
 gcgatcaagg gcttttttca ttcaatatct ctattagaaa caagttgttt gcaagacacg 5520  
 20 ttgaggttat tgactctttt atttaacttt ggtggtatta aagaagtctc acaagccatg 5580  
 tatgaaggct tcaatttgat gaaaatagag aactggcttg aagtcttacc acagttgatc 5640  
 tctcgtatac atcagccaga tcctacggtg agtaattccc ttttgcggtt gctttctgat 5700  
 25 ttgaggaaag ctcatccaca agctctcgtg tacccttaa ctgtcgcgat caagtctgaa 5760  
 tctgtttcaa gacaaaaagc ggctctttca ataatagaga aaattaggat tcatagtcca 5820  
 gtcctggtaa accaggcaga attagttagt cacgagttga tcagagtagc cgttctatgg 5880  
 30 cacgaattat ggtatgaagg actggaagat gcgagccgcc aatttttctg tgaacataac 5940  
 atagaaaaaa tgttttctac tttagaacct ttacataaac acttaggcaa tgagcctcaa 6000  
 acgttaagtg aggtatcgtt tcagaaatca tttggtagag atttgaacga tgcctacgaa 6060  
 35 tggttgaata actacaaaaa gtcaaaagac atcaataatt tgaaccaagc ttgggatatt 6120  
 tattataacg tcttcagaaa aataacacgt caaataccac agttacaaac cttagactta 6180  
 cagcatgttt ctccccagct tctggctact catgatctcg aattggctgt tcctgggaca 6240  
 40 tatttcccag gaaaacctac cattagaata gcgaagtttg agccattatt ttctgtgatc 6300  
 tcttcgaagc aaaggccaag aaaattctcc atcaagggta gcgacggtaa agattataaa 6360  
 tacgttttaa agggacatga agatataaga caagatagcc ttgttatgca attatttgg 6420  
 45 ctagttaaca ctttggtgaa gaatgattca gagtgtttca agagacattt ggatatccaa 6480  
 caatacccg cttattccatt gtgcctaaa tctggtttac taggatgggt accaaatagt 6540  
 gacacattcc acgttttgat cagagaacac cgtgatgcca aaaaaattcc gttgaacatt 6600  
 50 gaacattggg ttatgttaca aatggccccc gattatgaga atttgactct tttacaaaaa 6660  
 attgaagtat tcacgtacgc tttagataat acaaaaggcc aagacctta taaaatatta 6720  
 tggttaaaga gtaggtcgtc agagacatgg ctagaacgta gaacaactta tacgagatct 6780  
 55 ttagcagtta tgtccatgac tggttatatt ctgggactag gtgatcgcca tccaagcaac 6840

ES 2 647 081 T3

ctgatgctag atagaatcac cggtaaagtt atccacattg atttcggcga ttgttttgaa 6900  
 gctgccatct taagagaaaa gtatccagaa aaagtgccat ttagactaac taggatgtta 6960  
 5 acatacgcga tggaagttag tggaattgaa ggcagtttcc gaattacttg tgaaaatgtc 7020  
 atgagagtct taagagataa taaagaatca ttaatggcga tcttgaagc ttttgcgctt 7080  
 gatcctttga tccattgggg atttgattta ccgccacaaa aacttactga gcaaactgga 7140  
 10 attcctttgc cgttgattaa tcctagttaa ttattaagga agggggcaat tactgtcgaa 7200  
 gaagcggcga atatggaagc agaacaacaa aatgagacca aaaacgccag agcaatgctt 7260  
 15 gttttgagac gtattacaga taaattaacg ggcaatgata tcaagaggtt caatgaatta 7320  
 gacgtccctg agcaggttga taaactgac caacaagcca cttctattga aaggttatgt 7380  
 caacattata ttggatggtg cccattctgg tga 7413

20  
 <210> 9  
 <211> 471  
 <212> PRT  
 <213> Saccharomyces cerevisiae  
 25 <400> 9

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

ES 2 647 081 T3

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

ES 2 647 081 T3

	Val	Ser	His	Lys	Gly	Thr	Val	Asn	Glu	Gly	His	Tyr	Ile	Ala	Phe	Cys	
				420					425					430			
5																	
	Lys	Ile	Ser	Gly	Gly	Gln	Trp	Phe	Lys	Phe	Asn	Asp	Ser	Met	Val	Ser	
			435					440					445				
10																	
	Ser	Ile	Ser	Gln	Glu	Glu	Val	Leu	Lys	Glu	Gln	Ala	Tyr	Leu	Leu	Phe	
		450					455					460					
15	Tyr	Thr	Ile	Arg	Gln	Val	Asn										
	465					470											
	<210>	10															
	<211>	1416															
	<212>	DNA															
20	<213>	Saccharomyces cerevisiae															
	<400>	10															
	atgagcattt	gtccacatat	acagcaagta	tttcagaatg	aaaagtctaa	agatgggggtt											60
25																	
	ctaaaaacgt	gcaatgctgc	caggtatata	ttaaatacatt	ccgtacccaa	ggaaaaattc											120
	ttaaacacca	tgaaatgtgg	tacatgccac	gaaataaaact	ctgggtgcaac	tttcatgtgt											180
	ctacaatgtg	gattttgtgg	atgttggaac	cattcgcatt	ttctctctca	cagtaaacag											240
30																	
	attggtcaca	tatttggtat	caactcaaat	aatggccttt	tattttgctt	caaatgtgag											300
	gactatatag	ggaatatoga	tctgattaac	gatgctatcc	tagcgaagta	ttgggacgac											360
	gtgtgcacaa	agaccatggt	tcctagcatg	gaaagaagag	atgggctttc	tggcctgatc											420
35																	
	aacatgggat	ccacttgttt	catgagtagt	attctccaat	gtctaatacca	taacccttac											480
	tttattaggc	actcaatgag	tcaaattcat	tctaataatt	gtaaagtgcg	ttctccagat											540
	aaatgttttt	catgtgcact	cgataaaatt	gttcatgaac	tttatggagc	gctgaataca											600
40																	
	aagcaagctt	cttcgtcatc	tacatctact	aatcggcaaa	ccggattcat	atatctttta											660
	acttgtgcct	ggaaaatcaa	tcaaaatcta	gcagggtatt	cacaacaaga	tgctcatgaa											720
45																	
	ttttggcagt	ttataattaa	ccaaatccac	caaagctatg	ttcttgattt	gccaaatgcc											780
	aaggaagtca	gcagagcaaa	taataagcag	tgtgaatgca	tagtgcatac	tgtgtttgag											840
	ggctccttgg	aaagttctat	tgtgtgtcca	ggctgtcaaa	ataattcaaa	gacaaccatt											900
50																	
	gatccattct	tggatctttc	tctggatatac	aaggataaga	aaaaacttta	tgaatgtctt											960
	gacagtttcc	ataaaaaaga	acagttgaag	gatttcaact	atcattgtgg	ggagtgtaac											1020
	agcactcaag	atgcaataaa	gcaactaggc	atacaciaaat	taccatcggt	tttggttttg											1080
55																	
	caattgaaaa	gattcgaaca	cctacttaat	ggaagtaaca	gaaaactaga	cgattttatt											1140
	gaatttccaa	cttatttaaa	tatgaaaaat	tactgttcaa	cgaaggaaaa	agataagcat											1200
60																	

ES 2 647 081 T3

tctgaaaatg gcaagggtcc agacattatt tacgaattaa tcggtattgt ttcccacaag 1260  
 5 gggacgggta atgagggaca ttatattgca ttttgtaaaa tttctggagg gcaatgggtt 1320  
 aaattcaatg attccatggt ctctctata tctcaagaag aggtttttaa ggaacaggca 1380  
 tatttattat tctacaccat tcgtcaagta aattga 1416

10 <210> 11  
 <211> 1332  
 <212> PRT  
 <213> Saccharomyces cerevisiae  
 <400> 11

15 Met Thr Glu Arg Ile Pro Ile Lys Asn Tyr Gln Arg Thr Asn Ala Lys  
 1 5 10 15

20 Ala Leu Leu Lys Leu Thr Glu Lys Leu Phe Asn Lys Asn Phe Phe Asp  
 20 25 30

25 Leu Tyr Leu Thr Ser Gln Gln Leu Val Val Leu Glu Tyr Leu Leu Ser  
 35 40 45

30 Ile Ser Ser Glu Glu Asp Lys Leu Lys Ala Trp Asp Tyr Phe Leu Lys  
 50 55 60

35 Gly Asn Ile Ala Leu Asn Val Glu Lys Ser Phe Pro Leu Thr Gln Glu  
 65 70 75 80

40 Glu Glu His His Gly Ala Val Ser Pro Ala Val Asp Thr Arg Ser Asp  
 85 90 95

45 Asp Val Ser Ser Gln Thr Ile Lys Asp Asn Asn Asn Thr Asn Thr Asn  
 100 105 110

50 Thr Ser Ile Ser Asn Glu Asn His Val Glu Asn Glu Ile Glu Asp Lys  
 115 120 125

55 Gly Asp Asn Ala Ile Ala Asn Glu Asp Asn Phe Val Asn Asn Asp Glu  
 130 135 140

60 Ser Asp Asn Val Glu Glu Asp Leu Phe Lys Leu Asp Leu Glu Asp Leu  
 145 150 155 160

Lys Gln Gln Ile Ser Gly Thr Arg Phe Ile Gly Asn Leu Ser Leu Lys  
 165 170 175

Ile Arg Tyr Val Leu Trp Gln Cys Ala Ile Asp Tyr Ile Tyr Cys Asp  
 180 185 190

60 Arg Asn Glu Phe Gly Asp Glu Asn Asp Thr Glu Tyr Thr Leu Leu Asp  
 195 200 205

ES 2 647 081 T3

Val Glu Glu Lys Glu Glu Glu Glu Ile Gly Lys Asn Glu Lys Pro Gln  
 210 215 220  
 5  
 Asn Lys Glu Gly Ile Ser Lys Phe Ala Glu Asp Glu Asp Tyr Asp Asp  
 225 230 235 240  
 10  
 Glu Asp Glu Asn Tyr Asp Glu Asp Ser Thr Asp Val Lys Asn Val Asp  
 245 250 255  
 Asp Pro Pro Lys Asn Leu Asp Ser Ile Ser Ser Ser Asn Ile Glu Ile  
 260 265 270  
 15  
 Asp Asp Glu Arg Arg Leu Val Leu Asn Ile Ser Ile Ser Lys Glu Thr  
 275 280 285  
 20  
 Leu Ser Lys Leu Lys Thr Asn Asn Val Glu Glu Ile Met Gly Asn Trp  
 290 295 300  
 25  
 Asn Lys Ile Tyr His Ser Phe Glu Tyr Asp Lys Glu Thr Met Ile Lys  
 305 310 315 320  
 30  
 Arg Leu Lys Leu Glu Glu Ser Asp Lys Met Ile Glu Lys Gly Lys Lys  
 325 330 335  
 35  
 Lys Arg Ser Arg Ser Asp Leu Glu Ala Ala Thr Asp Glu Gln Asp Arg  
 340 345 350  
 40  
 Glu Asn Thr Asn Asp Glu Pro Asp Thr Asn Gln Lys Leu Pro Thr Pro  
 355 360 365  
 45  
 Glu Gly Ser Thr Phe Ser Asp Thr Gly Asn Lys Arg Pro Lys Gln Ser  
 370 375 380  
 50  
 Asn Leu Asp Leu Thr Val Asn Leu Gly Ile Glu Asn Leu Ser Leu Lys  
 385 390 395 400  
 55  
 His Leu Leu Ser Ser Ile Gln Gln Lys Lys Ser Gln Leu Gly Ile Ser  
 405 410 415  
 Asp Tyr Glu Leu Lys His Leu Ile Met Asp Val Arg Lys Asn Arg Ser  
 420 425 430  
 Lys Trp Thr Ser Asp Glu Arg Ile Gly Gln Glu Glu Leu Tyr Glu Ala  
 435 440 445  
 Cys Glu Lys Val Val Leu Glu Leu Arg Asn Tyr Thr Glu His Ser Thr  
 450 455 460



ES 2 647 081 T3

Pro Phe Leu Asn Lys Val Ser Lys Arg Glu Ala Pro Asn Tyr His Gln  
 465 470 475 480  
 5  
 Ile Ile Lys Lys Ser Met Asp Leu Asn Thr Val Leu Lys Lys Leu Lys  
 485 490 495  
 10  
 Ser Phe Gln Tyr Asp Ser Lys Gln Glu Phe Val Asp Asp Ile Met Leu  
 500 505 510  
 15  
 Ile Trp Lys Asn Cys Leu Thr Tyr Asn Ser Asp Pro Ser His Phe Leu  
 515 520 525  
 20  
 Arg Gly His Ala Ile Ala Met Gln Lys Lys Ser Leu Gln Leu Ile Arg  
 530 535 540  
 25  
 Met Ile Pro Asn Ile Thr Ile Arg Asn Arg Ala Asp Leu Glu Lys Glu  
 545 550 555 560  
 30  
 Ile Glu Asp Met Glu Lys Asp Lys Asp Tyr Glu Leu Asp Glu Glu Glu  
 565 570 575  
 35  
 Glu Val Ala Gly Ser Gly Arg Lys Gly Leu Asn Met Gly Ala His Met  
 580 585 590  
 40  
 Leu Ala Lys Glu Asn Gly Lys Val Ser Glu Lys Asp Ser Ser Lys Thr  
 595 600 605  
 45  
 Val Lys Asp Glu Ala Pro Thr Asn Asp Asp Lys Leu Thr Ser Val Ile  
 610 615 620  
 50  
 Pro Glu Gly Glu Lys Glu Lys Asp Lys Thr Ala Ser Ser Thr Val Thr  
 625 630 635 640  
 55  
 Val His Glu Asn Val Asn Lys Asn Glu Ile Lys Glu Asn Gly Lys Asn  
 645 650 655  
 60  
 Glu Glu Gln Asp Met Val Glu Glu Ser Ser Lys Thr Glu Asp Ser Ser  
 660 665 670  
 Lys Asp Ala Asp Ala Ala Lys Lys Asp Thr Glu Asp Gly Leu Gln Asp  
 675 680 685  
 Lys Thr Ala Glu Asn Lys Glu Ala Gly Glu Asn Asn Glu Glu Glu Glu  
 690 695 700  
 Asp Asp Asp Asp Glu Asp Glu Asp Glu Asp Met Val Asp Ser Gln Ser  
 705 710 715 720

ES 2 647 081 T3

Tyr Leu Leu Glu Lys Asp Asp Asp Arg Asp Asp Leu Glu Ile Ser Val  
 725 730 735  
 5 Trp Lys Thr Val Thr Ala Lys Val Arg Ala Glu Ile Cys Leu Lys Arg  
 740 745 750  
 10 Thr Glu Tyr Phe Lys Asn Gly Lys Leu Asn Ser Asp Ser Glu Ala Phe  
 755 760 765  
 15 Leu Lys Asn Pro Gln Arg Met Lys Arg Phe Asp Gln Leu Phe Leu Glu  
 770 775 780  
 20 Tyr Lys Glu Gln Lys Ala Leu Glu Ser Tyr Arg Gln Lys Ile Glu Gln  
 785 790 795 800  
 25 Asn Ser Ile Met Lys Asn Gly Phe Gly Thr Val Leu Lys Gln Glu Asp  
 805 810 815  
 30 Asp Asp Gln Leu Gln Phe His Asn Asp His Ser Leu Asn Gly Asn Glu  
 820 825 830  
 35 Ala Phe Glu Lys Gln Pro Asn Asp Ile Glu Leu Asp Asp Thr Arg Phe  
 835 840 845  
 40 Leu Gln Glu Tyr Asp Ile Ser Asn Ala Ile Pro Asp Ile Val Tyr Glu  
 850 855 860  
 45 Gly Val Asn Thr Lys Thr Leu Asp Lys Met Glu Asp Ala Ser Val Asp  
 865 870 875 880  
 50 Arg Met Leu Gln Asn Gly Ile Asn Lys Gln Ser Arg Phe Leu Ala Asn  
 885 890 895  
 55 Lys Asp Leu Gly Leu Thr Pro Lys Met Asn Gln Asn Ile Thr Leu Ile  
 900 905 910  
 60 Gln Gln Ile Arg His Ile Cys His Lys Ile Ser Leu Ile Arg Met Leu  
 915 920 925  
 65 Gln Ser Pro Leu Ser Ala Gln Asn Ser Arg Ser Asn Pro Asn Ala Phe  
 930 935 940  
 70 Leu Asn Asn His Ile Tyr Asn Tyr Thr Ile Ile Asp Asp Ser Leu Asp  
 945 950 955 960  
 75 Ile Asp Pro Val Ser Gln Leu Pro Thr His Asp Tyr Lys Asn Asn Arg  
 965 970 975

ES 2 647 081 T3

Glu Leu Ile Trp Lys Phe Met His Lys Asn Ile Ser Lys Val Ala Met  
 980 985 990

5 Ala Asn Gly Phe Glu Thr Ala His Pro Ser Ala Ile Asn Met Leu Thr  
 995 1000 1005

10 Glu Ile Ala Gly Asp Tyr Leu Ser Asn Leu Ile Lys Thr Leu Lys  
 1010 1015 1020

Leu His His Glu Thr Asn Ser Leu Asn Arg Gly Thr Asn Val Glu  
 1025 1030 1035

15 Met Leu Gln Thr Thr Leu Leu Glu Asn Gly Ile Asn Arg Pro Asp  
 1040 1045 1050

20 Asp Leu Phe Ser Tyr Val Glu Ser Glu Phe Gly Lys Lys Thr Lys  
 1055 1060 1065

Lys Leu Gln Asp Ile Lys Gln Lys Leu Glu Ser Phe Leu Arg Ala  
 1070 1075 1080

25 Leu Leu Arg Pro Thr Leu Gln Glu Leu Ser Glu Arg Asn Phe Glu  
 1085 1090 1095

30 Asp Glu Ser Gln Ser Phe Phe Thr Gly Asp Phe Ala Ser Glu Leu  
 1100 1105 1110

Thr Gly Glu Asp Phe Phe Gly Phe Arg Glu Leu Gly Leu Glu Lys  
 1115 1120 1125

35 Glu Phe Gly Val Leu Ser Ser Ser Val Pro Leu Gln Leu Leu Thr  
 1130 1135 1140

40 Thr Gln Phe Gln Thr Val Asp Gly Glu Thr Lys Val Gln Ala Lys  
 1145 1150 1155

Lys Ile Gln Pro Glu Glu Ser Asp Ser Ile Val Tyr Lys Lys Ile  
 1160 1165 1170

45 Thr Lys Gly Met Leu Asp Ala Gly Ser Phe Trp Asn Thr Leu Leu  
 1175 1180 1185

50 Pro Leu Leu Gln Lys Asp Tyr Glu Arg Ser Lys Ala Tyr Ile Ala  
 1190 1195 1200

55 Lys Gln Ser Lys Ser Ser Ala Asn Asp Lys Thr Ser Met Thr Ser  
 1205 1210 1215

Thr Glu Asp Asn Ser Phe Ala Leu Leu Glu Glu Asp Gln Phe Val

ES 2 647 081 T3

	1220		1225		1230	
5	Ser Lys Lys Thr Ala Thr	Lys Lys	Ala Arg Leu Pro	Pro Thr Gly Lys		
	1235	1240	1245			
10	Ile Ser Thr Thr Tyr Lys	Lys Lys	Lys Pro Ile Ala Ser	Ala Phe Ile		
	1250	1255	1260			
15	Leu Pro Glu Glu Asp Leu	Glu Asn Asp Val Lys	Ala Asp Pro Thr			
	1265	1270	1275			
20	Thr Thr Val Asn Ala Lys	Val Gly Ala Glu Asn Asp	Gly Asp Ser			
	1280	1285	1290			
25	Ser Leu Phe Leu Arg Thr	Pro Gln Pro Leu Asp	Pro Leu Asp Met			
	1295	1300	1305			
30	Asp Asp Ala Phe Asp Asp	Thr Asn Met Gly Ser Asn	Ser Ser Phe			
	1310	1315	1320			
35	Ser Leu Ser Leu Pro Arg	Leu Asn Gln				
	1325	1330				
30	<210> 12					
	<211> 3999					
	<212> DNA					
	<213> Saccharomyces cerevisiae					
35	<400> 12					
	atgactgaaa gaataccaat aaagaattat caaagaacaa atgccaaagc tttacttaaa	60				
	ttgactgaaa aactttttaa caagaacttt tttgatctct atttaacctc tcagcaattg	120				
40	gtcgttcttg aatactgct gtcgatttca agtgaagaag acaaactgaa agcatgggac	180				
	tatttcttaa agggaaacat agcattaaat gtcgaaaaat catttccatt aaccaagaa	240				
	gaagaacatc acggagcggg ctctcctgcc gttgacacac gatcagatga tgtatcatca	300				
45	caaacaatta aggacaataa caatactaata accaacacca gtatcagcaa tgaaaatcat	360				
	gttgaaaatg aaattgaaga taaaggcgat aacgcaatag caaatgaaga taattttgtg	420				
50	aataatgacg aaagtgataa tgttgaagaa gacttattca aattagatct agaggacttg	480				
	aagcagcaaa taagcggaac aaggtttatt ggaaacttat ccttgaaaat cagatacgtc	540				
	ttgtggcagt gcgccataga ttatatatac tgtgatcgta atgagtttgg tgatgaaaat	600				
55	gatacagaat acaccctatt agatgttgaa gagaaggagg aagaggaaat tggtaaaaat	660				
	gagaagccac aaaacaaaga aggtatttcg aagttcgcgg aggatgaaga ttacgacgat	720				
	gaagacgaga actatgatga agacagtaca gacgtaaaaa atgtcgatga tcctccaaaa	780				
60	aatctcgatt ctatttcctc ttctaataatc gaaattgacg atgaacgacg cttgggtgcta	840				

ES 2 647 081 T3

	aatatctcaa tatcaaaaga aacctgtca aagttaaaaa caaataatgt agaagaatt	900
	atgggaaatt ggaacaaaat ttaccacagt tttgaatacg ataaagaaac tatgataaag	960
5	cgattaaaac ttgaagaaag cgataaaatg atagagaaag gaaagaaga acgaagtcga	1020
	agtgatttag aagcagctac cgatgaacaa gatcgcgaaa atacaaatga tgagccagat	1080
	actaatcaaa aattgccac tcctgaaggt tcaacattca gcgatactgg gaacaagcgc	1140
10	cccaaacaaa gtaatttaga tttaacagtc aatctaggca tcgaaaattt atcattaag	1200
	caccttctat catctatcca gcaaaaaaaaa tcccaattag gaatatcaga ttacgaatta	1260
	aaacatctga ttatggatgt cagaaaaaat cggtaaaaat ggacatcggg tgaaagaatt	1320
15	gggcaagagg aattatacga agcctgtgaa aaggttgttt tggaaacttag aaactacact	1380
	gagcattcta caccatttct gaataaagtg agcaaaagag aagccccaa ttatcatcaa	1440
	atcatcaaaa agtccatgga cctgaatact gttttaaaaa aactgaaaag ctttcaatat	1500
20	gactccaaac aagaatttgt agacgatatt atgctaatat ggaaaaattg tttgacctat	1560
	aattcagatc cttcacattt tttgagaggg catgctattg ctatgcagaa gaaatctctt	1620
	cagttgattc gcatgattcc aaatatacaca atccgaaaca gggctgattt agaaaaggaa	1680
25	attgaagata tggaaaaaga caaagactac gaattagatg aggaagaggg agttgctggt	1740
	tctggaagaa aaggattgaa tatgggagct catatgttgg ccaaagagaa tggcaaggtg	1800
	tcagaaaaag atagctctaa aaccgtcaag gatgaagcac caaccaatga tgacaaacta	1860
30	acttctgtca tccctgaggg ggaaaaagag aaagataaaa ctgcttcatac tactgtaacg	1920
	gtacacgaaa atgtaataa gaacgaaata aaagaaaatg ggaaaaatga agagcaagat	1980
	atggttgagg aaagtagtaa gactgaggat tcatacaaaag atgctgatgc tgccaaaaag	2040
35	gatacggag acggactaca agataaaact gcagaaaata aggaggctgg ggaaaaaat	2100
	gaagaggaag aggatgatga tgacgaagat gaagacgaag acatggtcga ctcccaatct	2160
	tatttacttg aaaaggatga cgatagagac gatttgaaa tatccgtgtg gaaaactgta	2220
40	actgccaaag ttcgtgcgga aatttgctta aaaagaactg aatattttaa aaatggaaaa	2280
	ttaaatagtg attcagaggc gttttgaaa aaccacaaa gaatgaaaag gttcgaccag	2340
	ctttttcttg aatataaaga gcagaaagct ttagaatcat atcgtcaaaa aatagagcaa	2400
45	aattccatta tgaaaaatgg ctttggaaca gtactaaaac aggaagacga tgaccaattg	2460
	cagtttcata atgatcactc tttaaatgga aatgaagctt ttgaaaagca acccaatgat	2520
	attgagttag atgataccag attcctacag gaatatgata ttagtaacgc cattcctgac	2580
50	atagtatacg agggagtaaa tactaaaaca ttagacaaga tggaaagcgc ttccgtggac	2640
	cgcatgcttc aaaatggtat caacaaacaa agcagatttc tggctaacia ggatttagga	2700
	ctaacaccta aaatgaacca aaatatacaca ctgattcagc aaattaggca catatgccat	2760
55	aaaatatccc tgatcagaat gttacagagc cttttatcgg ctcaaaactc cagaagcaat	2820

ES 2 647 081 T3

5      cccaacgctt tccttaacaa ccacatttat aattacacta ttattgatga ctcaactgat      2880  
       attgatccgg tgtcacagct tccaacgcat gattacaaaa acaacagggg gctgatatgg      2940  
 10     aaattcatgc ataagaacat atctaagggtt gctatggcca atggggttga aactgccccat      3000  
       ccatcagcaa taaacatgct tactgaaatc gccgggggatt acctatctaa tctgataaag      3060  
       actttgaagc ttcatcatga aactaactcc ttaaatagag gaacaaatgt ggaaatgctg      3120  
       caacaacac tgttggaaaa cggtatcaac aggccagacg atctattttc ctatgttgaa      3180  
       tctgaatttg gtaaaaaaac taagaaactt caggacatca aacagaaact agaaagcttt      3240  
 15     ttgagagcct tattaaggcc aactttgcag gagtgtgccg agagaaactt tgaagacgag      3300  
       agccaaagct tttttacagg tgactttgcc agcgaattga ctggtgaaga cttctttggt      3360  
       tttagagagc ttggattaga aaaggagttt ggagttttga gttcatctgt tccattacag      3420  
 20     ttactgacta ctcagtttca aactggtgac ggggaaacca aagtgcaggc caaaaagatc      3480  
       caaccggaag aatcagacag cattgtgtat aagaaaatta caaaaggatg gctggatgct      3540  
       ggttcattct ggaataactct acttccccta ttacaaaaag attatgaacg ttccaaggcc      3600  
 25     tatatagcaa agcaaagcaa gtcactctgca aatgataaaa cctcaatgac ttccacagaa      3660  
       gacaattctt tcgctttact agaagaggat cagtttgtct caaagaaaac cgcaacgaag      3720  
       gcaagattac ctctactgg taagataagt accacataca aaaagaaacc gatcgcaagc      3780  
 30     gcgtttatac ttccagaaga agacttggaa aacgacgtaa aagcggatcc aacaacaact      3840  
       gtaaacgcca aagtgggtgc agaaaatgat ggagattctt ccttattttt gcgaacgcct      3900  
 35     caaccttag atcctttgga tatggatgat gcttttgatg ataccaatat gggcagcaat      3960  
       agttcattta gcttgagcct tcctcgctt aatcaataa                              3999

40     <210> 13  
       <211> 602  
       <212> PRT  
       <213> Saccharomyces cerevisiae  
       <400> 13

45     Met Asp Glu Val Asp Asp Ile Leu Ile Asn Asn Gln Val Val Asp Asp  
       1                              5                              10                              15  
  
 50     Glu Glu Asp Asp Glu Glu Met Leu Ser Gly Leu Glu Asn Asp Ser Lys  
       20                              25                              30  
  
       Gln Asp Leu Glu Gly Asn Asp Asp Gly Gly Glu Asp Glu Glu Asp Asp  
       35                              40                              45  
  
 55     Asp Asp Asp Asp Glu Asp Asp Asp Asp Asp Glu Asp Glu Arg Glu Asp  
       50                              55                              60

ES 2 647 081 T3

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

ES 2 647 081 T3

Gln Thr Gly Asp Ile Val Asn Glu Phe Lys Lys Ser Arg Ser Glu Leu  
 340 345 350  
 5 Ser Ser Leu Glu Met Arg Pro Leu Tyr Ser Ser Val Asp Val Ser Gly  
 355 360 365  
 10 Asn Val Asn Ser Gly Lys Glu Asn Glu Asn Ala Asp Asp Asp Met Asp  
 370 375 380  
 Ser Leu Phe Gly Asp Glu Asp Glu Asp Glu Lys Gln Asp Ala Gly Asn  
 385 390 395 400  
 15 Glu Pro Val Glu Thr Gly Asp Gly Ser Asn Gly Glu Glu Asn Lys Glu  
 405 410 415  
 20 Gln Ile Ser Glu Glu Ser Leu Asn Ile Val Tyr Asp Glu Ser Val Phe  
 420 425 430  
 Met Thr Ser Gly Leu Asn Gly Ser Val His Ile Trp Asp Arg Arg Met  
 435 440 445  
 25 Thr Gln Ser Pro Ala Leu Ser Leu Glu Arg Gly Ala Gly Val Pro Pro  
 450 455 460  
 30 Trp Cys Leu Ser Ala Cys Trp Gly Val Asp Gly Asp His Val Tyr Ala  
 465 470 475 480  
 Gly Arg Arg Asn Ala Cys Val Glu Gln Phe Asp Leu Lys Met Pro Ser  
 485 490 495  
 35 Lys Pro Ile His Asn Leu Lys Leu Pro Ser Ile Ser Gly Pro Val Ser  
 500 505 510  
 40 Cys Val Lys Ala Met Pro Asn Asn Lys His Leu Leu Cys Ala Ser Arg  
 515 520 525  
 Asp Asn Ile Arg Leu Tyr Asn Val Glu Ile Ala Val Asp Ala Ser Asn  
 530 535 540  
 45 Ser Thr Thr Lys Ser Ser Lys Val Pro Phe Leu Ile Val Pro Gly His  
 545 550 555 560  
 50 His Gly Gly Ile Ile Ser Asn Leu Tyr Leu Asp Pro Thr Ser Arg Phe  
 565 570 575  
 Ile Ile Ser Thr Ser Gly Asn Arg Gly Trp Gln Gly Asn Ser Thr Asp  
 580 585 590  
 55 Thr Thr Leu Ile Tyr Asp Ile Asp Leu Glu  
 595 600



ES 2 647 081 T3

<210> 14  
 <211> 1809  
 <212> DNA  
 <213> *Saccharomyces cerevisiae*  
 <400> 14

5	atggacgagg ttgacgatat tctaattaac aaccaggtgg tggatgacga ggaggatgac	60
	gaagagatgc tgagtgggct ggaaaacgac tcaaagcagg acctcgaggg gaatgatgac	120
10	ggtggtgaag atgaagagga tgacgatgat gatgatgagg acgatgatga tgacgaggac	180
	gaacgagagg acgacgatga acaggaggac gacgatggtg aggacgacgc cgcaagaatg	240
15	gataagactg ctacaccgac gaatgagcac cagcatgatg agcaaaaggc tgctgctgct	300
	ggtgctggcg gtgcaggcga tagtggcgat gctgttacta agattggatc cgaggatgtg	360
	aaattgagcg atgttgatgg aggagtgggg tccaggggaag catcttcctc tacacacgaa	420
20	gcctctgcta atggagaggt ttatgagtac tataagcaca tgttgaatgc cgcacagatt	480
	gcggattcgt acaatatcta cccacggca gccatacca tccagacgca cgtcaatgcg	540
	ttggccgtgt ccaggggtct caagtacctg tttttggcg gtagcgatgg atacataagg	600
25	aagtacgact tgctgaacac gcttgagggg aaactttctc taactatcct gcagaagcat	660
	tcgttggctg agtctattca gaacgcgggt atcttgcatg cgtactggga aatgagatc	720
	ccgcagaaaa aatcagaaat gaaactctcc gctaataaga cagattacga gcccaaagtt	780
30	agccccgttc attccttggga agtccaaagc gaatgcctct ttatactgag cgggctacag	840
	aatggtggga ttaccatgca gggcgctcgc tacatggagg ggagcattgc gcactathtt	900
35	aagggcagga atggacatac ccaaactcgtt aacatactga gattaacgg tcaagaggac	960
	aggtttttga gtggttcctg ggataagcgt cttttggaat gggatttgca gacgggtgac	1020
	atagttaatg agtttaaaaa atcaaggtct gaattgtcat ctttggaat gcggccgctg	1080
40	tactcgtccg tggatgtgtc cggtaacgtc aacagtggta aagagaatga aatgcagat	1140
	gacgatatgg attctctgtt tggatgataa gacgaagacg aaaagcaaga tgctggcaac	1200
	gaaccgctcg agacggggga tggttctaata ggtgaagaga acaaagaaca gatatctgaa	1260
45	gaatctttga acatagtcta tgatgaatcc gtttttatga cctcaggggtt gaacgggtcc	1320
	gtgcatatht gggaccgacg catgacgcag tcgccagcat tgtctctgga gagaggtgca	1380
50	ggcgtcccac cgtggtgtht gtccgcatgt tgggggtgtag atggtgatca tgtgtatgca	1440
	gggagaagga atgcctgtgt ggagcagtht gacttgaaga tgccctcgaa acctatccat	1500
	aatttgaaac tgccttctat ttcagggcct gtctcttggt ttaaagccat gcctaataac	1560
55	aagcatttac tatgtgcatc gcgggataat atcagattgt acaacgttga aattgcagta	1620
	gatgcttcga attcgactac aaagagtht aaagtgccgt tcctcatcgt gccgggcat	1680
	cacggtggta ttatatcaaa cttatacctc gacccactt caagatttat aataagcaca	1740
60	agtggcaaca gaggctggca ggggaattct acggacacga cccttattta cgatatagac	1800
	ttagaatag	1809

ES 2 647 081 T3

<210> 15  
 <211> 633  
 <212> PRT  
 <213> Saccharomyces cerevisiae  
 <400> 15

5 Met Ser Ser Asn Asn Asn Thr Asn Thr Ala Pro Ala Asn Ala Asn Ser  
 1 5 10 15

10 Ser His His His His His His His His His His His His His Gly His  
 20 25 30

15 Gly Gly Ser Asn Ser Thr Leu Asn Asn Pro Lys Ser Ser Leu Ala Asp  
 35 40 45

20 Gly Ala His Ile Gly Asn Tyr Gln Ile Val Lys Thr Leu Gly Glu Gly  
 50 55 60

25 Ser Phe Gly Lys Val Lys Leu Ala Tyr His Thr Thr Thr Gly Gln Lys  
 65 70 75 80

30 Val Ala Leu Lys Ile Ile Asn Lys Lys Val Leu Ala Lys Ser Asp Met  
 85 90 95

35 Gln Gly Arg Ile Glu Arg Glu Ile Ser Tyr Leu Arg Leu Leu Arg His  
 100 105 110

40 Pro His Ile Ile Lys Leu Tyr Asp Val Ile Lys Ser Lys Asp Glu Ile  
 115 120 125

45 Ile Met Val Ile Glu Tyr Ala Gly Asn Glu Leu Phe Asp Tyr Ile Val  
 130 135 140

50 Gln Arg Asp Lys Met Ser Glu Gln Glu Ala Arg Arg Phe Phe Gln Gln  
 145 150 155 160

Ile Ile Ser Ala Val Glu Tyr Cys His Arg His Lys Ile Val His Arg  
 165 170 175

Asp Leu Lys Pro Glu Asn Leu Leu Leu Asp Glu His Leu Asn Val Lys  
 180 185 190

ES 2 647 081 T3

Ile Ala Asp Phe Gly Leu Ser Asn Ile Met Thr Asp Gly Asn Phe Leu  
195 200 205

5 Lys Thr Ser Cys Gly Ser Pro Asn Tyr Ala Ala Pro Glu Val Ile Ser  
210 215 220

Gly Lys Leu Tyr Ala Gly Pro Glu Val Asp Val Trp Ser Cys Gly Val  
225 230 235 240

10 Ile Leu Tyr Val Met Leu Cys Arg Arg Leu Pro Phe Asp Asp Glu Ser  
245 250 255

15 Ile Pro Val Leu Phe Lys Asn Ile Ser Asn Gly Val Tyr Thr Leu Pro  
260 265 270

Lys Phe Leu Ser Pro Gly Ala Ala Gly Leu Ile Lys Arg Met Leu Ile  
275 280 285

20 Val Asn Pro Leu Asn Arg Ile Ser Ile His Glu Ile Met Gln Asp Asp  
290 295 300

25 Trp Phe Lys Val Asp Leu Pro Glu Tyr Leu Leu Pro Pro Asp Leu Lys  
305 310 315 320

30 Pro His Pro Glu Glu Glu Asn Glu Asn Asn Asp Ser Lys Lys Asp Gly  
325 330 335

Ser Ser Pro Asp Asn Asp Glu Ile Asp Asp Asn Leu Val Asn Ile Leu  
340 345 350

35 Ser Ser Thr Met Gly Tyr Glu Lys Asp Glu Ile Tyr Glu Ser Leu Glu  
355 360 365

40 Ser Ser Glu Asp Thr Pro Ala Phe Asn Glu Ile Arg Asp Ala Tyr Met  
370 375 380

Leu Ile Lys Glu Asn Lys Ser Leu Ile Lys Asp Met Lys Ala Asn Lys  
385 390 395 400

45 Ser Val Ser Asp Glu Leu Asp Thr Phe Leu Ser Gln Ser Pro Pro Thr  
405 410 415

50 Phe Gln Gln Gln Ser Lys Ser His Gln Lys Ser Gln Val Asp His Glu  
420 425 430

Thr Ala Lys Gln His Ala Arg Arg Met Ala Ser Ala Ile Thr Gln Gln  
435 440 445

55 Arg Thr Tyr His Gln Ser Pro Phe Met Asp Gln Tyr Lys Glu Glu Asp  
450 455 460

60

ES 2 647 081 T3

Ser Thr Val Ser Ile Leu Pro Thr Ser Leu Pro Gln Ile His Arg Ala  
 465 470 475 480  
 5  
 Asn Met Leu Ala Gln Gly Ser Pro Ala Ala Ser Lys Ile Ser Pro Leu  
 485 490 495  
 10  
 Val Thr Lys Lys Ser Lys Thr Arg Trp His Phe Gly Ile Arg Ser Arg  
 500 505 510  
 15  
 Ser Tyr Pro Leu Asp Val Met Gly Glu Ile Tyr Ile Ala Leu Lys Asn  
 515 520 525  
 20  
 Leu Gly Ala Glu Trp Ala Lys Pro Ser Glu Glu Asp Leu Trp Thr Ile  
 530 535 540  
 25  
 Lys Leu Arg Trp Lys Tyr Asp Ile Gly Asn Lys Thr Asn Thr Asn Glu  
 545 550 555 560  
 30  
 Lys Ile Pro Asp Leu Met Lys Met Val Ile Gln Leu Phe Gln Ile Glu  
 565 570 575  
 35  
 Thr Asn Asn Tyr Leu Val Asp Phe Lys Phe Asp Gly Trp Glu Ser Ser  
 580 585 590  
 40  
 Tyr Gly Asp Asp Thr Thr Val Ser Asn Ile Ser Glu Asp Glu Met Ser  
 595 600 605  
 45  
 Thr Phe Ser Ala Tyr Pro Phe Leu His Leu Thr Thr Lys Leu Ile Met  
 610 615 620  
 50  
 Glu Leu Ala Val Asn Ser Gln Ser Asn  
 625 630  
 <210> 16  
 <211> 1902  
 <212> DNA  
 <213> Saccharomyces cerevisiae  
 <400> 16  
 atgagcagta acaacaacac aaacacagca cctgccaatg caaattctag ccaccaccac 60  
 caccatcacc accatcacca ccaccatcac ggtcatggcg gaagcaactc gacgctaaac 120  
 aatcccaagt cgtccttagc ggatggtgca catatcggga actaccaaact cgtcaaaacg 180  
 ctgggagagg ggtcctttgg taaagttaaa ttggcatatc ataccactac gggccaaaaa 240  
 gttgctctaa aatcattaa taagaaggtt ttggcaaaga gtgatatgca gggcagaatt 300  
 gaaagagaaa tatcttatct gagactctta agacaccccc acatcatcaa actgtatgat 360  
 60

ES 2 647 081 T3

gttatcaaat ccaaagatga aatcattatg gttatagagt acgccgggaa cgaattgttt 420  
 gactatattg ttcagagaga caaaatgagc gagcaagagg caagaagatt tttccagcag 480  
 5 atcatcagtg ccgtcgagta ctgccatagg cacaaaattg tccatagaga tctgaagcct 540  
 gaaaacttac tactagatga gcatctgaat gtaaagattg ccgattttgg tttgtcaaac 600  
 atcatgactg atggtaattt cttaaagact tcttgtgggt ctcccaatta tgcggtcct 660  
 10 gaagttatca gcggtaagct gtacgcaggc ccagaagtgg acgtgtgggc atgtgggggt 720  
 atcctttatg ttatgctttg tcgctgctca ccgtttgacg atgaaagcat cccagtgcct 780  
 ttcaagaata tcagcaacgg tgtttacacc ttgcctaaat ttttatctcc tggagctgct 840  
 15 gggctaata caagaatggt aatcgttaat ccattgaaca gaataagcat tcatgaaatt 900  
 atgcaagacg attggttcaa agttgacctg ccagaatata tacttccacc agatttgaaa 960  
 20 ccacaccag aagaagagaa tgaataaat gactcaaaaa aggatggcag cagcccagat 1020  
 aacgatgaaa ttgatgacaa ccttgtcaat attttatcat cgacctggg ttacgaaaaa 1080  
 gacgagattt atgagtcctt agaatcatca gaagacactc ctgcattcaa cgaaattagg 1140  
 25 gacgcgtaca tgttgattaa ggagaataaa tctttgatca aggatatgaa ggcaaacaaa 1200  
 agcgtcagtg atgaactgga tacctttctg tcccagtcac ctccaacttt tcaacaacaa 1260  
 agcaaatccc atcaaaagag tcaagtagat catgaaactg ccaagcaaca cgcaagaagg 1320  
 30 atggcaagtg ctatcactca acaaaggaca tatcaccaat cacccttcat ggatcagtat 1380  
 aaagaagaag actctacagt ttccatthtg cctacatctt tacctcagat ccacagagct 1440  
 35 aatatgtag cacaaggttc gccagctgcc tctaaaatat ctctcttctg aacgaaaaaa 1500  
 tctaaaacga gatggcattt tggatatacga tctcgctcat atccattaga cgttatgggt 1560  
 gaaatthata ttgccttgaa gaatttgggt gccgaatggg ccaagccatc tgaagaggat 1620  
 40 ttatggacta tcaaattaag gtggaatat gatattgaa acaagacaaa cactaatgaa 1680  
 aaaatacctg atttaataa aatgtaatt caattattc aaattgaaac caataattat 1740  
 ttggtggatt tcaaatttga cggctgggaa agtagttatg gagatgatac tactgtttct 1800  
 45 aatatttctg aagatgaaat gagtactttt tcagcctacc catttttaca ttaacaaca 1860  
 aaactaatta tgggaattagc cgtaaacagt caaagcaatt ga 1902  
  
 50 <210> 17  
 <211> 713  
 <212> PRT  
 <213> Saccharomyces cerevisiae  
 <400> 17  
 55 Met Ser Pro Ser Ala Val Gln Ser Ser Lys Leu Glu Glu Gln Ser Ser  
 1 5 10 15  
  
 Glu Ile Asp Lys Leu Lys Ala Lys Met Ser Gln Ser Ala Ala Thr Ala  
 60 20 25 30

ES 2 647 081 T3

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

ES 2 647 081 T3

Arg Asp Leu Asp Trp Ala Thr Glu Lys Lys Lys Tyr Lys Thr Tyr Tyr  
 290 295 300  
 5  
 Pro Cys Thr Pro Val Asp Ser Glu Asp Pro Leu Phe Leu Leu Tyr Thr  
 305 310 315 320  
 10  
 Ser Gly Ser Thr Gly Ala Pro Lys Gly Val Gln His Ser Thr Ala Gly  
 325 330 335  
 Tyr Leu Leu Gly Ala Leu Leu Thr Met Arg Tyr Thr Phe Asp Thr His  
 340 345 350  
 15  
 Gln Glu Asp Val Phe Phe Thr Ala Gly Asp Ile Gly Trp Ile Thr Gly  
 355 360 365  
 20  
 His Thr Tyr Val Val Tyr Gly Pro Leu Leu Tyr Gly Cys Ala Thr Leu  
 370 375 380  
 Val Phe Glu Gly Thr Pro Ala Tyr Pro Asn Tyr Ser Arg Tyr Trp Asp  
 385 390 395 400  
 25  
 Ile Ile Asp Glu His Lys Val Thr Gln Phe Tyr Val Ala Pro Thr Ala  
 405 410 415  
 30  
 Leu Arg Leu Leu Lys Arg Ala Gly Asp Ser Tyr Ile Glu Asn His Ser  
 420 425 430  
 35  
 Leu Lys Ser Leu Arg Cys Leu Gly Ser Val Gly Glu Pro Ile Ala Ala  
 435 440 445  
 40  
 Glu Val Trp Glu Trp Tyr Ser Glu Lys Ile Gly Lys Asn Glu Ile Pro  
 450 455 460  
 45  
 Ile Val Asp Thr Tyr Trp Gln Thr Glu Ser Gly Ser His Leu Val Thr  
 465 470 475 480  
 50  
 Pro Leu Ala Gly Gly Val Thr Pro Met Lys Pro Gly Ser Ala Ser Phe  
 485 490 495  
 Pro Phe Phe Gly Ile Asp Ala Val Val Leu Asp Pro Asn Thr Gly Glu  
 500 505 510  
 55  
 Glu Leu Asn Thr Ser His Ala Glu Gly Val Leu Ala Val Lys Ala Ala  
 515 520 525  
 Trp Pro Ser Phe Ala Arg Thr Ile Trp Lys Asn His Asp Arg Tyr Leu  
 530 535 540

ES 2 647 081 T3

Asp Thr Tyr Leu Asn Pro Tyr Pro Gly Tyr Tyr Phe Thr Gly Asp Gly  
 545 550 555 560  
 5 Ala Ala Lys Asp Lys Asp Gly Tyr Ile Trp Ile Leu Gly Arg Val Asp  
 565 570 575  
 10 Asp Val Val Asn Val Ser Gly His Arg Leu Ser Thr Ala Glu Ile Glu  
 580 585 590  
 15 Ala Ala Ile Ile Glu Asp Pro Ile Val Ala Glu Cys Ala Val Val Gly  
 595 600 605  
 20 Phe Asn Asp Asp Leu Thr Gly Gln Ala Val Ala Ala Phe Val Val Leu  
 610 615 620  
 25 Lys Asn Lys Ser Ser Trp Ser Thr Ala Thr Asp Asp Glu Leu Gln Asp  
 625 630 635 640  
 30 Ile Lys Lys His Leu Val Phe Thr Val Arg Lys Asp Ile Gly Pro Phe  
 645 650 655  
 35 Ala Ala Pro Lys Leu Ile Ile Leu Val Asp Asp Leu Pro Lys Thr Arg  
 660 665 670  
 40 Ser Gly Lys Ile Met Arg Arg Ile Leu Arg Lys Ile Leu Ala Gly Glu  
 675 680 685  
 45 Ser Asp Gln Leu Gly Asp Val Ser Thr Leu Ser Asn Pro Gly Ile Val  
 690 695 700  
 50 Arg His Leu Ile Asp Ser Val Lys Leu  
 705 710  
 <210> 18  
 <211> 2142  
 <212> DNA  
 <213> Saccharomyces cerevisiae  
 45 <400> 18  
 atgtcgcct ctgccgtaca atcatcaaaa ctagaagaac agtcaagtga aattgacaag 60  
 ttgaaagcaa aaatgtccca gtctgccgcc actgvcgagc agaagaagga acatgagtat 120  
 50 gaacatttga cttcgggtcaa gatcgtgccca caacggccca tctcagatag actgcagccc 180  
 gcaattgcta cccactattc tccacacttg gacgggttgc aggactatca gcgcttgcac 240  
 aaggagtcta ttgaagacct tgctaagttc ttcggttcta aagctaccca atttttaaac 300  
 55 tgggtctaagc cattcgataa ggtgttcac ccagacccta aaacgggcag gccctcctc 360  
 cagaacaatg catgggtcct caacggccaa ttaaaccgct gttacaactg tgttgacaga 420  
 60



ES 2 647 081 T3

	catgccttga agactcctaa caagaaagcc attatthttcg aaggtgacga gcctggccaa	480
	ggctattcca ttacctaaa ggaactactt gaagaagttt gtcaagtggc acaagtgctg	540
5	acttactcta tgggcgttcg caagggcgat actgttgccg tgtacatgcc tatggtccca	600
	gaagcaatca taacctgtt ggccatttcc cgtatcggtg ccattcactc cgtagtcttt	660
10	gccgggtttt cttccaactc cttgagagat cgtatcaacg atggggactc taaagttgtc	720
	atcactacag atgaatccaa cagaggtggt aaagtcattg agactaaaag aattggtgat	780
	gacgcgctaa gagagacccc aggcgtgaga cacgtcttgg tttatagaaa gaccaacaat	840
15	ccatctgttg ctttccatgc ccccagagat ttggattggg caacagaaaa gaagaaatac	900
	aagacctact atccatgcac acccgttgat tctgaggatc cattattctt gttgtatacg	960
	tctggttcta ctggtgcccc caaggggtgt caacattcta ccgcaggtta cttgctggga	1020
20	gctttgttga ccatgcgcta cacttttgac actcaccaag aagacgtttt cttcacagct	1080
	ggagacattg gctggattac aggccacact tatgtggttt atggtccctt actatatggt	1140
	tgtgccactt tggcttttga agggactcct gcgtacccaa attactcccg ttattgggat	1200
25	attattgatg aacacaaagt cacccaattt tatgttgccg caactgcttt gcgtttgttg	1260
	aaaagagctg gtgattccta catcgaaaat cattccttaa aatctttgcg ttgcttgggt	1320
30	tcggtcggtg agccaattgc tgctgaagtt tgggagtggt actctgaaaa aataggtaaa	1380
	aatgaaatcc ccattgtaga cacctactgg caaacagaat ctggttcgca tctggtcacc	1440
	ccgctggctg gtgggtttac accaatgaaa ccgggttctg cctcattccc cttcttcggt	1500
35	attgatgcag ttgttcttga ccctaact ggtgaagaac ttaacaccag ccaocgagag	1560
	ggtgtccttg ccgtcaaagc tgcatggcca tcatttgcaa gaactatttg gaaaaatcat	1620
	gataggtatc tagacactta tttgaaccct taccctggct actatttcac tggatggtg	1680
40	gctgcaaagg ataaggatgg ttatatctgg attttgggtc gtgtagacga tgtggtgaac	1740
	gtctctggtc accgtctgtc taccgctgaa attgaggtcg ctattatcga agatccaatt	1800
	gtggccgagt gtgctgttgt cggattcaac gatgacttga ctggtcaagc agttgctgca	1860
45	tttgtggtgt tgaaaaacaa atctagttgg tccaccgcaa cagatgatga attacaagat	1920
	atcaagaagc atttggtctt tactgtttaga aaagacatcg ggccatttgc cgcacaaaa	1980
50	ttgatcattt tagtggatga cttgcccaag acaagatccg gcaaaattat gagacgtatt	2040
	ttaagaaaaa tcctagcagg agaaagtgac caactaggcg acgtttctac attgtcaaac	2100
	cctggcattg ttagacatct aattgattcg gtcaagttgt aa	2142
55		

ES 2 647 081 T3

<210> 19  
 <211> 1119  
 <212> PRT  
 <213> Saccharomyces cerevisiae  
 <400> 19

5 Met Thr Glu Arg Ile Pro Ile Lys Asn Tyr Gln Arg Thr Asn Ala Lys  
 1 5 10 15

10 Ala Leu Leu Lys Leu Thr Glu Lys Leu Phe Asn Lys Asn Phe Phe Asp  
 20 25 30

15 Leu Tyr Leu Thr Ser Gln Gln Leu Val Val Leu Glu Tyr Leu Leu Ser  
 35 40 45

Ile Ser Ser Glu Glu Asp Lys Leu Lys Ala Trp Asp Tyr Phe Leu Lys  
 50 55 60

20 Gly Asn Ile Ala Leu Asn Val Glu Lys Ser Phe Pro Leu Thr Gln Glu  
 65 70 75 80

25 Glu Glu His His Gly Ala Val Ser Pro Ala Val Asp Thr Arg Ser Asp  
 85 90 95

30 Asp Val Ser Ser Gln Thr Ile Lys Asp Asn Asn Asn Thr Asn Thr Asn  
 100 105 110

Thr Ser Ile Ser Asn Glu Asn His Val Glu Asn Glu Ile Glu Asp Lys  
 115 120 125

35 Gly Asp Asn Ala Ile Ala Asn Glu Asp Asn Phe Val Asn Asn Asp Glu  
 130 135 140

40 Ser Asp Asn Val Glu Glu Asp Leu Phe Lys Leu Asp Leu Glu Asp Leu  
 145 150 155 160

Lys Gln Gln Ile Ser Gly Thr Arg Phe Ile Gly Asn Leu Ser Leu Lys  
 165 170 175

45 Ile Arg Tyr Val Leu Trp Gln Cys Ala Ile Asp Tyr Ile Tyr Cys Asp  
 180 185 190

50 Arg Asn Glu Phe Gly Asp Glu Asn Asp Thr Glu Tyr Thr Leu Leu Asp  
 195 200 205

55 Val Glu Glu Lys Glu Glu Glu Glu Ile Gly Lys Asn Glu Lys Pro Gln  
 210 215 220

Asn Lys Glu Gly Ile Ser Lys Phe Ala Glu Asp Glu Asp Tyr Asp Asp  
 225 230 235 240

60 Glu Asp Glu Asn Tyr Asp Glu Asp Ser Thr Asp Val Lys Asn Val Asp  
 245 250 255

ES 2 647 081 T3

Asp Pro Pro Lys Asn Leu Asp Ser Ile Ser Ser Ser Asn Ile Glu Ile  
 260 265 270  
 5 Asp Asp Glu Arg Arg Leu Val Leu Asn Ile Ser Ile Ser Lys Glu Thr  
 275 280 285  
 10 Leu Ser Lys Leu Lys Thr Asn Asn Val Glu Glu Ile Met Gly Asn Trp  
 290 295 300  
 15 Asp Lys Ile Tyr His Ser Phe Glu Tyr Asp Lys Glu Thr Met Ile Lys  
 305 310 315 320  
 20 Arg Leu Lys Leu Glu Glu Ser Asp Lys Met Ile Glu Lys Gly Lys Lys  
 325 330 335  
 25 Lys Arg Ser Arg Ser Asp Leu Glu Ala Ala Thr Asp Glu Gln Asp Arg  
 340 345 350  
 30 Glu Asn Thr Asn Asp Glu Pro Asp Thr Asn Gln Lys Leu Pro Thr Pro  
 355 360 365  
 35 Glu Gly Ser Thr Phe Ser Asp Thr Gly Asn Lys Arg Pro Lys Gln Ser  
 370 375 380  
 40 Asn Leu Asp Leu Thr Val Asn Leu Gly Ile Glu Asn Leu Ser Leu Lys  
 385 390 395 400  
 45 His Leu Leu Ser Ser Ile Gln Gln Lys Lys Ser Gln Leu Gly Ile Ser  
 405 410 415  
 50 Asp Tyr Glu Leu Lys His Leu Ile Met Asp Val Arg Lys Asn Arg Ser  
 420 425 430  
 55 Lys Trp Thr Ser Asp Glu Arg Ile Gly Gln Glu Glu Leu Tyr Glu Ala  
 435 440 445  
 60 Cys Glu Lys Val Val Leu Glu Leu Arg Asn Tyr Thr Glu His Ser Thr  
 450 455 460  
 65 Pro Phe Leu Asn Lys Val Ser Lys Arg Glu Ala Pro Asn Tyr His Gln  
 465 470 475 480  
 70 Ile Ile Lys Lys Ser Met Asp Leu Asn Thr Val Leu Lys Lys Leu Lys  
 485 490 495  
 75 Ser Phe Gln Tyr Asp Ser Lys Gln Glu Phe Val Asp Asp Ile Met Leu  
 500 505 510  
 80 Ile Trp Lys Asn Cys Leu Thr Tyr Asn Ser Asp Pro Ser His Phe Leu  
 515 520 525  
 85

ES 2 647 081 T3

5 Arg Gly His Ala Ile Ala Met Gln Lys Lys Ser Leu Gln Leu Ile Arg  
 530 535 540  
 Met Ile Pro Asn Ile Thr Ile Arg Asn Arg Ala Asp Leu Glu Lys Glu  
 545 550 555 560  
 10 Ile Glu Asp Met Glu Lys Asp Lys Asp Tyr Glu Leu Asp Glu Glu Glu  
 565 570 575  
 Glu Val Ala Gly Ser Gly Arg Lys Gly Leu Asn Met Gly Ala His Met  
 580 585 590  
 15 Leu Ala Lys Glu Asn Gly Lys Val Ser Glu Lys Asp Ser Ser Lys Thr  
 595 600 605  
 20 Val Lys Asp Glu Ala Pro Thr Asn Asp Asp Lys Leu Thr Ser Val Ile  
 610 615 620  
 Pro Glu Gly Glu Lys Glu Lys Asp Lys Thr Ala Ser Ser Thr Val Thr  
 625 630 635 640  
 25 Val His Glu Asn Val Asn Lys Asn Glu Ile Lys Glu Asn Gly Lys Asn  
 645 650 655  
 30 Glu Glu Gln Asp Met Val Glu Glu Ser Ser Lys Thr Glu Asp Ser Ser  
 660 665 670  
 Lys Asp Ala Asp Ala Ala Lys Lys Asp Thr Glu Asp Gly Leu Gln Asp  
 675 680 685  
 35 Lys Thr Ala Glu Asn Lys Glu Ala Gly Glu Asn Asn Glu Glu Glu Glu  
 690 695 700  
 40 Asp Asp Asp Asp Glu Asp Glu Asp Glu Asp Met Val Asp Ser Gln Ser  
 705 710 715 720  
 Tyr Leu Leu Glu Lys Asp Asp Asp Arg Asp Asp Leu Glu Ile Ser Val  
 725 730 735  
 45 Trp Lys Thr Val Thr Ala Lys Val Arg Ala Glu Ile Cys Leu Lys Arg  
 740 745 750  
 50 Thr Glu Tyr Phe Lys Asn Gly Lys Leu Asn Ser Asp Ser Glu Ala Phe  
 755 760 765  
 55 Leu Lys Asn Pro Gln Arg Met Lys Arg Phe Asp Gln Leu Phe Leu Glu  
 770 775 780  
 60

ES 2 647 081 T3

Tyr Lys Glu Gln Lys Ala Leu Glu Ser Tyr Arg Gln Lys Ile Glu Gln  
 785 790 795 800

5 Asn Ser Ile Met Lys Asn Gly Phe Gly Thr Val Leu Lys Gln Glu Asp  
 805 810 815

10 Asp Asp Gln Leu Gln Phe His Asn Asp His Ser Leu Asn Gly Asn Glu  
 820 825 830

15 Ala Phe Glu Lys Gln Pro Asn Asp Ile Glu Leu Asp Asp Thr Arg Phe  
 835 840 845

20 Gly Val Asn Thr Lys Thr Leu Asp Lys Met Glu Asp Ala Ser Val Asp  
 850 855 860 865 870 875 880

25 Arg Met Leu Gln Asn Gly Ile Asn Lys Gln Ser Arg Phe Leu Ala Asn  
 885 890 895

30 Lys Asp Leu Gly Leu Thr Pro Lys Met Asn Gln Asn Ile Thr Leu Ile  
 900 905 910

35 Gln Gln Ile Arg His Ile Cys His Lys Ile Ser Leu Ile Arg Met Leu  
 915 920 925

40 Gln Ser Pro Leu Ser Ala Gln Asn Ser Arg Ser Asn Pro Asn Ala Phe  
 930 935 940

45 Leu Asn Asn His Ile Tyr Asn Tyr Thr Ile Ile Asp Asp Ser Leu Asp  
 945 950 955 960

50 Ile Asp Pro Val Ser Gln Leu Pro Thr His Asp Tyr Lys Asn Asn Arg  
 965 970 975

55 Glu Leu Ile Trp Lys Phe Met His Lys Asn Ile Ser Lys Val Ala Met  
 980 985 990

Ala Asn Gly Phe Glu Thr Ala His Pro Ser Ala Ile Asn Met Leu Thr  
 995 1000 1005

60 Glu Ile Ala Gly Asp Tyr Leu Ser Asn Leu Ile Lys Thr Leu Lys  
 1010 1015 1020

65 Leu His His Glu Thr Asn Ser Leu Asn Arg Gly Thr Asn Val Glu  
 1025 1030 1035

ES 2 647 081 T3

	Met	Leu	Gln	Thr	Thr	Leu	Leu	Glu	Asn	Gly	Ile	Asn	Arg	Pro	Asp	
	1040						1045					1050				
5	Asp	Leu	Phe	Ser	Tyr	Val	Glu	Ser	Glu	Phe	Gly	Lys	Lys	Thr	Lys	
	1055						1060					1065				
10	Lys	Leu	Gln	Asp	Ile	Lys	Gln	Lys	Leu	Glu	Ser	Phe	Leu	Arg	Ala	
	1070						1075					1080				
15	Leu	Leu	Arg	Pro	Thr	Leu	Gln	Glu	Leu	Ser	Glu	Arg	Asn	Phe	Glu	
	1085						1090					1095				
20	Asp	Glu	Ser	Gln	Ser	Phe	Phe	Thr	Gly	Asp	Phe	Ala	Ser	Glu	Leu	
	1100						1105					1110				
25	Thr	Gly	Glu	Asp	Phe	Phe										
	1115															
	<210>	20														
	<211>	3357														
	<212>	DNA														
	<213>	Saccharomyces cerevisiae														
	<400>	20														
		atgactgaaa	gaataccaat	aaagaattat	caaagaacaa	atgccaaagc	tttacttaaa									60
30		ttgactgaaa	aactttttaa	caagaacttt	tttgatctct	atttaacctc	tcagcaattg									120
		gtcgttcttg	aatacctgct	gtcgtattca	agtgaagaag	acaaactgaa	agcatgggac									180
35		tatttcttaa	agggaaacat	agcattaaat	gtcgaaaaat	catttccatt	aaccaagaa									240
		gaagaacatc	acggagcggg	ctctcctgcc	gttgacacac	gatcagatga	tgtatcatca									300
		caaacaatta	aggacaataa	caataactaat	accaacacca	gtatcagcaa	tgaaaatcat									360
40		gttgaaaatg	aaattgaaga	taaaggcgat	aacgcaatag	caaatgaaga	taattttgtg									420
		aataatgacg	aaagtataaa	tgttgaagaa	gacttattca	aattagatct	agaggacttg									480
		aagcagcaaa	taagcggaac	aaggtttatt	ggaaacttat	ccttgaaaat	cagatacgtc									540
45		ttgtggcagt	gcgccataga	ttatatatac	tgtgatcgta	atgagtttgg	tgatgaaaat									600
		gatacagaat	acaccctatt	agatgttgaa	gagaaggagg	aagaggaaat	tggtaaaaat									660
		gagaagccac	aaaacaaaga	aggtatttcg	aagttcgccg	aggatgaaga	ttacgacgat									720
50		gaagacgaga	actatgatga	agacagtaca	gacgtaaaaa	atgtcgatga	tcctccaaaa									780
		aatctcgatt	ctatttcctc	ttctaataatc	gaaattgacg	atgaacgacg	cttgggtgcta									840
55		aatatctcaa	tatcaaaaaga	aacctgttca	aagttaaaaa	caaataatgt	agaagaaatt									900
		atgggaaatt	ggaacaaaat	ttaccacagt	tttgaatcag	ataaagaaac	tatgataaag									960
		cgattaaaac	ttgaagaaag	cgataaaatg	atagagaaag	gaaagaagaa	acgaagtcga									1020

ES 2 647 081 T3

	agtgatttag aagcagctac cgatgaacaa gatcgcgaaa atacaaatga tgagccagat	1080
	actaatcaaa aattgccac tcctgaaggt tcaacattca gcgatactgg gaacaagcgc	1140
5	cccaaacaaa gtaatttaga tttaacagtc aatctaggca tcgaaaatth atcattaag	1200
	cacctctcat catctatcca gcaaaaaaaaa tccaattag gaatatcaga ttacgaatta	1260
	aaacatctga ttatggatgt cagaaaaaat cggcctcaaat ggacatcggg tgaaagaatt	1320
10	gggcaagagg aattatacga agcctgtgaa aaggttgtht tggaacttag aaactacact	1380
	gagcattcta caccatttct gaataaagt agcaaaagag aagccccca ttatcatcaa	1440
	atcatcaaaa agtccatgga cctgaatact gthttaaaa aactgaaaag cthtcaatat	1500
15	gactccaaac aagaattht agacgatatt atgctaatat ggaaaaatg thtgacctat	1560
	aattcagatc cttcacatth thtgagagg catgctattg ctatgcagaa gaaatctctt	1620
	cagthgattc gcatgattcc aatatcaca atccgaaaca gggctgatt agaaaaggaa	1680
20	attgaagata tggaaaaaga caaagactac gaattagatg aggaagagga agthgctggt	1740
	tctggaagaa aaggattgaa tatgggagct catatgthg ccaaagagaa tggcaaggth	1800
	tcagaaaaag atagctctaa aaccgtcaag gatgaagcac caaccaatga tgacaaacta	1860
25	actthctgca tccctgaggg ggaaaaagag aaagataaaa ctgcttcatc tactgtaacg	1920
	gtacacgaaa atgtaataa gaacgaaata aaagaaatg ggaaaaatga agagcaagat	1980
	atgthtgagg aaagtagtaa gactgaggat tcatcaaaag atgctgatgc tgccaaaaag	2040
30	gatacggag acggactaca agataaaact gcagaaaata aggaggctgg ggaaaataat	2100
	gaagaggaag aggatgatga tgacgaagat gaagacgaa acatggtcga ctccaatct	2160
	tatttactth aaaaggatga cgatagagac gatttgaaa tatccgtgth gaaaactgta	2220
35	actgccaaag thctgthgga aattgctta aaaagaactg aataththaa aatgaaaa	2280
	thaaatagth attcagaggc gththtgaaa aaccacaaa gaatgaaaag gthctgaccag	2340
	ctththctth aatataaaga gcagaaagct thagaatcat atcgtcaaaa aatagagcaa	2400
40	aattccatta tgaaaaatgg cththggaaca gtactaaaac aggaagacga tgaccaatth	2460
	cagthtcata atgatcactc ththaaatgga aatgaagctt thgaaaagca acccaatgat	2520
	atthgthtag atgataccag atthctacag gaatatgata thagthaacgc cattctgac	2580
45	atagtatacg agggagthaa tactaaaaca thagacaaga tggagacgc thctgthgac	2640
	cgcatgcttc aaaatgtht caacaacaa agcagatthc tggthaacaa ggatthtagga	2700
	ctaacaccta aatgaacca aatatcaca ctgattcagc aaatthgca catatgcat	2760
50	aaaatatccc tgatcagaat gthacagagc cththctcg thcaaaactc cagaagcaat	2820
	cccaacgctt thcttaacaa ccacattht aattacacta thattgatga thcactcgat	2880
	atthgatccg thctcacagct thcaacgcat gattacaaa acaacagga gctgatthg	2940
55	aaatthcatg ataagaacat atthaagtht gctatggcca atgthththg aactgcat	3000
60		

ES 2 647 081 T3

ccatcagcaa taaacatgct tactgaaatc gccggggatt acctatctaa tctgataaag 3060  
 actttgaagc ttcatcatga aactaactcc ttaaataagag gaacaaatgt ggaaatgctg 3120  
 5 caaacaacac tgttggaaaa cggtatcaac aggccagacg atctattttc ctatggtgaa 3180  
 tctgaatttg gtaaaaaaac taagaaactt caggacatca aacagaaact agaaagcttt 3240  
 ttgagagcct tattaaggcc aactttgcag gagttgtccg agagaaactt tgaagacgag 3300  
 10 agccaaagct tttttacagg tgactttgcc agcgaattga ctggtgaaga cttcttt 3357

<210> 21  
 <211> 337  
 <212> PRT  
 <213> *Saccharomyces cerevisiae*  
 <400> 21

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



ES 2 647 081 T3

Arg Leu Lys Met Ala Asp Asp Arg Thr Arg Asn Met Thr Lys Glu Glu  
 180 185 190

5 Tyr Val His Trp Ser Asp Cys Arg Gln Ala Ser Phe Thr Phe Arg Lys  
 195 200 205

10 Asn Lys Arg Phe Lys Asp Trp Ser Gly Ile Ser Gln Leu Thr Glu Gly  
 210 215 220

15 Lys Pro His Asp Asp Val Ile Asp Ile Leu Gly Phe Leu Thr Phe Glu  
 225 230 235 240

Ile Val Cys Ser Leu Thr Glu Thr Ala Leu Lys Ile Lys Gln Arg Glu  
 245 250 255

20 Gln Val Leu Gln Thr Gln Lys Asp Lys Ser Gln Gln Ser Ser Gln Asp  
 260 265 270

25 Asn Thr Asn Phe Glu Phe Ala Ser Ser Thr Leu His Arg Lys Lys Arg  
 275 280 285

Leu Phe Asp Gly Pro Glu Asn Val Ile Asn Pro Leu Lys Pro Arg His  
 290 295 300

30 Ile Glu Glu Ala Trp Arg Val Leu Gln Thr Ile Asp Met Arg His Arg  
 305 310 315 320

35 Ala Leu Thr Asn Phe Lys Gly Gly Arg Leu Ser Ser Lys Pro Ile Ile  
 325 330 335

Met

40 <210> 22  
 <211> 1014  
 <212> DNA  
 <213> Saccharomyces cerevisiae  
 45 <400> 22

atgatggaca agcataagta tcgtgtggag attcaacaga tgatgtttgt ctctggtgaa 60

attaacgacc caccogtaga aaccacatca ctgatagaag atatagttag gggtaagtg 120

50 atagaaattc ttttacagtc aaacaaaacg gcgcatctta ggggaagtag gagcattctc 180

cctgaagacg tcattttctt gatcagacac gacaaggcca aagtcaatcg tttgagaaca 240

55 tatctgtcat ggaaggattt gcgtaaaaac gccaaaggacc aagatgctag tgccggtgta 300

gcgagtggca ctggaaatcc tggggcaggt ggtgaagatg atttgaaaaa agcaggtggt 360

ggcgagaaag acgaaaaaga tgggtgaaac atgatgaagg tcaagaaatc ccaaattaag 420

60 ctgccatggg aattgcagtt tatgttcaat gaacatcctt tagaaaataa tgacgacaat 480

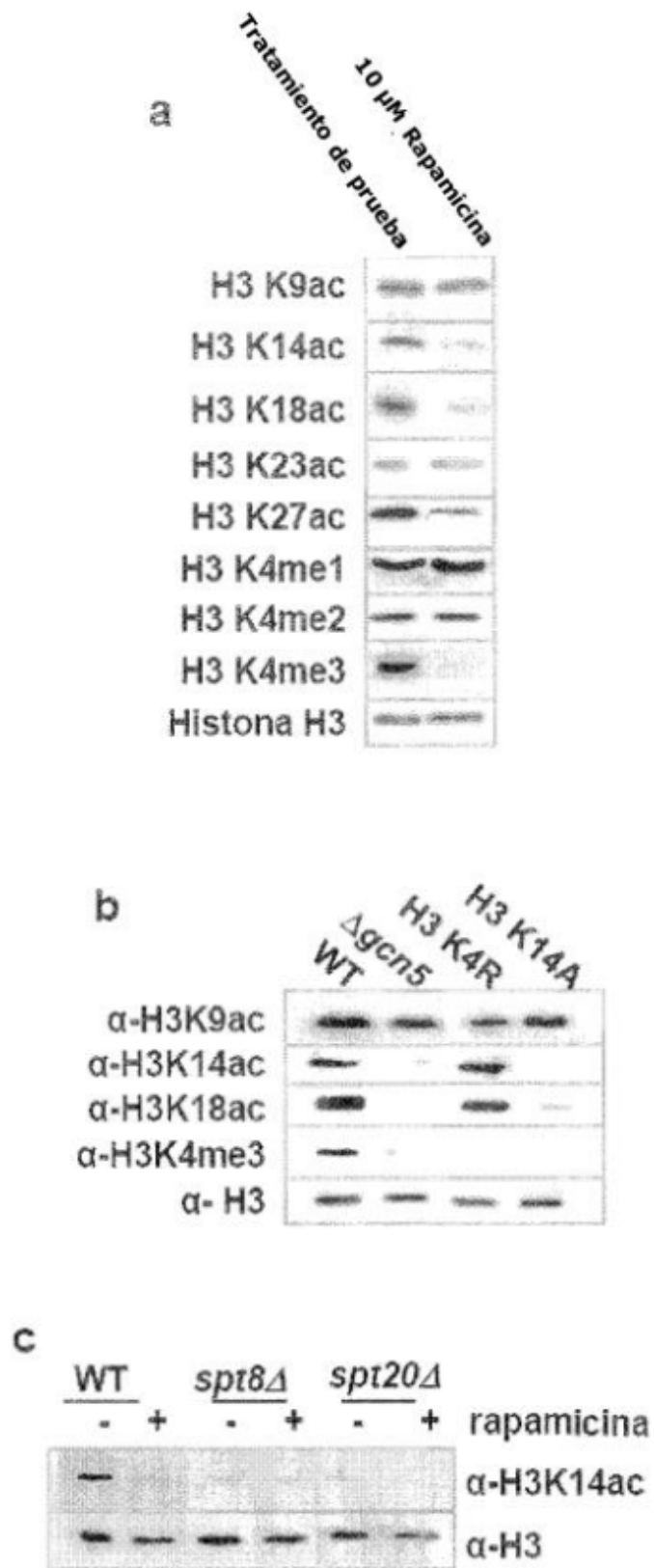
ES 2 647 081 T3

gatgatatgg atgaggatga acgagaagct aatatagtca ctttgaaaag gctgaaaatg 540  
gctgacgata gaacacgaaa catgactaaa gaggagtacg tgcattggtc cgattgtcga 600  
5 caggcaagtt ttacatttag gaagaataaa aggttcaagg actggtctgg aatttcgcaa 660  
ttaactgagg ggaaacccca tgatgatgtg attgatatac tggggtttct aacttttgag 720  
attgtctggt ctttgacgga aacagctctg aaaatcaaac aaagagaaca ggtattacag 780  
10 actcaaaagg acaaatccca gcaatctagc caagataata ctaactttga atttgcacat 840  
tccacattac atagaaagaa aagattatct gatggacctg aaaatggtat aaaccgctc 900  
15 aaaccaaggc atatagagga agcctggaga gtactacaaa caattgacat gaggcatagg 960  
gctttgacca actttaaggg tggtagactc agttctaac caattatcat gtaa 1014  
20

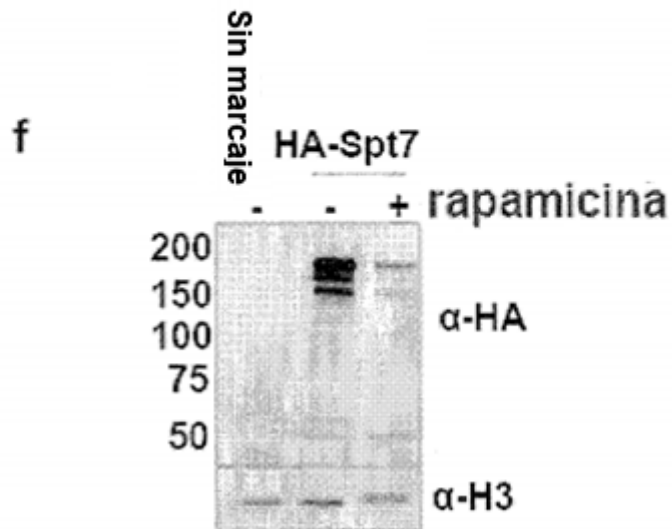
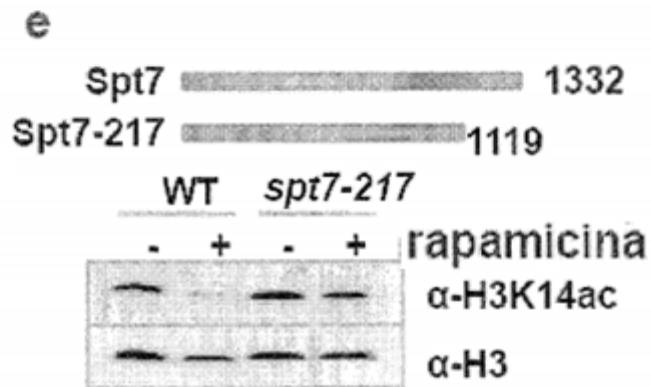
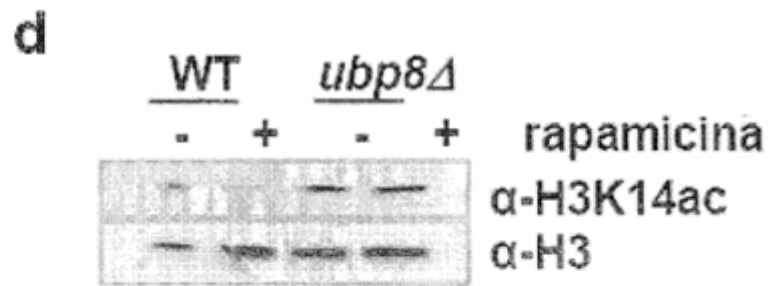
Reivindicaciones

- 5 1. Un método in vitro para aumentar la vida útil cronológica de una célula que comprende interrumpir la función del complejo Spt-Ada-Gcn5-Acetiltransferasa (SAGA) en dicha célula, en donde la interrupción se efectúa a través de la interrupción de al menos un gen seleccionado del grupo que consiste en Spt7 (sec. con núm. de ident.: 12), Spt8 (sec. con núm. de ident.: 14), y sus homólogos, o a través de la interrupción de un producto de al menos un gen; en donde "homólogo" significa un gen análogo de un organismo diferente que realiza la misma función;
- 10 2. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el complejo SAGA se interrumpe directa o indirectamente.
- 15 3. El método de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en donde la interrupción se efectúa a través de la interrupción del gen Spt7 o un homólogo de este, o a través de la interrupción de un producto del gen Spt7 o el homólogo de este.
- 20 4. El método de acuerdo con la reivindicación 1, 2 o 3, en donde "homólogo" significa un gen análogo de un organismo diferente que realiza la misma función, en donde el organismo diferente es un mamífero.
- 25 5. El método de acuerdo con la reivindicación 3 o 4, en donde la interrupción se efectúa a través de la interrupción del gen Spt7 o su homólogo humano SUPT7H, o a través de la interrupción de un producto del gen Spt7 o su homólogo humano SUPT7H.
6. El método de acuerdo con la reivindicación 3, en donde la interrupción se efectúa a través de la interrupción de SPT7 (sec. con núm. de ident.: 11) o SPT7-217 (sec. con núm. de ident.: 19).
7. El método de acuerdo con la reivindicación 1, 2, 3, 4, 5 o 6, en donde la expresión del gen o el homólogo se interrumpe por el iRNA.
- 30 8. El método de acuerdo con la reivindicación 1, 2, 3, 4, 5 o 6, en donde la expresión del gen se interrumpe a nivel transcripcional / DNA.
- 35 9. El método de acuerdo con la reivindicación 4 o 5, en donde la célula es una célula de mamífero, preferentemente una célula humana.
10. El método de acuerdo con la reivindicación 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 o 9, en donde el método se usa en un método de selección para identificar un compuesto que tiene un efecto sobre el envejecimiento cronológico de la célula.
- 40 11. El método de acuerdo con la reivindicación 10, en donde el compuesto es una molécula pequeña o una molécula biológica tal como un péptido o ácido nucleico.

Figura 1



**Figura 1** (continuación)



**Figura 1** (continuación)

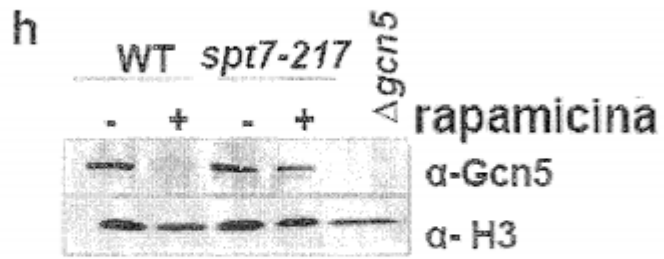
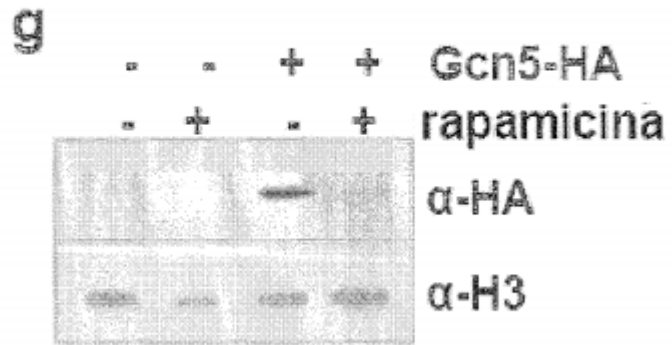
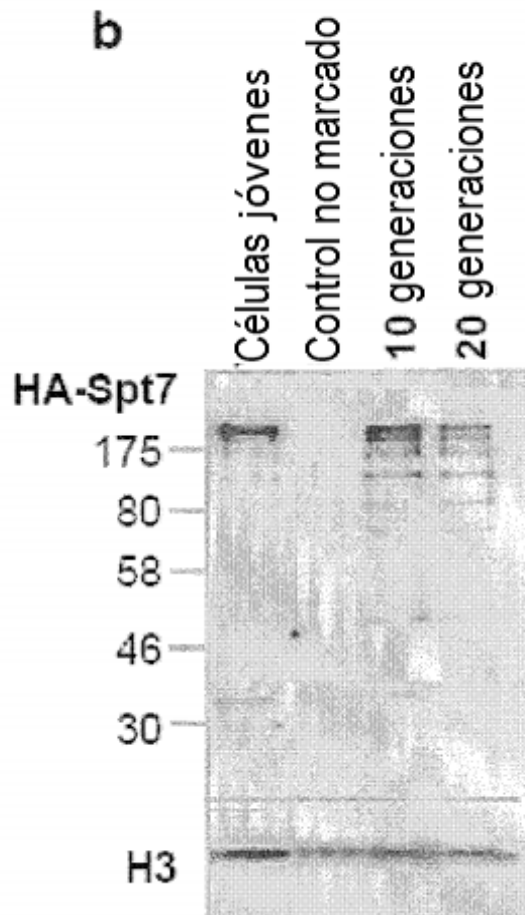
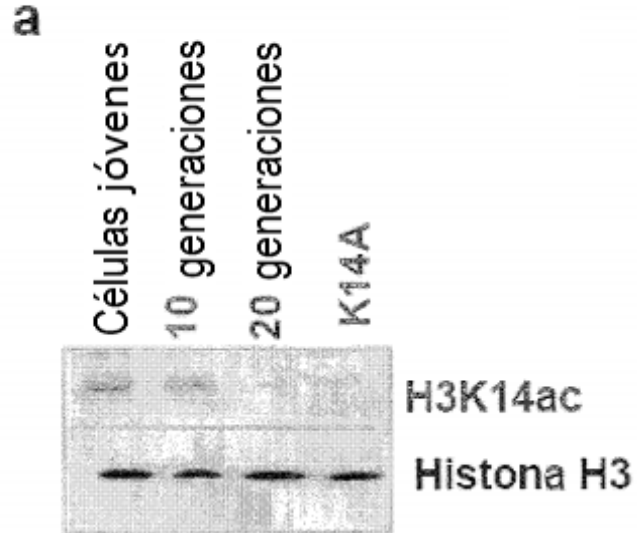


Figura 2



**Figura 2** (continuación)

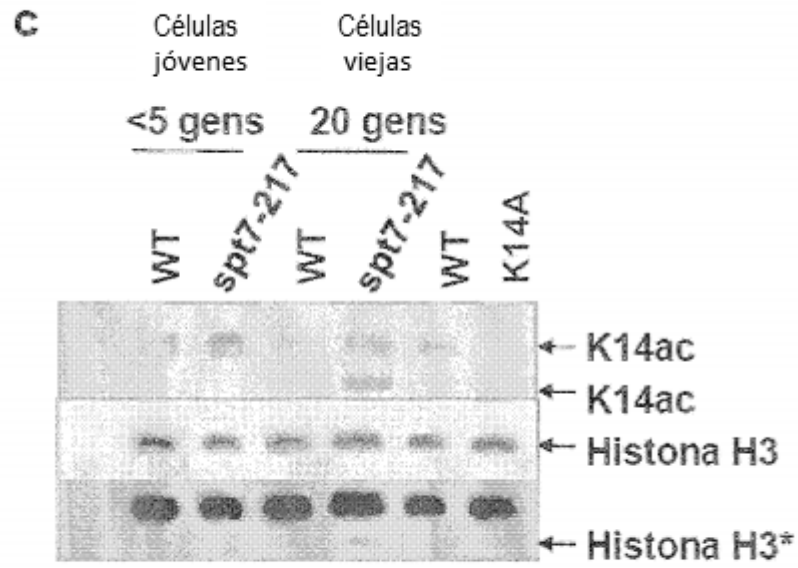
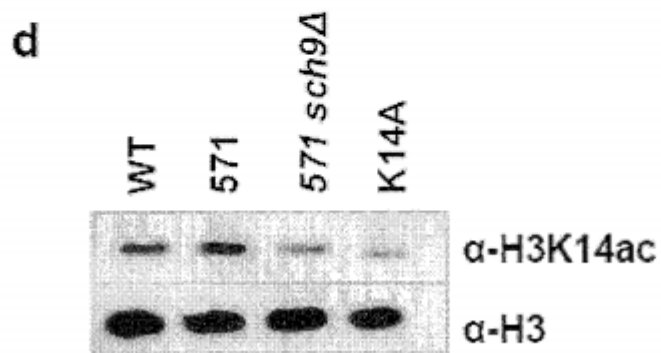
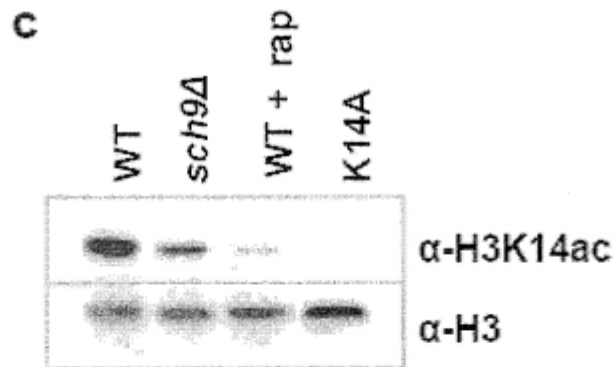
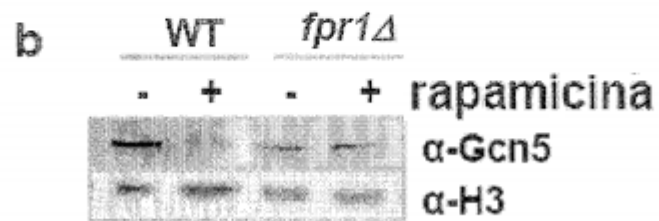
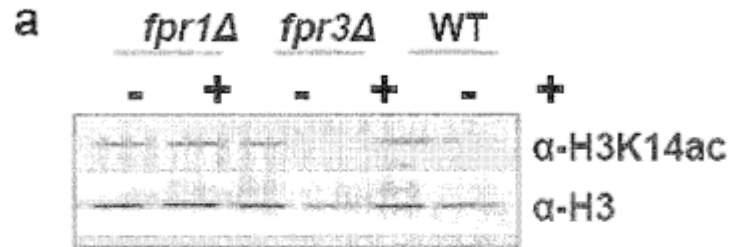




Figura 3



**Figura 3** (continuación)

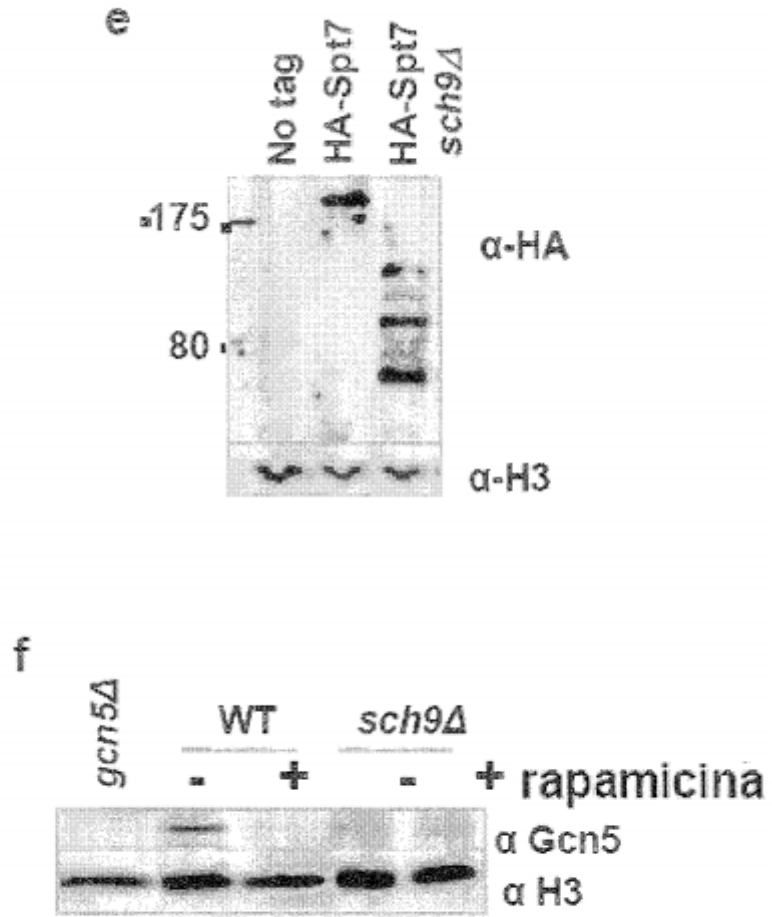


Figura 4

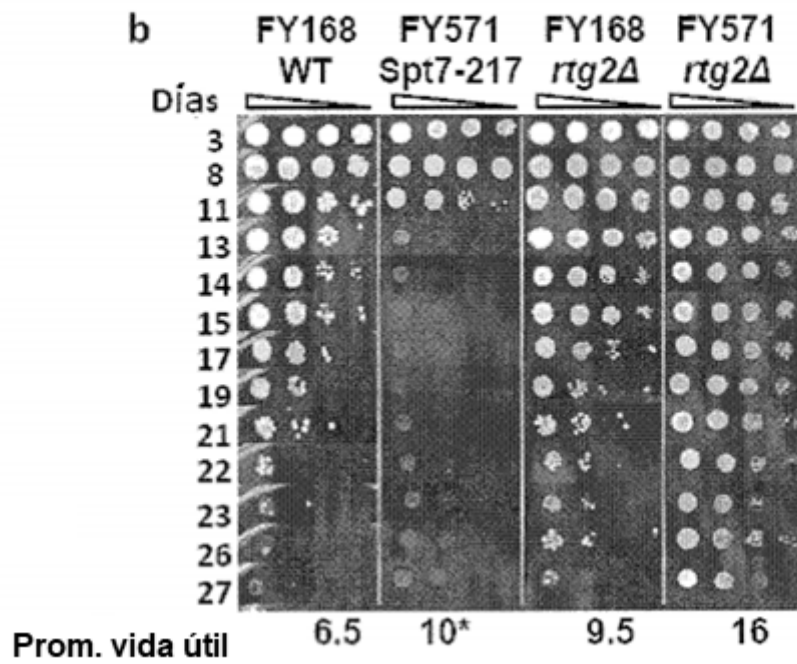
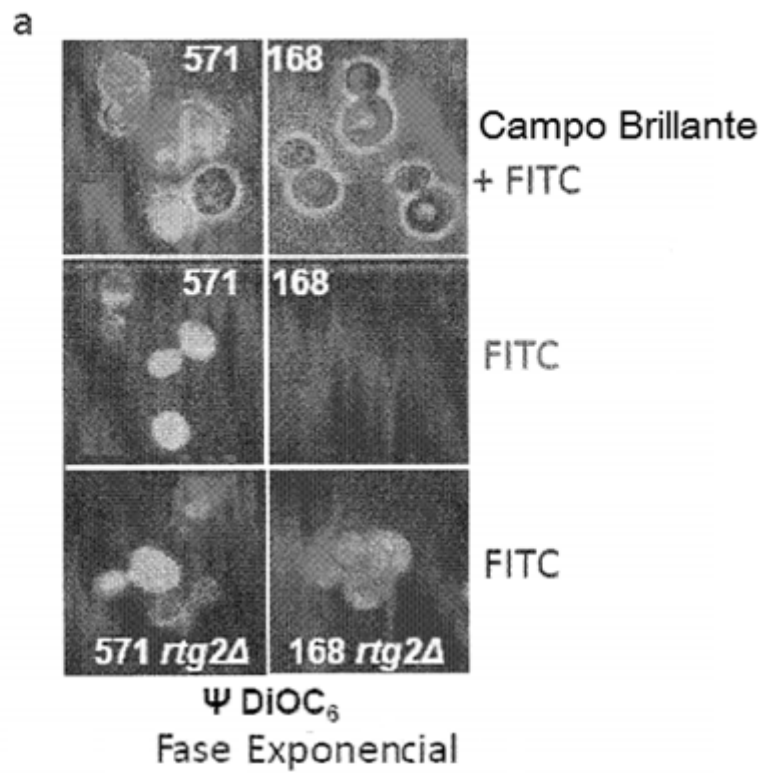


Figura 4 (continuación)

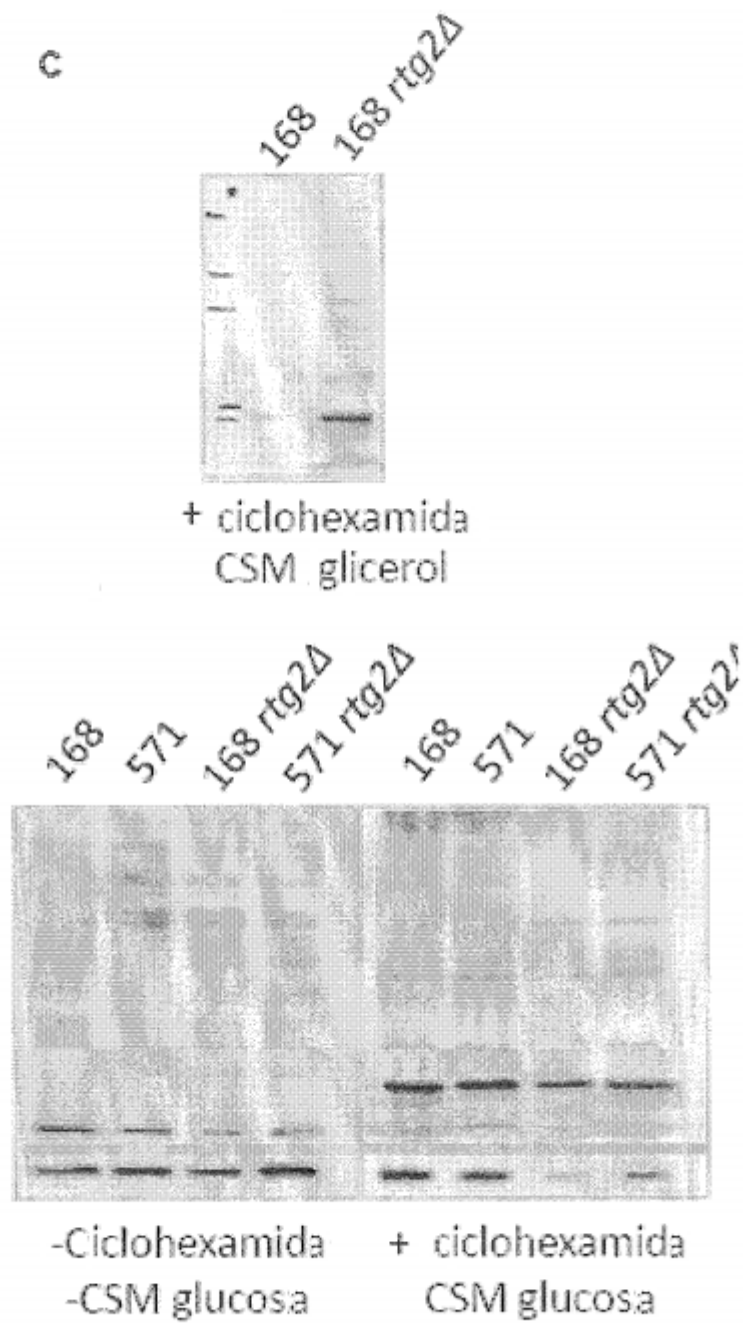


Figura 5

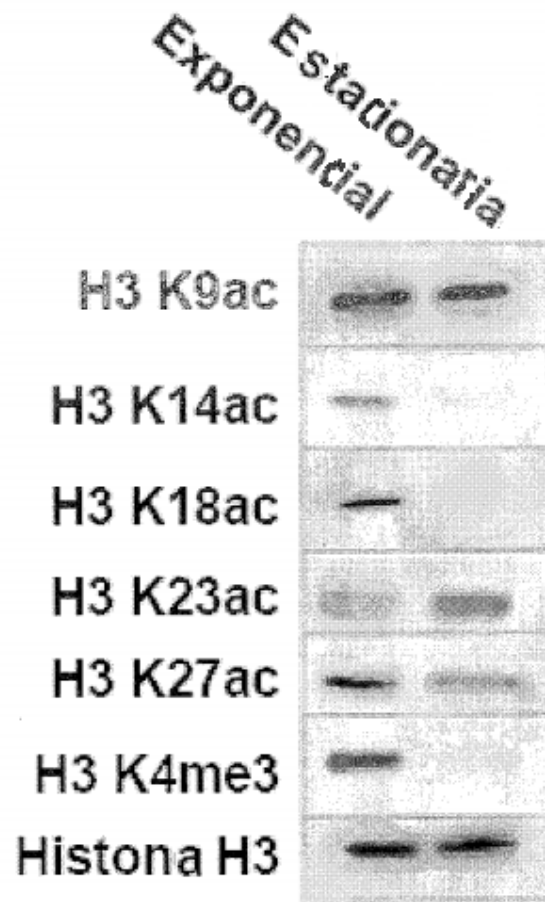


Figura 6

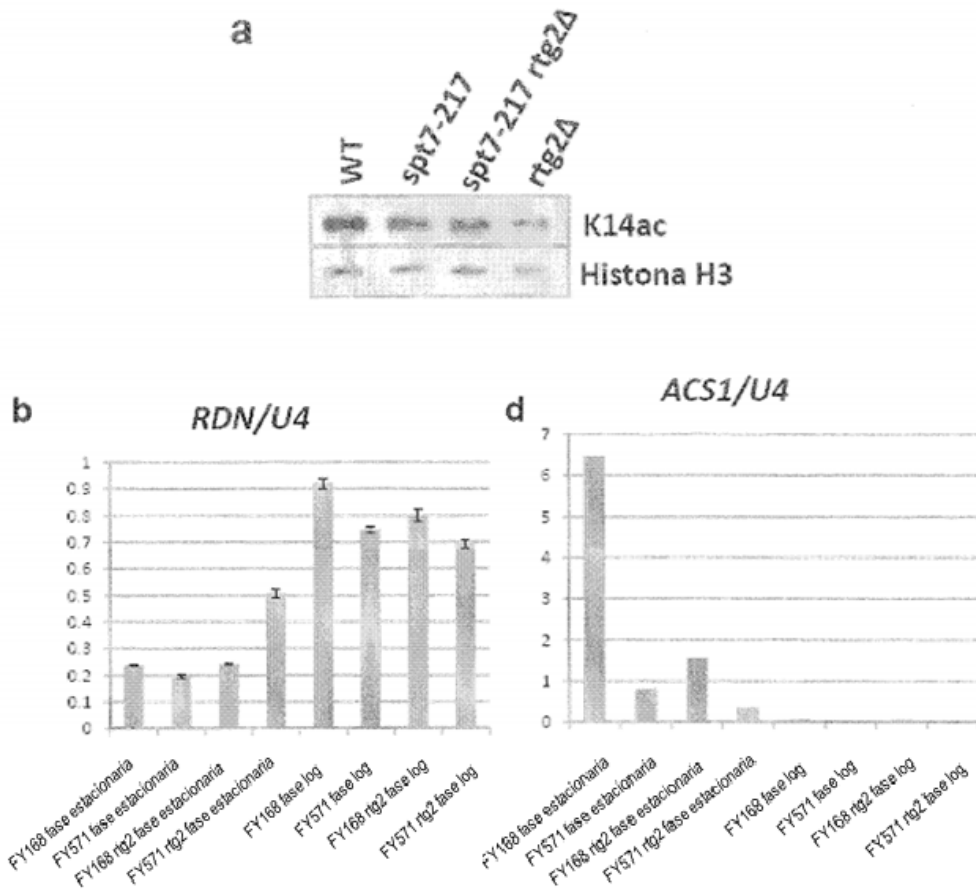


Figura 6 (continuación)

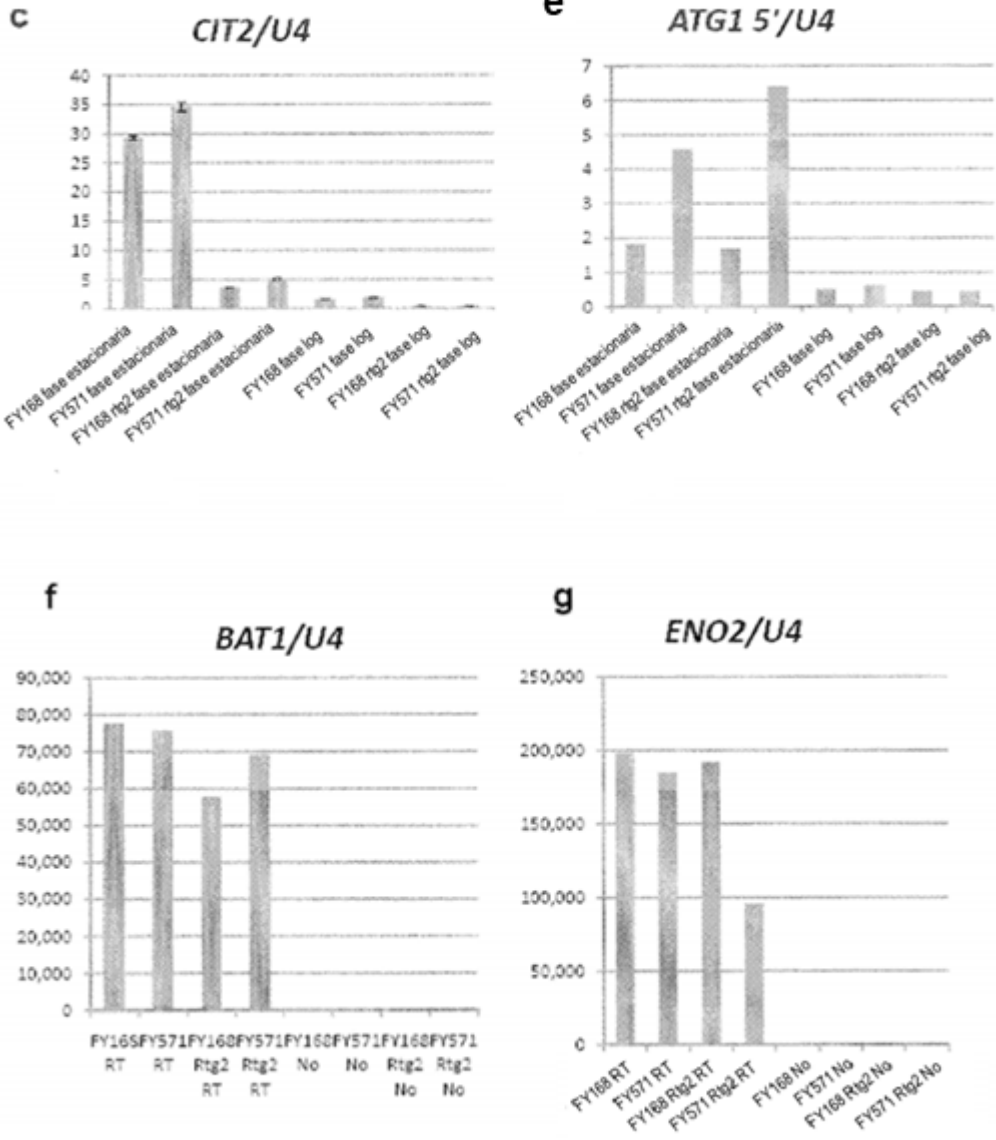


Figura 6 (continuación)

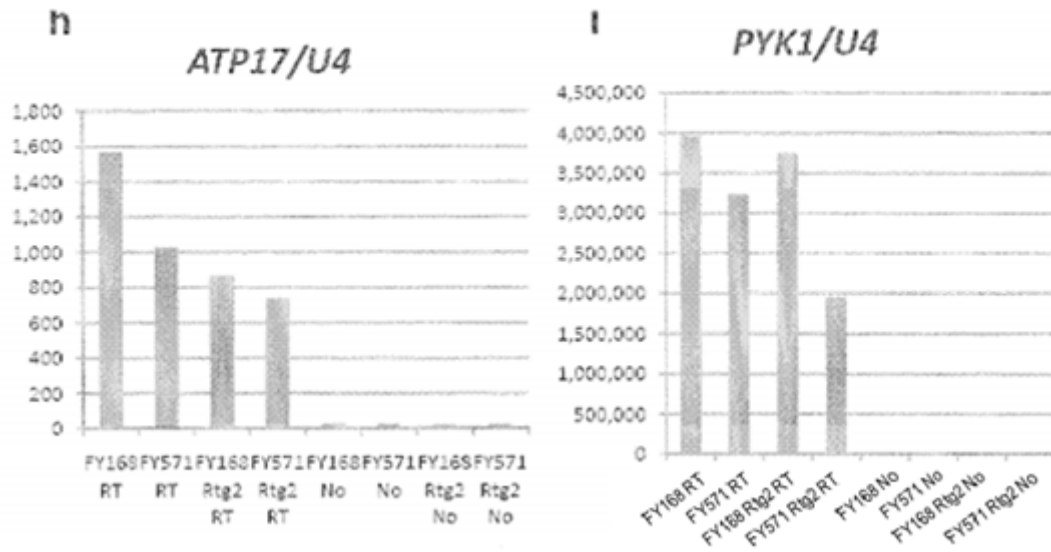


Figura 7

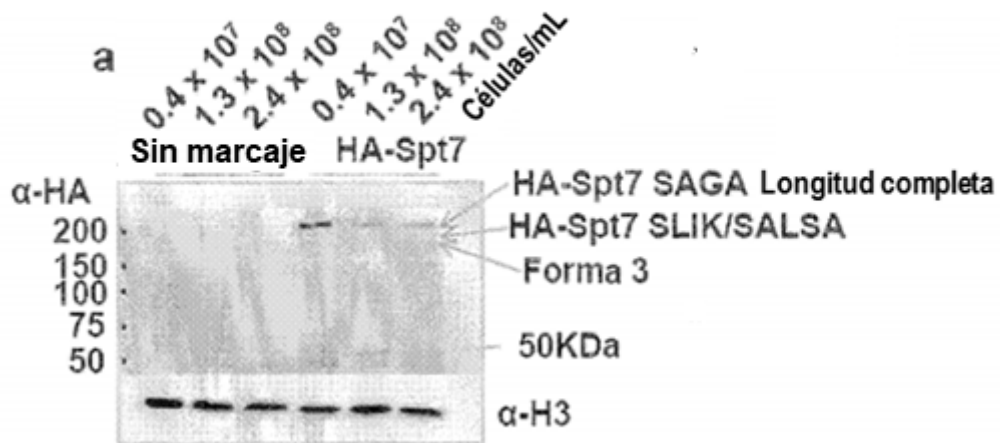




Figura 8

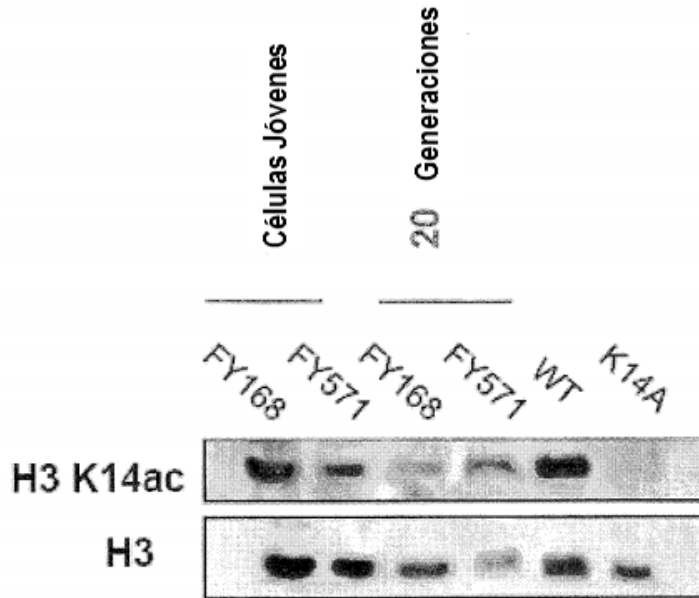
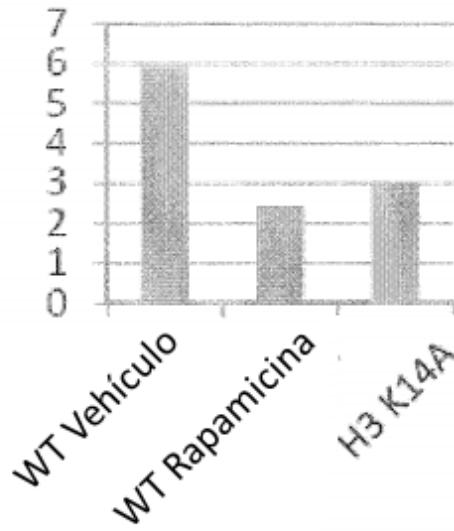


Figura 9

**a** *HMS2* promotorK14ac/H3



**b** *CIT2* promotorK14ac/H3

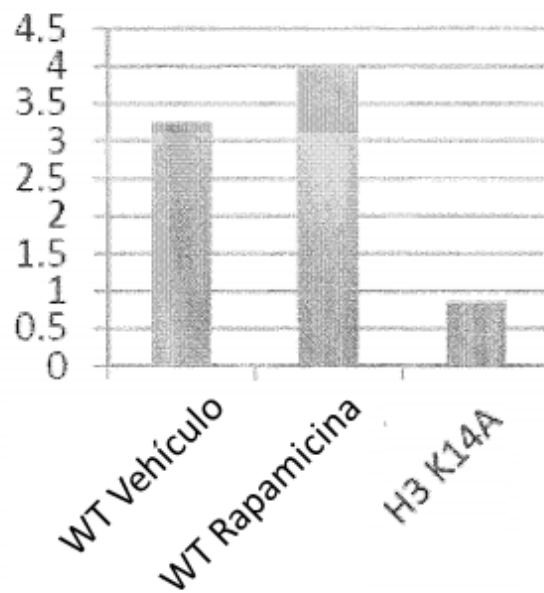


Figura 10

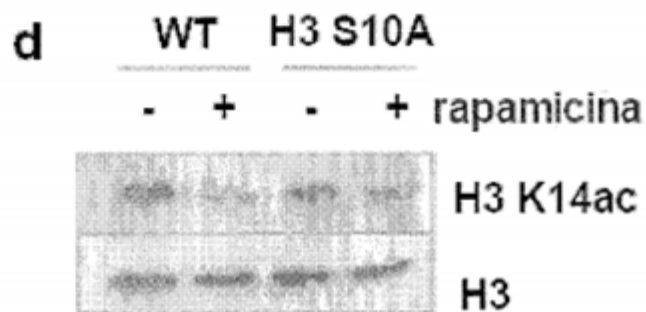
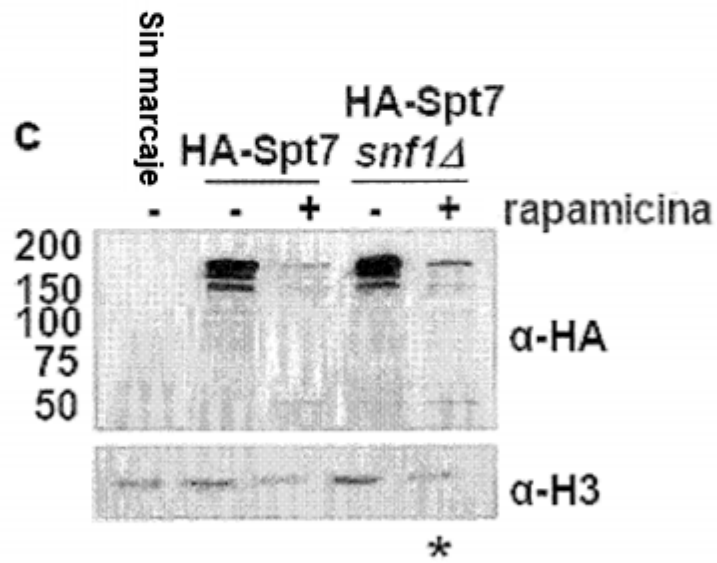
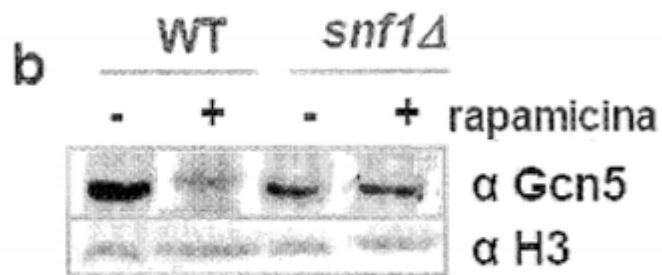
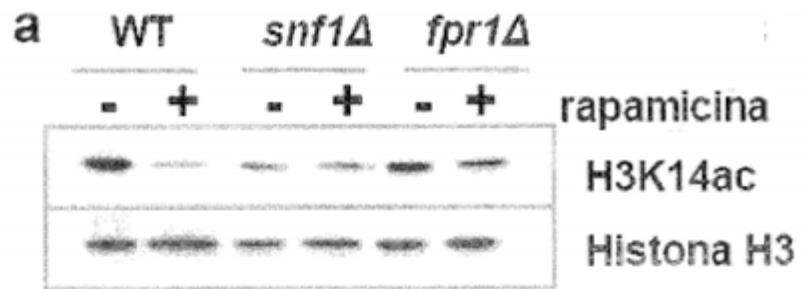
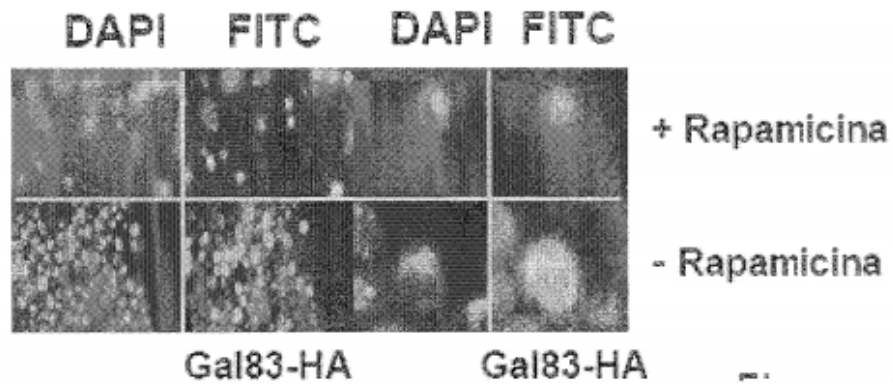
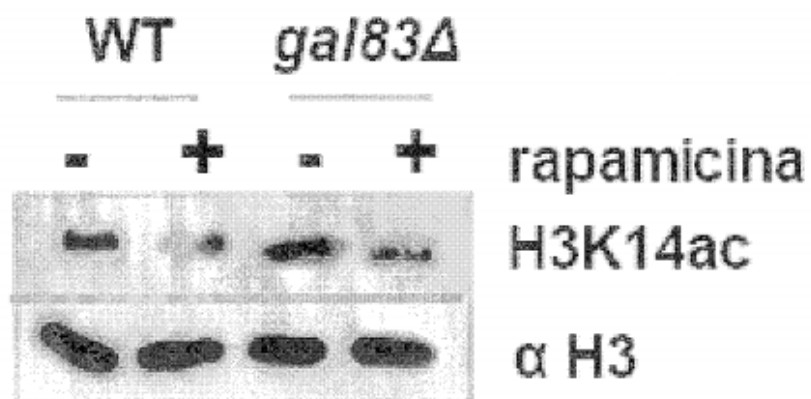


Figura 10 (continuación)

e



f



g

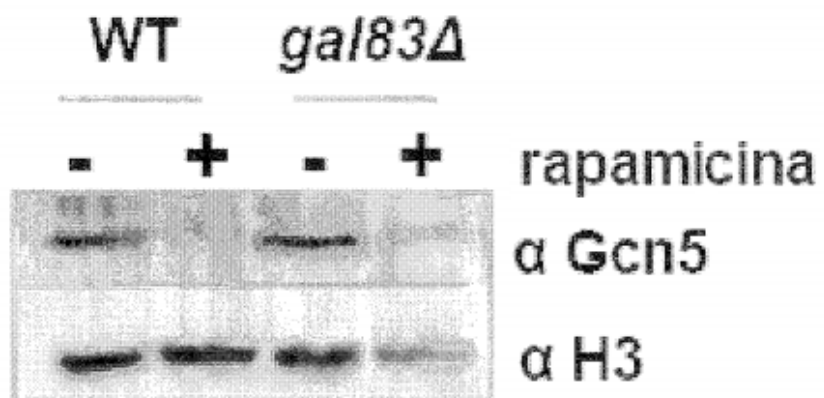


Figura 11

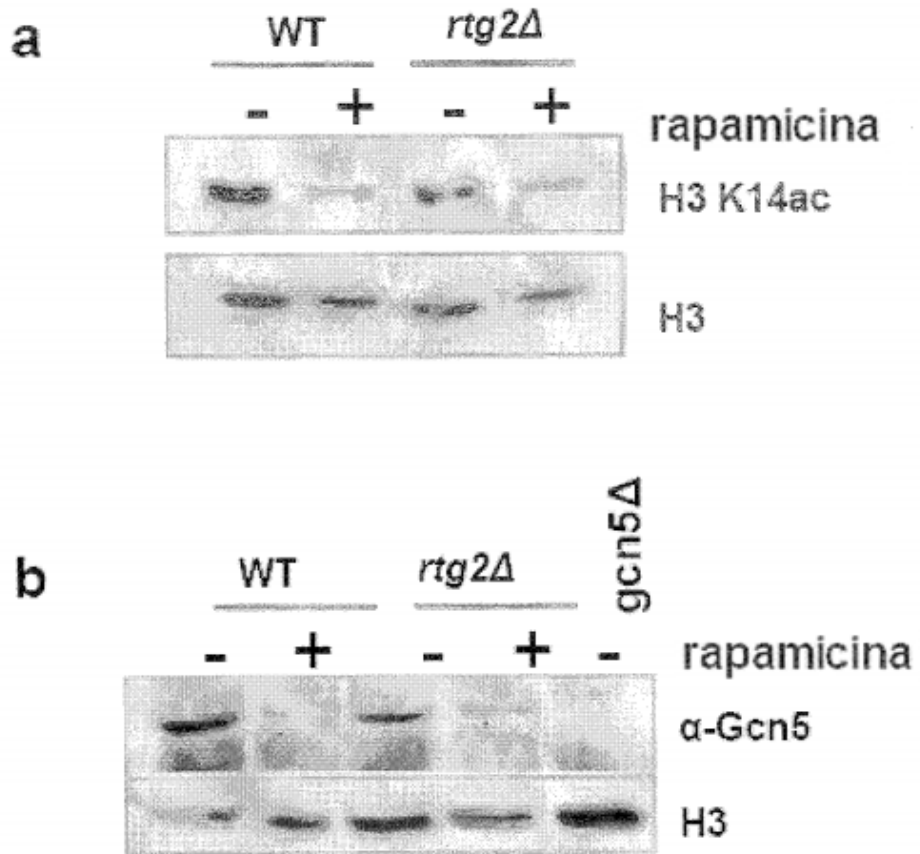


Figura 12

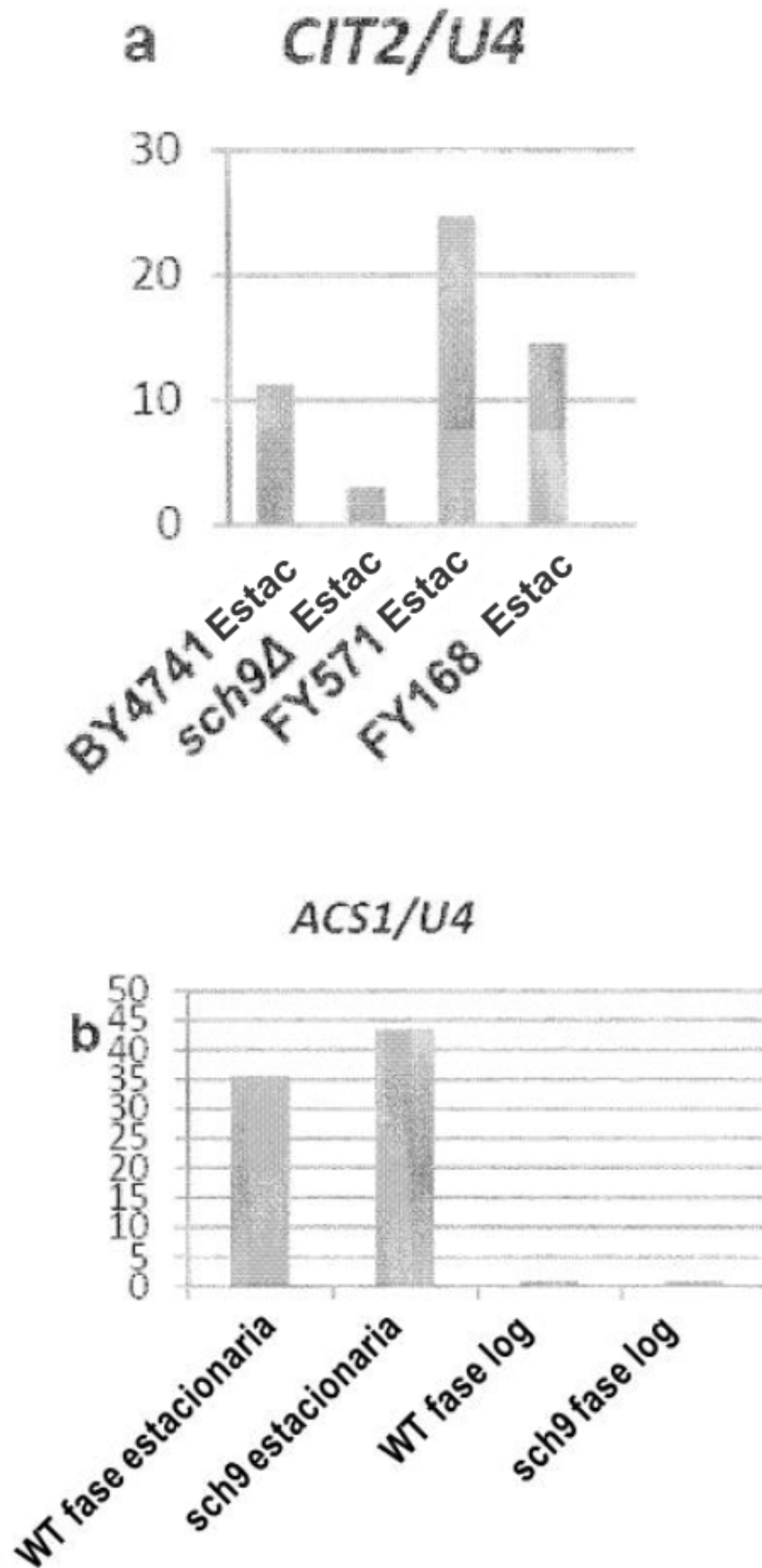


Figura 12 (continuación)

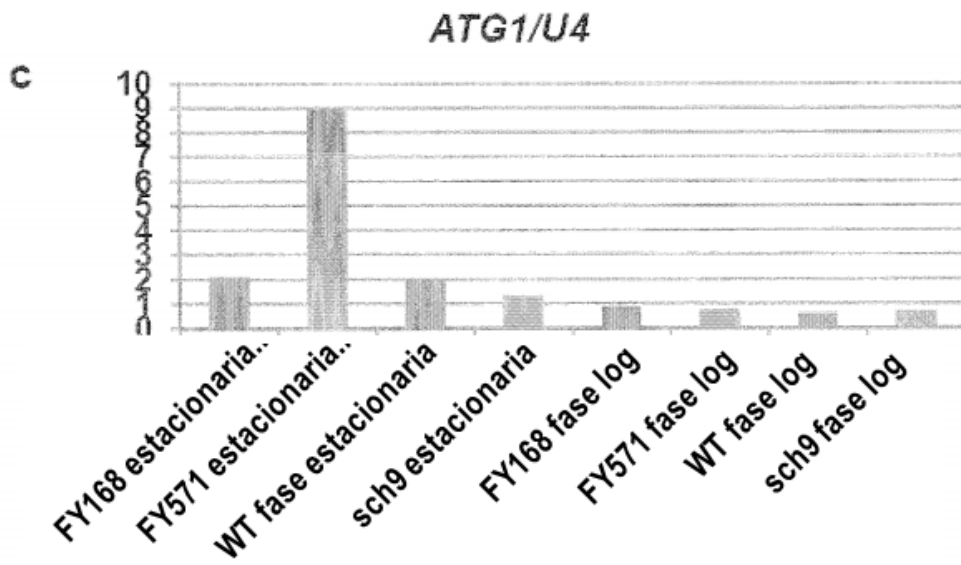


Figura 13

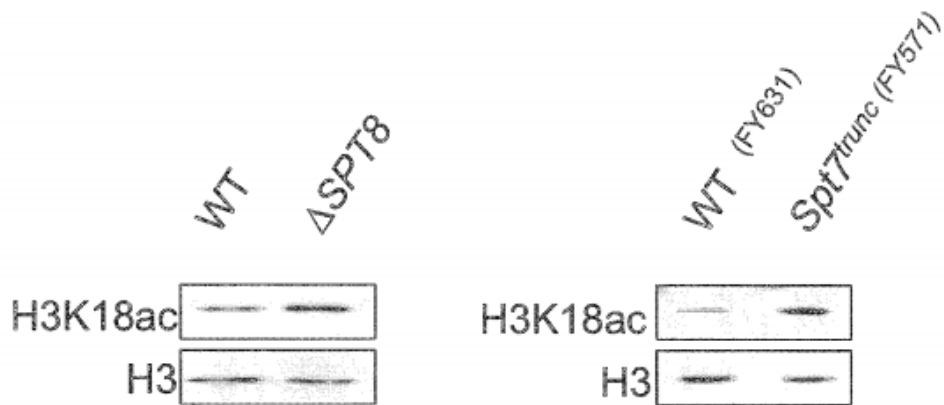


Figura 14

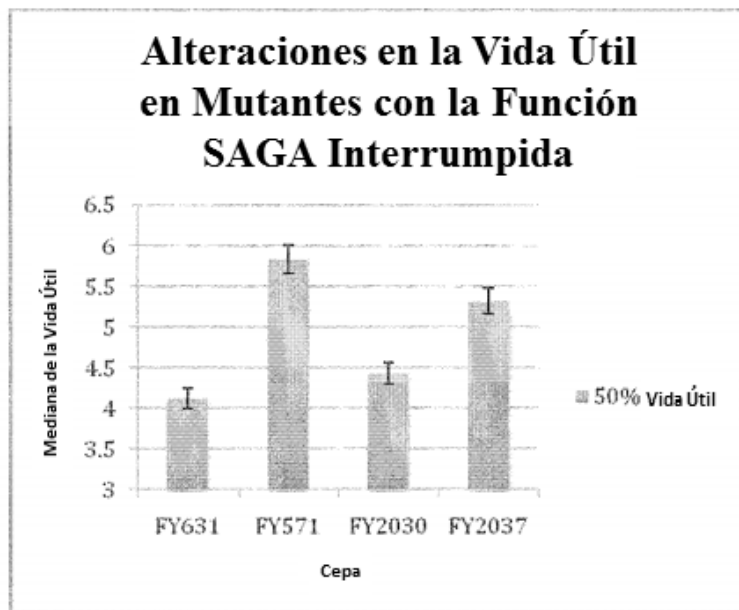




Figura 15

