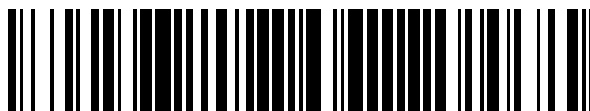


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 648 967**

51 Int. Cl.:

C12N 15/82 (2006.01)

C07K 14/415 (2006.01)

A01H 5/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **12.03.2013** **PCT/GB2013/050599**

87 Fecha y número de publicación internacional: **19.09.2013** **WO13136057**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **12.03.2013** **E 13721003 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.10.2017** **EP 2804949**

54 Título: **Genes involucrados en la producción de noscapina**

30 Prioridad:

13.03.2012 GB 201204407

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

09.01.2018

73 Titular/es:

**SUN PHARMACEUTICAL INDUSTRIES
(AUSTRALIA) PTY LIMITED (100.0%)
Level 4, 1 Acacia Place
Notting Hill VIC 3168, AU**

72 Inventor/es:

**WINZER, THILO;
GRAHAM, IAN ALEXANDER y
WALKER, TRACEY CAROL**

74 Agente/Representante:

PONS ARIÑO, Ángel

ES 2 648 967 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

Genes involucrados en la producción de noscapina

5 INTRODUCCIÓN

Esta descripción se refiere al aislamiento y secuencia de una molécula de ácido nucleico que incluye un grupo de genes que comprende 10 genes de una noscapina que produce el cultivar *Papaver somniferum* [adormidera]; células transgénicas transformadas con dicha molécula de ácido nucleico, variantes de secuencia de los genes; el uso de
10 dichos genes/proteínas en la producción de alcaloides opiáceos; y el uso de genes como marcador de plantas de *P. somniferum* que sintetizan alcaloides opiáceos, noscapina en particular.

Antecedentes de la divulgación

15 La noscapina pertenece a la subclase ftalidaisoquinolina de los alcaloides de isoquinolina estructuralmente diversos, mientras que la codeína, morfina, tebaína y oripavina pertenecen a la subclase morfina. Si bien la biosíntesis de los morfina se ha dilucidado a nivel molecular, nuestro conocimiento de la biosíntesis de la noscapina no ha avanzado significativamente desde la demostración que usó el etiquetado de isótopos en la década de 1960, que se deriva de la escoulerina. Comprender la genética bioquímica que sustenta la biosíntesis de la noscapina debería
20 permitir una producción mejorada de noscapina y moléculas relacionadas tanto en la adormidera como en otros sistemas de expresión.

P. somniferum es la planta de la que se extrae el opio. La amapola de opio es la única amapola comercialmente explotada de la familia *Papaveraceae* y es la principal fuente de opiáceos naturales. El opio se extrae del látex
25 cosechado de las vainas de semillas verdes. Otra fuente de alcaloides opiáceos es la paja de adormidera que es la planta madura seca. *P. somniferum* es una fuente de alcaloides opiáceos clínicamente útiles como morfina, codeína, tebaína, noscapina [también conocida como narcotina] y papaverina. La aplicación clínica de estos alcaloides opiáceos y sus derivados es amplia y tiene uso como analgésicos, antitusígenos y antiespasmódicos. Aunque no se usa como un agente farmacológico en sí mismo, la tebaína es un opiáceo particularmente útil que se puede convertir
30 en una gama de compuestos tales como hidrocodona, oxicodona, oximorfona, naltrefina, naltrexona, buprenorfina y etorfina. Estos productos intermedios también tienen amplias aplicaciones farmacéuticas. Por ejemplo, oxicodona, oximorfona y etorfina se utilizan ampliamente como analgésicos para el dolor moderado a intenso y, a menudo, se combinan con otros analgésicos como el ibuprofeno. La buprenorfina se usa en el tratamiento de la adicción a la heroína y el dolor crónico. Naltrexona se usa en el tratamiento del alcohol y la adicción a los opiáceos.

35 La presente descripción se refiere al análisis transcriptómico de *P. somniferum* que producen variedades de noscapina en comparación con cultivares de *P. somniferum* que no producen noscapina. El análisis ha revelado la manifestación exclusiva de un grupo de genes principalmente de citocromo P450 y metiltransferasa en una variedad de amapola que produce noscapina. Estos genes están sorprendentemente ausentes de los genomas de dos
40 variedades que no producen noscapina. El análisis de un mapeo de la población F2 indicó que los genes están estrechamente relacionados en la variedad de la noscapina y la secuenciación cromosómica artificial bacteriana confirmó que existen como un nuevo conjunto de genes para la biosíntesis de alcaloides opiáceos.

Declaraciones de la invención

45 De acuerdo con un aspecto de la invención, se proporciona una molécula de ácido nucleico aislada que comprende un grupo de genes que codifica dos o más polipéptidos implicados en la biosíntesis de alcaloides opiáceos o intermedios, en donde uno de dichos dos genes comprende una secuencia de nucleótidos seleccionada del grupo que consiste en;

50 i) una secuencia de nucleótidos como se expone en la SEQ ID NO: 9;
ii) una secuencia de nucleótidos donde dicha secuencia está degenerada como resultado del código genético de la secuencia de nucleótidos definida en (i);
iii) una molécula de ácido nucleico cuya cadena complementaria se hibrida en condiciones de hibridación rigurosas
55 con la secuencia en la SEQ ID NO: 9 y que codifica un polipéptido que tiene actividad deshidrogenasa/reductasa de cadena corta; y
iv) una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos como se expone en la SEQ ID NO: 19 o una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido que tiene una identidad de secuencia de aminoácidos del 46% a través de la secuencia de aminoácidos de longitud completa expuesta en la
60 SEQ ID NO: 19 donde dicho polipéptido tiene actividad deshidrogenasa/reductasa de cadena corta.

- La hibridación de una molécula de ácido nucleico se produce cuando dos moléculas de ácido nucleico complementarias experimentan una cantidad de enlaces de hidrógeno entre sí. La rigurosidad de la hibridación puede variar de acuerdo con las condiciones ambientales que rodean a los ácidos nucleicos, la naturaleza del método de hibridación y la composición y longitud de las moléculas de ácido nucleico utilizadas. Los cálculos con respecto a las condiciones de hibridación requeridas para alcanzar grados particulares de rigor se discuten en Sambrook y col., Molecular Cloning: A Laboratory Manual (Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 2001); and Tijssen, Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology-Hybridization with Nucleic Acid Probes Part I, Chapter 2 (Elsevier, New York, 1993). La T_m es la temperatura a la que el 50% de una cadena dada de una molécula de ácido nucleico se hibrida con su cadena complementaria. Lo siguiente es un conjunto ejemplar de condiciones de hibridación y no es restrictivo:

Rigor Muy Alto (permite secuencias para compartir al menos 90% de identidad para hibridar)

Hibridación:	5x SSC a 65 ° C durante 16 horas
Lavar dos veces:	2x SSC a temperatura ambiente (RT) durante 15 minutos cada uno
Lavar dos veces:	0.5x SSC a 65 ° C durante 20 minutos cada uno

15 Rigor Alto (permite secuencias para compartir al menos 80% de identidad para hibridar)

Hibridación:	5x-6x SSC a 65 ° C-70 ° C durante 16-20 horas
Lavar dos veces:	2x SSC a temperatura ambiente durante 5-20 minutos cada uno
Lavar dos veces:	1x SSC a 55 ° C-70 ° C durante 30 minutos cada uno

Rigor Bajo (permite secuencias para compartir al menos 50% de identidad para hibridar)

Hibridación:	6x SSC a temperatura ambiente a 55 ° C durante 16-20 horas
Lavar al menos dos veces:	2x-3x SSC a temperatura ambiente a 55 ° C durante 20-30 minutos cada uno

20

En un aspecto o realización preferida de la invención, dicha molécula de ácido nucleico comprende o consiste en una secuencia de nucleótidos como la SEQ ID NO: 9 donde dicha molécula de ácido nucleico codifica un polipéptido con actividad deshidrogenasa/reductasa de cadena corta.

- 25 En una realización preferida de la invención, la molécula de ácido nucleico incluye además una o más secuencias de nucleótidos seleccionadas del grupo que consiste en:

- i) una secuencia de nucleótidos representada por la secuencia en la SEQ ID NO: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 o 10;
- ii) una secuencia de nucleótidos donde dicha secuencia está degenerada como resultado del código genético de la secuencia de nucleótidos definida en (i);
- iii) una molécula de ácido nucleico cuya cadena complementaria se hibrida en condiciones de hibridación rigurosas con la secuencia en la SEQ ID NO: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 o 10 donde dicha molécula de ácido nucleico codifica polipéptidos implicados en la biosíntesis de alcaloides opiáceos de *P. somniferum* o intermedios en la biosíntesis de alcaloides opiáceos;
- iv) una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos como se representa en SEQ ID NO: 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18 o 20;
- v) una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos donde dicha secuencia de aminoácidos se modifica por supresión o sustitución de al menos un residuo de aminoácido como se representa en iv) anterior y que ha retenido o mejorado la actividad biosintética del alcaloide.

40

En una realización preferida de la invención, dicha molécula de ácido nucleico incluye la SEQ ID NO: 9 y además incluye una o más secuencias de nucleótidos seleccionadas del grupo que consiste en: SEQ ID NO. 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 o 10.

- 45 En una realización preferida de la invención, dicha molécula de ácido nucleico incluye secuencias de nucleótidos 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 seleccionadas del grupo que consiste en: SEQ ID NO. 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10.

En una realización preferida de la invención, dicha molécula de ácido nucleico incluye cada una de las secuencias de nucleótidos como se representa en SEQ ID NO: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 y 10.

50

De acuerdo con un aspecto adicional de la invención, se proporciona un polipéptido aislado seleccionado del grupo

que consiste en:

- i) un polipéptido que comprende o que consiste en una secuencia de aminoácidos como se representa en SEQ ID NO: 19; o
- 5 ii) un polipéptido modificado que comprende o que consiste en una secuencia de aminoácidos modificada donde dicho polipéptido se modifica mediante eliminación o sustitución de al menos un resto de aminoácido de la secuencia presentada en la SEQ ID NO: 19 y que ha retenido o mejorado la actividad deshidrogenasa/reductasa de cadena corta
- 10 En una realización preferida de la invención, dicho polipéptido comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos un 46% idéntica a la secuencia de aminoácidos de longitud completa en la SEQ ID NO: 19 y que codifica un polipéptido con actividad deshidrogenasa/reductasa de cadena corta.

- Un polipéptido modificado como se describe aquí puede diferir en la secuencia de aminoácidos por una o más
- 15 sustituciones, adiciones, eliminaciones, truncamientos que pueden estar presentes en cualquier combinación. Entre las variantes preferidas están aquellas que varían de un polipéptido de referencia por sustituciones de aminoácidos conservadoras. Tales sustituciones son aquellas que sustituyen un aminoácido dado por otro aminoácido de características similares. La siguiente lista no excluyente de aminoácidos se considera reemplazos conservadores (similares): a) alanina, serina y treonina; b) ácido glutámico y ácido aspártico; c) asparagina y glutamina d) arginina y
 - 20 lisina; e) isoleucina, leucina, metionina y valina y f) fenilalanina, tirosina y triptófano. Las más preferidas son las variantes que retienen o potencian la misma función y actividad biológica que el polipéptido de referencia del que varía.

- En una realización, los polipéptidos variantes tienen al menos 46% a 50% de identidad, incluso más preferiblemente
- 25 al menos 55% de identidad, aún más preferiblemente al menos 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85 %, 90%, 95% de identidad, y al menos 99% de identidad con la mayoría o la secuencia de aminoácidos de longitud completa ilustrado aquí.

- De acuerdo con un aspecto adicional de la invención, se proporciona un vector que comprende una molécula de
- 30 ácido nucleico de acuerdo con la invención.

- Preferiblemente, la molécula de ácido nucleico en el vector está bajo el control de, y operativamente unida a, un promotor apropiado u otros elementos reguladores para la transcripción en una célula huésped tal como una célula microbiana (por ejemplo, bacteriana, de levadura) o vegetal . El vector puede ser un vector de expresión bifuncional
- 35 que funciona en múltiples hosts. En el caso del ADN genómico, este puede contener su propio promotor u otros elementos reguladores y, en el caso del ADNc, puede estar bajo el control de un promotor apropiado u otros elementos reguladores para la expresión en la célula huésped.

- Por "promotor" se entiende una secuencia de nucleótidos ascendente del sitio de iniciación de la transcripción y que
- 40 contiene todas las regiones reguladoras requeridas para la transcripción. Los promotores adecuados incluyen promotores constitutivos, específicos de tejido, inducibles, de desarrollo u otros promotores para la expresión en células vegetales comprendidas en plantas que dependen del diseño. Tales promotores incluyen promotores virales, fúngicos, bacterianos, animales y derivados de plantas capaces de funcionar en células vegetales.

- 45 Los promotores constitutivos incluyen, por ejemplo, el promotor CaMV 35S (Odell y col. (1985) Nature 313, 9810 - 812); actina de arroz (McElroy y col. (1990) Células vegetales 2: 163-171); ubiquitina(Christian y col. (1989) Plant Mol. Biol. 18:675-689; pEMU Last y col. (1991) Theor Appl. Genet. 81: 581-588); MAS (Velten y col. (1984) EMBO J. 3. 2723-2730); ALS promoter (U.S. Application Serial No. 08/409,297), y similares. Otros promotores constitutivos incluyen los de las patentes de EE. UU. Números de Patentes 5,608,149; 5,608,144; 5,604,121; 5,569,597;
- 50 5,466,785; 5,399,680, 5,268,463; y 5,608,142, cada uno de los cuales se incorpora por referencia.

- Los promotores regulados químicamente se pueden usar para modular la expresión de un gen en una planta mediante la aplicación de un regulador químico exógeno. Dependiendo del objetivo, el promotor puede ser un promotor inducible por productos químicos, donde la aplicación de la expresión génica inducida por productos
- 55 químicos, o un promotor reprimible químico, donde la aplicación del químico reprime la expresión génica. Los promotores inducibles por productos químicos son conocidos en la técnica e incluyen, pero no se limitan a, el promotor In2-2 de maíz, que se activa mediante herbicidas benzenesulfonamida, el promotor GST de maíz, que se activa mediante compuestos electrofílicos hidrófobos que se usan como pre-herbicidas de emergencia, y el promotor de tabaco PR-1a, que se activa con ácido salicílico. Otros promotores regulados químicamente de interés incluyen
 - 60 promotores que responden a esteroides (véase, por ejemplo, el promotor inducible por glucocorticoides en Schena y

col. (1991) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88: 10421-10425 y McNellis y col. (1998) Plant J. 14(2): 247-257) y promotores inducibles por tetraciclina y represores de tetraciclina (ver, por ejemplo, Gatz y col. (1991) Mol. Gen. Genet. 227: 229-237, y Números de Patentes de EE.UU. 5,814,618 y 5,789,156, incorporado aquí como referencia.

- 5 Cuando se desea una expresión mejorada en tejidos particulares, pueden utilizarse promotores específicos de tejido. Los promotores específicos de tejido incluyen los descritos por Yamamoto y col. (1997) Plant J. 12(2): 255-265; Kawamata y col. (1997) Plant Cell Physiol. 38(7): 792-803; Hansen y col. (1997) Mol. Gen. Genet. 254(3): 337-343; Russell y col. (1997) Transgenic Res. 6(2): 157-168; Rinehart y col. (1996) Plant Physiol. 112(3): 1331-1341; Van Camp y col. (1996) Plant Physiol. 112(2): 525-535; Canevaschi y col. (1996) Plant Physiol. 112(2): 513-524;
- 10 Yamamoto y col. (1994) Plant Cell Physiol. 35(5): 773-778; Lam (1994) Results Probl. Cell Differ. 20: 181-196; Orozco y col. (1993) Plant Mol. Biol. 23(6): 1129-1138; Mutsuoka y col. (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 9586-9590; y Guevara-García y col. (1993) Plant J. 4(3): 495-50.

- "Unido operativamente" significa unido como parte de la misma molécula de ácido nucleico, adecuadamente
- 15 posicionada y orientada para que se inicie la transcripción a partir del promotor. El ADN operativamente unido a un promotor está "bajo la regulación de iniciación transcripcional" del promotor. En un aspecto preferido, el promotor es un promotor específico de tejido, un promotor inducible o un promotor regulado en el desarrollo.

- Particularmente interesante en el presente contexto son constructos de ácidos nucleicos que funcionan como
- 20 vectores de plantas. Los procedimientos y vectores específicos usados previamente con gran éxito en las plantas los describe Guerineau y Mullineaux (1993) (Transformación de plantas y vectores de expresión. En: Plant Molecular Biology Labfax (Croy RRD ed) Oxford, BIOS Scientific Publishers, páginas 121-148. Los vectores adecuados pueden incluir vectores derivados de plantas víricas (véase por ejemplo EP194809). Si se desea, pueden incluirse marcadores genéticos seleccionables en la construcción, tales como aquellos que confieren fenotipos seleccionables
- 25 tales como resistencia a herbicidas (por ejemplo, kanamicina, higromicina, fosfinotricina, clorsulfurón, metotrexato, gentamicina, espectinomina, imidazolinonas y glifosato).

En una realización preferida de la invención, dicho vector es un cromosoma artificial bacteriano [BACS].

- 30 De acuerdo con un aspecto adicional de la invención, se proporciona una célula transgénica transformada o transfectada con una molécula o vector de ácido nucleico de acuerdo con la invención.

En una realización preferida de la invención, dicha célula es una célula vegetal.

- 35 En una realización preferida de la invención, dicha célula vegetal es del género *Papaver*.

En una realización preferida de la invención, dicha célula vegetal es una célula *Papaver somniferum*.

- De acuerdo con un aspecto adicional de la presente invención, se proporciona una planta que comprende una célula
- 40 vegetal de acuerdo con la invención.

En una realización preferida de la invención, dicha planta es del género *Papaver*; preferiblemente *Papaver somniferum*.

- 45 En una realización alternativa preferida de la invención, dicha célula es una célula microbiana; preferiblemente una célula bacteriana o fúngica [por ejemplo levadura, *Saccharomyces cerevisiae*].

- En una realización preferida de la invención, dicha célula está adaptada de manera que la molécula de ácido nucleico que codifica uno o más polipéptidos de acuerdo con la invención se sobreexpresa cuando se compara con
- 50 una célula no transgénica de la misma especie.

- De acuerdo con un aspecto adicional de la invención, se proporciona una molécula de ácido nucleico que comprende un casete de transcripción donde dicho casete incluye una secuencia de nucleótidos diseñada con referencia a una secuencia de nucleótidos seleccionada del grupo: SEQ ID NO. 9, y está adaptada para la expresión
- 55 mediante la provisión de al menos un promotor ligado operativamente a dicha secuencia de nucleótidos de manera que las moléculas sentido y antisentido se transcriban a partir de dicho casete.

- En una realización preferida de la invención, dicho casete está adaptado de modo que las moléculas de ácido ribonucleico sentido y antisentido se transcriban a partir de dicho casete, donde dichas moléculas de ácido nucleico
- 60 sentido y antisentido están adaptadas para reconocer al menos una parte o la totalidad de su longitud para formar un

ARN inhibidor o ARN de horquilla corta.

En una realización preferida de la invención, dicho casete está provisto de al menos dos promotores adaptados para transcribir cadenas sentido y antisentido de dicha molécula de ácido ribonucleico.

5

En una realización preferida alternativa de la invención, dicho casete comprende una molécula de ácido nucleico donde dicha molécula comprende una primera parte unida a una segunda parte donde dichas primera y segunda partes son complementarias de al menos parte de su secuencia y en donde una transcripción adicional de dicho ácido nucleico la molécula produce una molécula de ácido ribonucleico que forma una región bicatenaria por apareamiento de bases complementarias de dichas primera y segunda partes, formando así un ARN de horquilla corta.

10

Una técnica para eliminar específicamente la función del gen es mediante la introducción de ARN bicatenario, también denominado ARN inhibidor / interferente (siARN) pequeño o ARN de horquilla corta [ARNhc], en una célula que da como resultado la destrucción del ARNm complementario a la secuencia incluida en la molécula de siARN/ARNhc. La molécula de siARN comprende dos cadenas complementarias de ARN (una cadena sentido y una cadena antisentido) unidas entre sí para formar una molécula de ARN de doble cadena. La molécula de siARN normalmente se deriva de los exones del gen que se debe extirpar. El mecanismo de la interferencia de ARN está siendo dilucidado. Muchos organismos responden a la presencia de ARN bicatenario activando una cascada que conduce a la formación de siARN. La presencia de ARN bicatenario activa un complejo de proteína que comprende RNasa III que procesa el ARN bicatenario en fragmentos más pequeños (siARNs, aproximadamente de 21-29 nucleótidos de longitud) que se convierten en parte de un complejo de ribonucleoproteína. El siARN actúa como una guía para el complejo RNasa para escindir ARNm complementario a la cadena antisentido del siARN dando como resultado la destrucción del ARNm.

15

20

25

En una realización preferida de la invención, dicha molécula de ácido nucleico es parte de un vector adaptado para la expresión en una célula vegetal.

De acuerdo con un aspecto adicional de la invención, se proporciona una célula vegetal transfectada con una molécula o vector de ácido nucleico según la invención donde dicha célula tiene expresión reducida de un polipéptido de acuerdo con la invención.

30

De acuerdo con un aspecto de la invención, se proporciona un proceso para la modificación de uno o más alcaloides opiáceos que comprende:

35

- i) proporcionar una célula vegetal transgénica de acuerdo con la invención;
- ii) cultivar dicha célula vegetal para producir una planta transgénica; y opcionalmente
- i) cosechar dicha planta transgénica, o parte de la misma.

40

En un método preferido de la invención, dicho material vegetal cosechado se seca y se extrae el alcaloide opiáceo.

De acuerdo con un aspecto alternativo de la invención, se proporciona un proceso para la modificación de uno o más alcaloides opiáceos o metabolitos intermedios de alcaloides opiáceos que comprende:

45

- i) proporcionar una célula microbiana transgénica de acuerdo con la invención que expresa una o más moléculas de ácido nucleico según la invención en cultivo con al menos un alcaloide opiáceo o un metabolito intermedio de alcaloide opiáceo;
- ii) cultivar la célula microbiana en condiciones que modifican uno o más alcaloides opiáceos o alcaloides opiáceos intermedios; y opcionalmente
- iii) aislar dicho alcaloide opiáceo o intermedio alcaloide opiáceo de la célula microbiana o cultivo celular.

50

En un método preferido de la invención, dicha célula microbiana es una célula bacteriana o célula fúngica / de levadura.

55

Si se usan células microbianas como organismos en el proceso de acuerdo con la invención, se cultivan o se cultivan de la manera en que el experto en la materia está familiarizado, dependiendo del organismo anfitrión. Como regla general, los microorganismos se cultivan en un medio líquido que comprende una fuente de carbono, generalmente en forma de azúcares, una fuente de nitrógeno, generalmente en forma de fuentes de nitrógeno orgánico como extracto de levadura o sales como sulfato de amonio, oligoelementos como sales de hierro, manganeso y magnesio y, en su caso, vitaminas, a temperaturas de entre 0 ° C y 100 ° C, preferiblemente entre 10 °

60

C y 60 ° C, mientras gasean en oxígeno.

El pH del medio líquido puede mantenerse constante, es decir, regularse durante el período de cultivo, o no. Los cultivos se pueden cultivar de forma discontinua, semidiscontinua o continua. Los nutrientes pueden proporcionarse al comienzo de la fermentación o alimentarse en forma semicontinua o continua. Los alcaloides opiáceos metilados producidos se pueden aislar de los organismos como se describió anteriormente mediante procesos conocidos por los expertos en la técnica, por ejemplo mediante extracción, destilación, cristalización, si es apropiado, precipitación con sal, y / o cromatografía. Con este fin, los organismos pueden ser interrumpidos ventajosamente de antemano. En este proceso, el valor del pH se mantiene ventajosamente entre pH 4 y 12, preferiblemente entre pH 6 y 9, especialmente preferiblemente entre pH 7 y 8.

El medio de cultivo que se utilizará debe cumplir adecuadamente los requisitos de las cepas en cuestión. Las descripciones de los medios de cultivo para diversos microorganismos se pueden encontrar en el libro de texto "Manual of Methods for General Bacteriology" de la American Society for Bacteriology (Washington D.C., USA, 1981).

Como se describió anteriormente, estos medios que se pueden emplear de acuerdo con la invención normalmente comprenden una o más fuentes de carbono, fuentes de nitrógeno, sales inorgánicas, vitaminas y / u oligoelementos.

Las fuentes de carbono preferidas son azúcares, tales como mono-, di- o polisacáridos. Ejemplos de fuentes de carbono son glucosa, fructosa, manosa, galactosa, ribosa, sorbosa, ribulosa, lactosa, maltosa, sacarosa, rafinosa, almidón o celulosa. Los azúcares también se pueden agregar a los medios a través de compuestos complejos como la melaza u otros subproductos de la refinación de azúcar. La adición de mezclas de una variedad de fuentes de carbono también puede ser ventajosa. Otras posibles fuentes de carbono son aceites y grasas como, por ejemplo, aceite de soja, aceite de girasol, aceite de cacahuete y / o grasa de coco, ácidos grasos como, por ejemplo, ácido palmítico, ácido esteárico y / o ácido linoleico, alcoholes y / o polialcoholes tales como, por ejemplo, glicerol, metanol y / o etanol, y / o ácidos orgánicos tales como, por ejemplo, ácido acético y / o ácido láctico.

Las fuentes de nitrógeno son habitualmente compuestos de nitrógeno orgánicos o inorgánicos o materiales que comprenden estos compuestos. Ejemplos de fuentes de nitrógeno comprenden amoníaco en forma líquida o gaseosa o sales de amonio como sulfato de amonio, cloruro de amonio, fosfato de amonio, carbonato de amonio o nitrato de amonio, nitratos, urea, aminoácidos o fuentes complejas de nitrógeno como licor de maíz, harina de soja, soja proteína, extracto de levadura, extracto de carne y otros. Las fuentes de nitrógeno se pueden usar individualmente o como una mezcla.

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

Los compuestos que contienen azufre inorgánico tales como, por ejemplo, sulfatos, sulfitos, ditionitos, tetratiónatos, tiosulfatos, sulfuros, o compuestos de azufre orgánicos tales como mercaptanos y tioles pueden usarse como fuentes de azufre para la producción de azufre que contiene productos químicos finos, en particular de metionina.

Se pueden usar ácido fosfórico, dihidrogenofosfato de potasio o hidrogenofosfato dipotásico o las correspondientes sales que contienen sodio como fuentes de fósforo.

Se pueden añadir agentes quelantes al medio para mantener los iones metálicos en solución. Los agentes quelantes particularmente adecuados comprenden dihidroxifenoles tales como catecol o protocatechuate y ácidos orgánicos tales como ácido cítrico.

Los medios de fermentación usados según la invención para cultivar microorganismos generalmente también comprenden otros factores de crecimiento tales como vitaminas o promotores del crecimiento, que incluyen, por ejemplo, biotina, riboflavina, tiamina, ácido fólico, ácido nicotínico, pantotenato y piridoxina. Los factores de crecimiento y las sales se derivan a menudo de componentes de medios complejos tales como extracto de levadura, melazas, licor de salsa de maíz y similares. Además, es posible agregar precursores adecuados al medio de cultivo.

La composición exacta de los compuestos de los medios depende en gran medida del experimento particular y se decide individualmente para cada caso específico. La información sobre la optimización de los medios se puede encontrar en el libro de texto "Applied Microbiol. Physiology, A Practical Approach" (Editors P.M. Rhodes, P.F. Stanbury, IRL Press (1997) páginas 53-73, ISBN 0 19 963577 3). Los medios de crecimiento también pueden obtenerse de proveedores comerciales, por ejemplo, Standard 1 (Merck) o BHI (infusión de cerebro y corazón, DIFCO) y similares.

Todos los componentes del medio se esterilizan, ya sea por calor (20 min a 1,5 bar y 121 ° C) o por esterilización por filtración. Los componentes se pueden esterilizar juntos o, si es necesario, por separado. Todos los componentes del medio pueden estar presentes al comienzo del cultivo o pueden agregarse de forma continua o por lotes, según se desee.

La temperatura de cultivo está normalmente entre 15°C y 45°C, preferiblemente entre 25°C y 40°C, y puede mantenerse constante o puede alterarse durante el experimento. El pH del medio debe estar en el rango de 5 a 8.5, preferiblemente alrededor de 7.0. El pH para el cultivo puede controlarse durante el cultivo mediante la adición de compuestos básicos como hidróxido de sodio, hidróxido de potasio, amoníaco y amoníaco acuoso o compuestos ácidos como ácido fosfórico o ácido sulfúrico. La formación de espuma puede controlarse empleando antiespumantes tales como, por ejemplo, ésteres de poliglicol de ácido graso. Para mantener la estabilidad de los plásmidos, es posible añadir al medio sustancias adecuadas que tengan un efecto selectivo, por ejemplo, antibióticos. Las condiciones aeróbicas se mantienen introduciendo oxígeno o mezclas de gases que contienen oxígeno tales como, por ejemplo, aire ambiente en el cultivo. La temperatura del cultivo es normalmente de 20°C a 45°C y preferiblemente de 25°C a 40°C. El cultivo continúa hasta que la formación del producto deseado es máxima. Este objetivo normalmente se logra dentro de 10 a 160 horas.

El caldo de fermentación puede procesarse posteriormente. La biomasa puede, según los requisitos, eliminarse total o parcialmente del caldo de fermentación por métodos de separación tales como, por ejemplo, centrifugación, filtración, decantación o una combinación de estos métodos o dejarse completamente en dicho caldo. Es ventajoso procesar la biomasa después de su separación.

Sin embargo, el caldo de fermentación también puede espesarse o concentrarse sin separar las células, usando métodos conocidos tales como, por ejemplo, con la ayuda de un evaporador rotativo, un evaporador de película delgada, un evaporador de película descendente, mediante ósmosis inversa o por nanofiltración. Finalmente, este caldo de fermentación concentrado se puede procesar para obtener los alcaloides opiáceos presentes en el mismo.

De acuerdo con un aspecto adicional de la invención, se proporciona el uso de un gen codificado por una molécula de ácido nucleico representada por la secuencia de ácido nucleico en la SEQ ID NO: 9, o una molécula de ácido nucleico que se hibrida en condiciones de hibridación rigurosas con la secuencia de nucleótidos en la SEQ ID NO: 9 y codifica un polipéptido con actividad biosintética de alcaloides opiáceos como un medio para identificar un locus donde dicho locus está asociado con la expresión o actividad alterada de dicha actividad biosintética del alcaloide opiáceo.

La mutagénesis como un medio para inducir cambios fenotípicos en organismos es bien conocida en la técnica e incluye, pero no se limita a, el uso de agentes mutagénicos tales como mutágenos químicos [por ejemplo. análogos de bases, agentes desaminantes, agentes de intercalación de ADN, agentes alquilantes, transposones, bromo, azida sódica] y mutágenos físicos [por ejemplo radiación ionizante, exposición al psoraleno combinada con irradiación UV].

De acuerdo con un aspecto adicional de la invención, se proporciona una planta de *P. somniferum* que tiene una expresión alterada de un polipéptido de deshidrogenasa/reductasa de cadena corta de acuerdo con la invención que comprende las etapas de:

- i) mutagénesis de semillas de tipo silvestre de una planta de *P. somniferum* que expresa dicho polipéptido de deshidrogenasa/reductasa de cadena corta;
- ii) cultivo de la semilla en i) para producir las primeras y posteriores generaciones de plantas;
- iii) obtener semilla de la planta de la primera generación y las siguientes generaciones de plantas; y
- iv) determinar si la semilla de dicha primera y siguientes generaciones de plantas tiene una secuencia de nucleótidos alterada y / o una expresión alterada de dicho polipéptido de deshidrogenasa/reductasa de cadena corta.

De acuerdo con un aspecto adicional de la invención, se proporciona un método para el análisis de una planta que comprende los pasos:

- i) obtener una muestra y analizar la secuencia de ácido nucleico de una molécula de ácido nucleico seleccionada del grupo que consiste en:

- a) una molécula de ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos como se representa en 9;
- b) una molécula de ácido nucleico que se hibrida con la molécula de ácido nucleico en a) bajo condiciones de

hibridación rigurosas y que codifica un polipéptido con actividad biosintética sintasa de opiáceo; y opcionalmente c) c) comparar la secuencia de nucleótidos de la molécula de ácido nucleico en dicha muestra con una secuencia de nucleótidos de una molécula de ácido nucleico de la planta original de tipo salvaje y donde la molécula de ácido nucleico se analiza mediante un método que comprende los pasos

5

- ii) extraer ácido nucleico de dichas plantas mutadas;
- iii) amplificación de una parte de dicha molécula de ácido nucleico mediante una reacción en cadena de la polimerasa;
- iv) formar una preparación que comprende el ácido nucleico amplificado y el ácido nucleico extraído de la semilla de tipo silvestre para formar ácido nucleico heterodúplex;
- v) incubar dicha preparación con una nucleasa monocatenaria que corta en una región de ácido nucleico heterodúplex para identificar la falta de coincidencia en dicho heterodúplex; y
- vi) determinar el sitio del desapareamiento en dicho heterodúplex de ácido nucleico.

10

15 En un método preferido de la invención, dicha planta de *P. somniferum* tiene actividad biosintética mejorada de alcaloides opiáceos.

En un método alternativo preferido de la invención, dicha planta de *P. somniferum* ha reducido o anulado la actividad biosintética del alcaloide opiáceo.

20

De acuerdo con un aspecto de la invención, se proporciona una planta de *P. somniferum* donde dicha planta comprende un vector viral que incluye todo o parte de un gen que comprende una molécula de ácido nucleico de acuerdo con la invención.

25 En una realización preferida de la invención, dicho gen o parte está codificado por una molécula de ácido nucleico que comprende una secuencia de ácido nucleico seleccionada del grupo que consiste en:

- i) una molécula de ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos como se representa en 9;
- ii) una molécula de ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que se hibrida en condiciones de hibridación rigurosas con una molécula de ácido nucleico en (i) y que codifica una actividad biosintética de alcaloide opiáceo polipeptídico.

30

En una realización preferida de la invención, dicha molécula de ácido nucleico comprende o consiste en una secuencia de nucleótidos como se representa en la SEQ ID NO: 28.

35

De acuerdo con un aspecto adicional de la invención, se proporciona un vector viral que comprende la totalidad o parte de una molécula de ácido nucleico de acuerdo con la invención.

De acuerdo con un aspecto de la invención, se proporciona el uso de un vector viral de acuerdo con la invención en el silenciamiento génico inducido viral en una planta de *P. somniferum*.

40

El silenciamiento génico inducido por virus [VIGS] es conocido en la técnica y explota un mecanismo de defensa antiviral mediado por ARN. Las plantas que están infectadas con un virus no modificado inducen un mecanismo que se dirige específicamente al genoma viral. Sin embargo, los vectores virales que se modifican genéticamente para incluir moléculas de ácido nucleico derivadas de genes de plantas hospedadoras también inducen la inhibición específica de la expresión del vector viral y adicionalmente el ARNm del huésped objetivo. Esto permite silenciar genes genéticamente específicos sin modificación genética del genoma de la planta y es esencialmente una modificación no transgénica.

45

A lo largo de la descripción y las reivindicaciones de esta memoria descriptiva, las palabras "comprender" y "contener" y variaciones de las palabras, por ejemplo "que comprende" y "comprende", significan "que incluyen pero no se limitan a", y no están destinadas (y no) excluye otros restos, aditivos, componentes, enteros o pasos. "Consistente esencialmente" significa tener los enteros esenciales, pero incluyendo enteros que no afectan materialmente a la función de los enteros esenciales.

55

A lo largo de la descripción y las reivindicaciones de esta memoria descriptiva, el singular abarca el plural a menos que el contexto requiera lo contrario.

En particular, cuando se usa el artículo indefinido, debe entenderse que la especificación contempla tanto la pluralidad como la singularidad, a menos que el contexto requiera lo contrario.

60

Las características, enteros, particularidades, compuestos, restos químicos o grupos descritos junto con un aspecto particular, realización o ejemplo de la invención deben entenderse aplicables a cualquier otro aspecto, realización o ejemplo descrito en la presente, a menos que sea incompatible con los mismos.

5

Una realización de la invención se describirá ahora solo a modo de ejemplo y con referencia a las siguientes figuras:
 Figura 1: Identificación de genes exclusivamente presentes en el genoma de una noscapina que produce variedad de amapola, HN1 (alta Noscapina 1). **(A)** Abundancia relativa de los principales alcaloides extraídos de las cápsulas de tres variedades comerciales de amapola, HM1 (Morfina alta 1), HT1 (alta tebaína 1) y HN1. M = morfina, C = codeína, T = tebaína, O = oripavina y N = noscapina. **(B)** Se generaron bibliotecas EST procedentes de tallo y cápsula mediante pirosecuenciación y secuencias contiguas únicas ensambladas como se describe en el material y los métodos. Diez genes (*PSMT1*, *PSMT2*, *PSMT3*, *CYP82X1*, *CYP82X2*, *CYP82Y1*, *CYP719A21*, *PSAT1*, *PSSDR1* y *PSCXE1*) tal como se definen en el texto, se representaron solo en bibliotecas EST de la variedad HN1. La abundancia de EST de otros cinco genes de *P. somniferum* funcionalmente caracterizados (BBE, TNMT, SalR, SalAT y T6DM) muestra que se expresan en las tres variedades y en niveles consistentemente más altos en el tallo en comparación con la cápsula, como también es el caso los genes específicos HN1 como se muestra en el código de color (Fig 1). La PCR en el ADN genómico de las tres variedades reveló que los diez genes específicos de HN1 están ausentes de los genomas de las variedades HM1 y HT1 (Fig. 5);

Figura 2: El análisis de segregación del contenido de noscapina en un mapeo de la población F2 demuestra el requerimiento para el grupo de genes de noscapina. **(A)** Representación del diagrama de caja de los niveles de noscapina como porcentaje de peso seco (DW) en líneas parentales cultivadas en invernadero HN1 y HM1 y la generación F1. **(B)** El campo de cultivo de generación F2 se segregó en tres clases de noscapina cero, baja y alta. F2 GC- y F2 GC+ indican la ausencia y presencia respectivamente del grupo de genes de noscapina. Los números entre paréntesis indican el número de individuos en cada clase;

Figura 3: El conjunto de genes HN1. La estructura y posición de los diez genes específicos de HN1 expresados en los tallos y los tejidos de las cápsulas se muestran por encima de la línea negra central que representa 401 Kb de secuencia genómica. Los exones están representados por cuadros grises llenos e intrones por finas líneas negras. Las flechas indican la orientación de 5' a 3' de cada gen. Marcos de lectura abiertos adicionales representados debajo de la línea negra central son los definidos por la clave. Ninguno de estos ORF está representado en las bibliotecas EST de tallo y cápsula;

Figura 4: Caracterización funcional usando silenciamiento génico inducido por virus de 6 genes del grupo de genes HN1. Los resultados del látex de hoja y las cápsulas son consistentes con cada uno de estos genes que codifican enzimas implicadas en la biosíntesis de noscapina (A-F). Todos los compuestos que se acumulan, aparte de la escoulerina, han sido supuestamente identificados sobre la base de los espectros de masas como se detalla en la Fig. 6 El valor (M) de la masa a la carga (m/z) seguido del tiempo de retención (T) en segundos se muestra para cada compuesto en el eje horizontal. (G) Ruta propuesta para la biosíntesis de la noscapina basada en datos VIGS. Las flechas sólidas muestran los pasos respaldados por los datos VIGS, las flechas punteadas representan pasos adicionales propuestos. Para los intermedios de secoberbina, R1 = H u OH, R2 = H u OH y R3 = CH₂OH o CHO o COOH (Fig. 6). La estructura de la noscapina está numerada de acuerdo con la convención IUPAC;

Figura 5: Los diez genes expresados exclusivamente en la variedad HN1 se encuentran en el genoma de HN1, pero están ausentes de las variedades HT1 y HM1. (A) Amplificación de fragmentos de los diez genes expresados exclusivamente en HN1 usando dos pares de cebadores diferentes. **(B)** Amplificación de fragmentos de genes de las vías de la rama de protoberberina y morfinano que se expresan en las tres variedades. Los cebadores usados se detallan en la Tabla 3; HyperLadder I (Bioline Reagents, London, UK) se usó como patrón de tamaño molecular;

Figura 6. Evidencia de identidades putativas de productos intermedios de experimentos VIGS. Todos los paneles muestran los espectros de masas del ion parental pseudomolecular en el ápice del pico cromatográfico en negro y los espectros de fragmentación de MS2 correspondientes en rojo, a escala de abundancia relativa. Los espectros de MS2 se generaron dirigiendo el ión precursor con un ancho de aislamiento de 3 m/z y usando energía de disociación de aislamiento colisionado ajustada al 35%. Todos los espectros de masas se obtuvieron con una resolución de 7500. El texto impreso encima de los iones de diagnóstico seleccionados indica la masa monoisotópica exacta del ion, la fórmula calculada dentro de los límites C =1:100, O = 0:200, N =0:3 y H =1:200, y el número / número total de fórmulas devueltas dentro de una ventana de error de 5 ppm. Los fragmentos se reconciliaron con los fragmentos teóricos generados por la presentación de estructuras padre candidatas al software Mass Frontier (versión 5.01.2; HighChem, Bratislava, Eslovaquia). Las estructuras de los padres candidatos se derivaron de las búsquedas de PubChem y de la revisión exhaustiva de Papaver spp. alcaloides (Sariyar (2002) Pure Appl. Chem. 74, 557-574). (A) Tetrahidrocolumbamina; este compuesto se caracterizó a partir de un pico de elución a 174s de CYP719A21 silenciado con VIGS. Ocho de cada diez fragmentos de MS2 observados se calcularon como factibles por Mass Frontier; solo se muestran los dos fragmentos de diagnóstico más abundantes. (B) intermedio de Secoberbine 1 (C₂₁H₂₅NO₆); este compuesto se caracterizó a partir de un pico que eluía a 147s de CYP82X2 silenciado por VIGS. Si R1=OH, R2=H, y R3=CH₂OH, entonces este compuesto es narcotolinol que es

consistente con ambos fragmentos anotados. Otro ajuste de la fórmula candidata sería el narcotindiol desmetoxilado (R1=H, R2=OH, R3=CH₂OH); sin embargo, esta estructura no formaría el fragmento observado en 206.0816.(C) Secoberbina intermedio 2 (C₂₁H₂₃NO₆); este compuesto se caracterizó a partir de un pico que eluía a 103s de CYP82X2 silenciado con VIGS. Si R1 = OH, R2 = H, y R3 = CHO, entonces este compuesto sería un derivado desmetilado de macrantaldehído. (D) Papaveroxina; este compuesto se caracterizó a partir de un pico de elución a 214s de PSCXE1 silenciado con VIGS. El fragmento 398.1600 observado es consistente con la desacetilación. (E) Narcotinehemiacetal; este compuesto se caracterizó a partir de un pico de elución a 121s de PSSDR1 silenciado con VIGS. (F) Narcotolina (4'-desmetilnoscapiña); este compuesto se caracterizó a partir de un pico de elución a 208s de PSMT2 silenciado con VIGS. Otras posibilidades isobáricas fueron 6- o 7-desmetilnoscapiña. Sin embargo, el fragmento 206.0816 observado es consistente con una posición 4' hidroxilada. Se podrían descontar estructuras alternativas comparando los espectros de fragmentación candidatos con los de la 7-desmetilnoscapiña sintética, que se eluye en un tiempo de retención diferente y carecía del fragmento característico 206.0816;

La Tabla 1 ilustra el % de identidad de CYP82Y1, PSCXE1, PSDFR1 y PSAT1 (SEQ ID 17-20) con sus respectivos homólogos caracterizados funcionalmente más próximos. Los números de acceso proporcionados provienen de las bases de datos GenBank, Swiss-Prot o PDB;

Tabla 2: Genotipificación de familias F3 derivadas de dos clases fenotípicas F2: noscapina baja y noscapina alta . Las relaciones de segregación observadas versus esperadas respaldan fuertemente la hipótesis de que los individuos en la clase baja F2 de la noscapina son heterocigotos para el grupo de genes HN1 y los individuos en la clase alta de la noscapina son homocigóticos;

Tabla 3: Secuencias de cebadores e información asociada.

25

Tabla 1

Proteína	% De identidad	Número de acceso	Anotación
CYP82Y1	54		CYP82X1 de <i>Papaver somniferum</i>
	48		CYP82X2 de <i>Papaver somniferum</i>
	39	ABM46919.1	CYP82E3, nicotina desmetilasa de <i>Nicotiana tomentosiformis</i>
PSCXE1	45	2O7R_A	AeCXE1, Carboxyl esterase de <i>Actinidia eriantha</i>
PSSDR1	46	AAB41550.1	Vestitone reductasa de <i>Medicago sativa</i>
	45	ABQ97018.1	Dihidroflavonol 4-reductasa de <i>Saussurea medusa</i>
PSAT1	66	Q94FT4.1	Salutaridinol 7-O-acetiltransferasa de <i>Papaver somniferum</i>

Tabla 2

La clase de noscapina y el genotipo resultado de individuo F2	Familia de semillas F3 (obtenida por autopolinización de individuos F2)	Número de individuos F3 genotipificados	Segregación observada del grupo de genes en la progenie F3		Segregación esperada en F3 si la clase de noscapina baja F2 es heterocigota y la clase de noscapina alta es homocigótica		Chi-cuadrado	
			GC+	GC-	GC+	GC-	X-cuadrado	valor de p
noscapina baja /GC+	S-111809	28	18	10	21	7	1,714	0,190
noscapina baja /GC+	S-111835	26	18	8	19,5	6,5	0,462	0,497
noscapina alta /GC-	S-111714	28	28		28			
noscapina alta /GC-	S-111854	54	54		54			

Tabla 3

Gen	Secuencias de cebadores (5'-to 3'-)		Nota:	Aplicación
	Directa	Inversa		
PSMT1	GATTCCCGATTACTCCTGATG	AACACAAAATACGATTACTTA CTTTGTCC	par cebador 1	
PSMT1	TGCCTCATGTTATTTCTGTTGCC	GCATGAAATGGATGTAGTTAT CTTGG	par cebador 2	
PSMT2	ATTGATGTCGGTGGTGGTCACG	ATCCCGTTCAAGTAAACATG CGG	par cebador 1	
PSMT2	GCAACTGTTTCATTAACAGGCACA TCC	CAGTAAATTCACACATTCCGT ATCTTCCC	par cebador 2	
PSMT3	GCTTCAGCATTGGTTAACGAGTG C	GAGGGTAAGCCTCAATAACA GACTGG	par cebador 1	
PSMT3	AGACCGTTTGACCGAATTCTGC	TCGTTCCATTTCGTGAAGAATG C	par cebador 2	
CYP82 X1	GAACCATTAAACACTTGAGTCATG C	TGCAATTGAATTTAGCTCATC TCC	par cebador 1	
CYP82 X1	TTGATGAACGACAAGGAACCG	ATTCATGATTGTGACCTTTGT AATCC	par cebador 2	
CYP82 X2	ATGTGGAACGCGTAAGCAAGTG G	ACGATTCTGTGTCATCATCATTT TCGC	par cebador 1	
CYP82 X2	CAACCTCAATCTAGCTAGAGTCG	CCCAAGATTTTCATATCCTTT ACAA	par cebador 2	
CYP82 Y1	CAATAATTGAGTAATTTAGTTCA TTCATGG	GCTCCGTAAGTGCTCCTGTG	par cebador 1	Cebador es para
CYP82 Y1	GAATTGTGGTAAAAAATTAGATGC AG	CCCTTCACATCTACCATCCCT T	par cebador 2	amplifica ción de
CYP71 9A21	CAAAGAGTCAATCTGACTCAAGCT AGC	CGAGTGCCCATGCAGTGG	par cebador 1	fragment os de
CYP71 9A21	TCAAACCCTGCTACTAACACTTAC TTGC	CACTCCATCAGACACACAAG ACC	par cebador 2	ADN genómic o de HM1,
PSAT1	TTTTATCGACCTTGAGGAACAATT AGG	AAATGGCAGTTCCACCGC	par cebador 1	HT1 y HN1 como se muestra 5
PSAT1	GACTTCATGATGAAATCAGATGCA C	CACTGCTGACTTCCATATCAA AGC	par cebador 2	en la Figura
PSCXE 1	ATGCTGTTGATGCTTTAAACTGGG	AGCTGAATTTGTGCATCAATA AGTGG	par cebador 1	

<i>PSCXE</i> <i>1</i>	AATAAAATCCAACAATGGCAGAT CC	ACTGGCATGATATGCAACATT AGC	par cebador 2	
<i>PSSDR</i> <i>1</i>	GGAAGATGTGAGCCACCTTAAAG C	GATACACTGGGAGGAGGATG GG	par cebador 1	
<i>PSSDR</i> <i>1</i>	GAGAGTAACCACATCTTTGTTGTC GG	CGGCAAAATTCATTCTTGAG C	par cebador 2	
<i>BBE</i>	GTTTACTCCCACGTGCATC	CATTCTCGTCTAATTCATCT GC		
<i>TNMT</i>	GTTTACTCCCACGTGCATC	GCTTCACTACTTCTTCTTGAA AAG		
<i>SalR</i>	AAACAATGCTGGGGTTGC	CATTATAATTTCCAATGCCGT AGTTC		
<i>SalAT</i>	TAAGAGAGGGAGACCACGAG	CATTGTTGTTGTTGCTGGTA AG		
<i>T6OD</i> <i>M</i>	CTTATGAAGCTAGGTAATGGTATG GA	CATCCTCATTGCTTGTGTCC		
<i>PSMT1</i>	CTCTAAATGCCAAACGCG		Cebador de secuenci ación	Cebador es usados como cebador es de secuenci ación para obtener secuenci a de ADN genómic o de HN1
<i>PSMT1</i>	GACCCTTTGGGACTTCCTCG		Cebador de secuenci ación	
<i>PSMT1</i>	CGTGTTGTTTGGTCCCTCG		Cebador de secuenci ación	
<i>PSMT1</i>	TGCCTCATGTTATTTCTGTTGCC		Cebador de secuenci ación	
<i>PSMT1</i>	GATTCCCGATTACTCCTGATGG		Cebador de secuenci ación	
<i>PSMT1</i>	AACACAAAATACGATTACTTACTT TTGTCC		Cebador de secuenci ación	
<i>PSMT1</i>	TGCCTCATGTTATTTCTGTTGCC		Cebador de secuenci ación	
<i>PSMT1</i>	GCATGAAATGGATGTAGTTATCTT GG		Cebador de secuenci ación	
<i>PSMT1</i>	AAATCGTTCGCTCTTACCGC		Cebador de secuenci ación	
<i>PSMT1</i>	CACACCAAATTGATCATTGTC		Cebador de secuenci ación	

PSMT2	ATTGTTGATATTGAATCAGAACT TTC		Cebador de secuenci ación	
PSMT2	TCAATACCAGTACTGTTAGTTTCC G		Cebador de secuenci ación	
PSMT2	GCAACTGTTTCATTAACAGGCACA TCC		Cebador de secuenci ación	
PSMT2	ATTGATGTCGGTGGTGGTCACG		Cebador de secuenci ación	
PSMT2	GCACACTGTCTTTTCTTCCACC		Cebador de secuenci ación	
PSMT2	ACCGGAATGAGAATGCATAAAGT AAAGG		Cebador de secuenci ación	
PSMT2	CCAATACCCAATCAATTAAACTC		Cebador de secuenci ación	
PSMT2	CAGTAAATTCACACATTCCGTATC TTCCC		Cebador de secuenci ación	
PSMT3	ATTGTATAGCCAAAGTTGCAGGTA GGG		Cebador de secuenci ación	
PSMT3	AGACCGTTTGTACCGAATTCTGC		Cebador de secuenci ación	
PSMT3	GCAGTGAAAGCCATATCCAAAGC		Cebador de secuenci ación	
PSMT3	AACCGTCCCCAAGATGATTCC		Cebador de secuenci ación	
PSMT3	TCGTTCCATTCGTGAAGAATGC		Cebador de secuenci ación	
PSMT3	GAGGGTAAGCCTCAATAACAGAC TGG		Cebador de secuenci ación	
CYP82 X1	GAACCATTAAACACTTGAGTCATG C		Cebador de secuenci ación	

CYP82 X1	TTGATGAACGACAAGGAACCG		Cebador de secuenci ación	
CYP82 X1	TCGACAGCGCTTACGAACG		Cebador de secuenci ación	
CYP82 X1	CAATTATCAAAGAATCAATGC		Cebador de secuenci ación	
CYP82 X1	TGCAATTGAATTTAGCTCATCT		Cebador de secuenci ación	
CYP82 X1	ATTCATGATTGTGACCTTTGTAAT CC		Cebador de secuenci ación	
CYP82 X1	GACAGAGGGCCCAAGTTAAGG		Cebador de secuenci ación	
CYP82 X1	AGCAAACCATTCGTCCATCC		Cebador de secuenci ación	
CYP82 X1	TACGACAGGTTGCTAGCTTGG		Cebador de secuenci ación	
CYP82 X2	AATAATGGATCAGTCACGGCTTC C		Cebador de secuenci ación	
CYP82 X2	AATCCATCAGATTTTCAACCAGAG AGG		Cebador de secuenci ación	
CYP82 X2	TGTCAGCCAACCATTCGTCCATC CTAAC		Cebador de secuenci ación	
CYP82 X2	GGCTTCCCGGAGATGACCCAGAT TTTAT		Cebador de secuenci ación	
CYP82 X2	TTGTTATTTTCATGACTATTACCAC CAGCTTCCTCTTA		Cebador de secuenci ación	
CYP82 X2	AGTGGAGGAGGCACAAAAGTTAG GATGGAC		Cebador de secuenci ación	
CYP82 X2	CCATGTCTGATAAATACGGGTCG GTGTTC		Cebador de secuenci ación	

CYP82 X2	TTGTTGATAAGGACGACTAAGAAT AAGCAGAAAGATA		Cebador de secuenci ación	
CYP82 X2	ACGATTCTGTGCATCATCATTTTCG C		Cebador de secuenci ación	
CYP82 X2	AGTCGTGTATCGTTCGCTTAATGC		Cebador de secuenci ación	
CYP82 X2	CATGCCTATCTATTTCCCTCCCTTG CCCTC		Cebador de secuenci ación	
CYP82 X2	TGTCAGCCAACCATTTCGTCCATC CTAAC		Cebador de secuenci ación	
CYP82 X2	TGTTGATCACGTTGTCTCTTTTT GCCATAA		Cebador de secuenci ación	
CYP82 X2	TAACAATAAAAAGTACTGATAATGG TGGTCGAAGGAGAA		Cebador de secuenci ación	
CYP82 Y1	TATTGATGTGGACCAGTACC		Cebador de secuenci ación	
CYP82 Y1	TGTAACCTTTGGTCACATGG		Cebador de secuenci ación	
CYP82 Y1	CGCGTACTTGACATTTAACG		Cebador de secuenci ación	
CYP82 Y1	GGATCATCGCCAAAAGAAAC		Cebador de secuenci ación	
CYP71 9A21	CAAAGAGTCAATCTGACTCAAGCT AGC		Cebador de secuenci ación	
CYP71 9A21	TGAAATGCCTGAGATCACTAAAAT CG		Cebador de secuenci ación	
CYP71 9A21	TCAAACCCTGCTACTAACACTTAC TTGC		Cebador de secuenci ación	
CYP71 9A21	TGTAAAGACACTTCATTGATGGGC		Cebador de secuenci ación	

CYP71 9A21	TTCGATTTGTGTAAACATTAATGA TATTTGG		Cebador de secuenci ación	
CYP71 9A21	GAGATGATCAAGTGGTTTAACCAT TCC		Cebador de secuenci ación	
CYP71 9A21	CGAGTGCCCATGCAGTGG		Cebador de secuenci ación	
PSCXE 1	AATAAAAATCCAACAATGGCAGAT CC		Cebador de secuenci ación	
PSCXE 1	ATGCTGTTGATGCTTTAAACTGGG		Cebador de secuenci ación	
PSCXE 1	GGTTAATCGAGAGATGTTTTGTG GTAGG		Cebador de secuenci ación	
PSCXE 1	CGATGACACAGAGCAAGAACGAC		Cebador de secuenci ación	
PSCXE 1	CGCGGGTATATGTGTAGCAATCG		Cebador de secuenci ación	
PSCXE 1	CGGCAACGCCAGTTCCC		Cebador de secuenci ación	
PSSDR 1	CTAACAGGCAAACAATAACAGGTT GC		Cebador de secuenci ación	
PSSDR 1	GGAAGATGTGAGCCACCTTAAAG C		Cebador de secuenci ación	
PSSDR 1	AAAGGTACTGACAGAAAGAGCTT GCC		Cebador de secuenci ación	
PSSDR 1	AGATACACTGGGAGGAGGATGGG		Cebador de secuenci ación	
PSSDR 1	CGGCAAAATTCATTCTTGAGC		Cebador de secuenci ación	
PSSDR 1	AACATATAGCCAAAGGACTCTTCG		Cebador de secuenci ación	

PSAT1	AGGATACACAATGACCCAAC		Cebador de secuenciación	
PSAT1	TTTTATCGACCTTGAGGAACAATTAGG		Cebador de secuenciación	
PSAT1	TGTTCACTAGGTGGAAAGAG		Cebador de secuenciación	
PSAT1	AGTACAATACCGAGAAATCCGACAAG		Cebador de secuenciación	
PSAT1	GCTCAATTAATGGAACAGTAGTTACCC		Cebador de secuenciación	
			condiciones específicas de PCR:	Pares de cebadores para el genotipado del mapeo de la población F2
PsMT1	VIC®-CGTGTTGTTTGGTCCCTCG	GCACACTGTCTTTTCTTCCACC	30 cilindros, 20s de extensión a 72°	
PsMT2	VIC®-GCAACTGTTTCATTAACAGGCACATCC	GCCAGCGCTAATACAAGGATGTGG	36 cilindros, 50s de extensión a 72°	
PsMT3	VIC®-GCAGTGAAAGCCATATCCAAAGC	TCGTTCCATTTCGTGAAGAATGC	30 cilindros, 30s de extensión a 72°	
CYP82 X1	VIC®-GCTACGAAAGATAATGGTG CAGC	AGCAAACCATTCGTCCATCC	30 cilindros, 30s de extensión a 72°	
CYP82 X2	VIC®-ATGTGGAAAACGGTAAGCAAGTGG	ACGATTCTGTCATCATCATTTTCGC	30 cilindros, 50s de extensión a 72°	
CYP71 9A21	VIC®-TGAAATGCCTGAGATCACTAAATCG	GGAATGGTTAAACCACTTGATCATCTC	30 cilindros, 30s de extensión a 72°	
PSCXE 1	VIC®-ATGCCAGTTTAAGAGCAATAGAAATGG	GGGAACTGGCGTTGCCG	30 cilindros, 30s de extensión a 72°	

<i>PSSDR 1</i>	VIC®-GAAGATGTGAGCCACCTTAAAGC	GCTCAAGGAATGAATTTTGCCG	30 cilindros, 30s de extensión a 72°	
<i>CYP82 X2</i>	GTTGACGCAGGAAGCTTTTGC	GGAACATAAGATTTAACTCCGCTCTC	Par de cebadores para la amplificación por PCR de la sonda de cribado de la biblioteca BAC	
<i>PSMT1</i>	aaactcgagaagctTGGTCATAATCATCAATCAG	aaaggtaccCATGTACTACTACATCATCTCC		Pares de cebadores para la amplificación y clonación de fragmentos seleccionados para VIGS
<i>PSMT2</i>	aaactcgagaagctGTGTAACCTAAGCCAGCGC	aaaggtaccACTTGAATATATCACCGC		
<i>CYP82 X1</i>	aaaggtaccTTTGAGTAATGGTGAAAGA	aaaggtaccAACATCTACTCTCGAGGATTG		
<i>CYP82 X2</i>	aaactcgagaagctTAGGAGGGTATGTCCGGC	aaaggtaccTTAACTCCGCCTCGGCTCC		
<i>CYP82 Y1</i>	aaaggtaccTTCAGTTCATTCATGGCG	aaaggtaccGTTTCATAGTAAATAATAACAGGCG		
<i>CYP71 9A21</i>	aaactcgagaagctATGATCATGAGTAACCTTATGGA	aaaggtaccCCAACAGGCCATTCGTTG		
<i>PSCXE 1</i>	aaaggtaccTGGCAGATCCTTATGAATTCC	aaaggtaccTTATGATAGGAAGCAGCTTATTC		
<i>PSSDR 1</i>	aaaggtaccGAAATTGACGAGACAATATGG	aaaggtaccCATTCAAAAACGAATATGTGTGC		
<i>PSAT1</i>	aaaggtaccCCTAAGAGAGATCCTCCAATG	aaaggtaccAATACAAGTATGAATAACAAGAGAATAA		
<i>PSPDS</i>	GAGGTGTTTCATTGCCATGTCAA	GTTTCGCAAGCTCCTGCATAGT		

Materiales y métodos

- Material vegetal** Tres variedades de amapola GSK Australia que acumulan principalmente noscapina (Noscapina Alta , HN1), morfina (Morfina Alta, HM1) o tebaína (Tebaína Alta HT1), se cultivaron en invernadero en Maxi (Flota) Rootainers™ (Haxnicks, Mere) , Reino Unido) 16 horas al día en las instalaciones de horticultura de la Universidad de York. El sustrato de crecimiento consistió en 4 partes John Innes Nº2, 1 parte Perlita y 2 partes Vermiculita. El mapeo de la población HM1 xHN1 F2 se cultivó en el sitio de prueba de campo GlaxoSmithKline Australia, Latrobe, Tasmania desde septiembre de 2009 hasta febrero de 2010.
- 10 **Cruzamiento y autofecundación** Se llevaron a cabo cruces entre individuos HN1y HM1 para generar semilla híbrida F1. En la etapa de gancho del desarrollo de la inflorescencia, los estambres inmaduros se eliminaron de los botones florales seleccionados HN1. Los estigmas de HN1 se fecundaron con polen de flores HM1 en desarrollo sincrónico poco después del inicio de la antesis. Para evitar que el polen contaminante llegue a los estigmas receptivos, las flores emasculadas se cubrieron con una bolsa de muselina durante cuatro días después de la polinización. Las generaciones F1 y F2 se autopolinizaron para producir semillas F2 y F3, respectivamente. La autopolinización se aseguró cubriendo las flores poco antes del inicio de la antesis con una bolsa de muselina.
- 20 **Aislamiento de ARN y síntesis de ADNc** Los tallos superiores (definidos como la sección de 2 cm inmediatamente debajo de la cápsula) y las cápsulas enteras se recogieron en dos etapas de desarrollo representadas por 1-3 días y 4-6 días, después de la caída del pétalo. Se usaron cinco plantas por etapa de desarrollo y cultivar. El material se molió hasta obtener un polvo fino en nitrógeno líquido utilizando un mortero y una mano de mortero. El ARN se aisló del polvo usando un método de extracción basado en CTAB (Chang y col (1993) Plant Mol. Biol. Rep. 11, 113-116) con pequeñas modificaciones: (i) se realizaron tres extracciones secuenciales con cloroformo: alcohol isoamílico (24:1) y (ii) el ARN se precipitó durante la noche con cloruro de litio a 4°C. Después de la cuantificación espectrofotométrica, se juntaron cantidades iguales de ARN de cinco plantas por cultivar, fase de desarrollo y órgano. Las muestras agrupadas se sometieron a una etapa de purificación final usando un RNeasy Plus MicroKit (Qiagen, Crawley, Reino Unido). El ARN se eluyó típicamente en 30-100 µl de agua. El ADNc se preparó con el kit de construcción de la Biblioteca SMART cDNA (Clontech, Saint-Germainen-Laye, Francia) de acuerdo con las instrucciones del fabricante, pero utilizando la transcriptasa inversa SuperScript II (Invitrogen, Paisley, Reino Unido) para la síntesis de la primera cadena. El cebador CDSIII /3'PCR se modificó para: 5' ATT CTA GAT CCR ACA TGT TTT TTT TTT TTT TTT TVN 3' donde R = A o G, V = A, C o G; N = A/T o C/G. Tras la digestión con Mmel (New England Biolabs, Hitchin, Reino Unido), el ADNc se purificó finalmente usando un kit de purificación QIAquick PCR (Qiagen, Crawley, Reino Unido).
- 35 **Pirosecuenciación de ADNc:** La pirosecuenciación se realizó en la plataforma de secuenciación Roche 454 GS-FLX (Branford, CT) usando ADNc preparado a partir de las siguientes cuatro muestras de cada una de las tres variedades:
- 40 i. tallo superior, 1-3 días después de la caída del pétalo
ii. tallo superior, 4-6 días después de la caída del pétalo
iii. cápsula, 1-3 días después de la caída del pétalo
iv. cápsula, 4 -6 días después de la caída del pétalo
- 45 **Análisis de secuencia bruta, ensamblaje de secuencia contigua y anotación** Los conjuntos de datos de secuencia en bruto se derivaron de secuenciación etiquetada paralela en la plataforma de secuenciación 454 (Meyer y col (2008) Nature Prot. 3, 267-78). Las secuencias de cebador y etiqueta se eliminaron primero de todas las lecturas de secuencia individuales. El ensamblaje de secuencia contigua solo se realizó en secuencias de más de 40 nucleótidos y que contienen menos del 3% de residuos desconocidos (N). Esas secuencias de Secuencia de Secuencia Expresada (EST) de alta calidad se ensamblaron en secuencias contiguas únicas con el Programa de Conjunto de Secuencia CAP3 (Huang y Madan (1999) Genome Res. 9, 868-877), y los contigs resultantes se anotaron localmente usando el programa BLAST2 (Altschul y col. (1997) Nucleic Acids Res. 25, 3389-3402) contra la base de datos de péptidos no redundante descargada del NCBI.
- 55 **Perfiles de expresión:** Se contó el número de EST asociados con una secuencia consenso específica que representa cada uno de los genes candidatos detallados en la Figura 1 para cada biblioteca EST. Los números de EST se normalizaron sobre la base del número total de ESTs obtenidos por biblioteca. Para cada variedad, los recuentos de EST se combinaron para las dos etapas de desarrollo de tallos y cápsulas. Las diferencias en los niveles de expresión de genes candidatos entre órganos y variedades se visualizaron como un mapa de calor con Microsoft Excel.
- 60

Preparación de ADN genómico a partir de plantas cultivadas en invernadero

Para amplificar y obtener secuencias genómicas de los genes candidatos, se recogieron 30-50 mgs de material de hoja de plántulas maduras cultivadas en invernadero de 4 a 6 semanas de edad de cada una de las tres variedades. El ADN genómico se extrajo utilizando el kit BioSprint 96 Plant en la estación de trabajo BioSprint 96 (Qiagen, Crawley, Reino Unido) de acuerdo con el protocolo del fabricante. El ADN extraído se cuantificó usando Hoescht 33258 y se normalizó a 10 ng/ul.

10 Amplificación y secuenciación de genes candidatos de ADN genómico

Los cebadores para la amplificación y la secuenciación de Sanger de los genes candidatos a partir de ADN genómico se basaron en las respectivas secuencias contiguas reunidas a partir de las EST o en las secuencias de BAC. Las secuencias de cebadores se muestran en la Tabla 3. Las amplificaciones por PCR se realizaron en conjuntos de ADN genómico que comprenden ADN de cuatro individuos. La amplificación se llevó a cabo típicamente en 10 ng de ADN genómico en 1 × Phusion High Fidelity Buffer complementado con 200 nM directo e inverso cebadores, 0,2 mM dNTPs, 0,02 unidades/ul Phusion Hot Start DNA Polymerase (Finnzymes, Vantaa, Finland). Se usaron condiciones de PCR estándar durante todo el tiempo con temperatura de hibridación y tiempos dependientes de los cebadores y el equipo de PCR.

20

Extracción de ADN del mapeo de la población F2 cultivada en el campo

Se recogieron 40-50 mg de tejido foliar de plantas F2 en la etapa de crecimiento de 'pequeña roseta' (~10 hojas presentadas en cada planta) en tubos de muestra de 1,2 ml. Se añadió un cordón de carburo de tungsteno de 3 mm a cada tubo y las muestras se mantuvieron a -80 ° C durante un mínimo de dos horas antes de la liofilización durante 18 horas. Después de la liofilización, las muestras se pulverizaron mediante molienda de perlas (Model TissueLyser, Qiagen, Hilden, Alemania) a 30 Hz durante dos ciclos de 60 s separados por inversión de placa. La extracción de ADN se realizó con el kit Nucleospin Plant II (Macherey-Nagel, Düren, Alemania) utilizando el tampón Set PL2 / 3 suministrado siguiendo el protocolo del fabricante para extracción centrífuga. El ADN fue cuantificado por espectroscopia UV.

Genotipado del mapeo de la población HN1xHM1 F2 para la presencia o ausencia de los genes candidatos específicos de HN1

Las plantas del mapeo de la población F2 se genotiparon para la presencia o ausencia de ocho genes candidatos. Los pares de cebadores génicos (Tabla 3) se diseñaron con etiquetas fluorescentes (marcadas con 5'-VIC®) para su uso en el aparato capilar ABI 3730xl (Applied Biosystems, Foster City, CA). Las amplificaciones de PCR se llevaron a cabo típicamente en 10 ng de ADN genómico en 1x tampón GoTaq suplementado con 1 mM MgCl₂, cebador directo e inverso 500 nM, 0,125 mM dNTPs, 0,1 U GoTaq (Promega, Southampton, Reino Unido). Las condiciones de amplificación fueron: 1 min 94°C, 30-36 ciclos de desnaturalización de 30 s a 94°C, 30s de recocido a 62°C y 20-50 s de extensión a 72°C, seguido de una extensión final de 5 min a 72°C. El número de ciclos y los tiempos de extensión dependían del gen candidato (Tabla 3). Los productos de amplificación se diluyeron 1:20 en H₂O y se fraccionaron en un secuenciador capilar ABI 3730xl (Applied Biosystems, Foster City, CA). Los datos se calificaron utilizando el software GeneMarker™ (Softgenetics, State College, PA).

Análisis de paja de amapola de plantas F2 cultivadas en el campo

Se recogieron las cápsulas de amapola a mano de la población de mapeo una vez que las cápsulas se habían secado hasta aproximadamente 10% de humedad en la planta. Después de separar manualmente la semilla de la cápsula, las muestras de paja de la cápsula (Poppy Straw) se molieron en un molino de bolas (Modelo MM04, Retsch, Haan, Alemania) en un polvo fino. Las muestras de paja de adormidera molida se pesaron con precisión a $2 \pm 0,003$ g y se extrajeron en 50 ml de una solución de ácido acético al 10%. La suspensión de extracción se agitó en un agitador orbital a 200 rpm durante un mínimo de 10 minutos, luego se filtró para proporcionar un filtrado claro. El filtrado final se pasó a través de un filtro de 0,22 µm antes del análisis. La pérdida en el secado (LOD) de la paja se determinó mediante secado en un horno a 105°C durante 3 horas.

Todas las soluciones se analizaron usando un sistema Waters Acquity UPLC (Waters Ltd., Elstree, Reino Unido) equipado con una columna Waters Acquity BEH C18, 2.1 mm × 100 mm con un empaquetamiento de 1.7 micras. La fase móvil usó un perfil de gradiente con eluyente A que consiste en 10 mM de bicarbonato de amonio de pH

10.2 y eluyente B metanol. Las condiciones de gradiente de fase móvil utilizadas se muestran en la siguiente tabla con un gradiente lineal. El caudal fue de 0,5 ml por minuto y la columna se mantuvo a 60°C. El volumen de inyección fue de 2 µl y los picos eluidos se ionizaron en modo APCI positivo y se detectaron con una precisión de masa de 5 ppm utilizando un Thermo LTQ-Orbitrap. Las pruebas fueron controladas por el software Thermo

5 Xcalibur (Thermo Fisher Scientific Inc., Hemel Hempstead, Reino Unido).

- Programa de flujo de gradiente:

TIEMPO (minutos)	% De eluyente A	% De eluyente B	Flujo (ml / min)
0,0	98,	2,0	0,50
0,2	98,0	2,0	0,50
0,5	60,0	40	0,50
4,0	20,0	80,0	0,50
4,5	20,0	80,0	0,50

Se recogieron espectros de masas en el intervalo de 150-900 m/z a una configuración de resolución de 7500.

- 10 Todos los análisis de datos se llevaron a cabo en el lenguaje de programación R en un entorno Linux de 64 bits (R 2.11). La selección de pico se realizó usando el paquete Bioconductor, XCMS (Smith y col (2006) Anal. Chem. 78, 779-787), empleando el algoritmo centWave (Tautenhahn y col (2008) BMC Bioinformatics 9, 504). La redundancia en las listas de picos se redujo utilizando el paquete CAMERA (Kuhl y col (2012) Anal. Chem. 84, 283-289). Los alcaloides se identificaron comparando la masa exacta y los valores del tiempo de retención con
- 15 los estándares y se cuantificaron por sus áreas de iones pseudomoleculares usando escrituras R personalizadas.

Construcción de la biblioteca del Cromosoma Artificial Bacteriano (BAC)

- La biblioteca HN1 BAC se construyó a partir de ADN genómico de alto peso molecular (HMW) procesado en
- 20 Amplicon Express, Inc. (Pullman, WA) a partir de plántulas de cuatro semanas usando el método descrito (Tao y col (2002) Theor. Appl. Genet. 105, 1058-1066). El ADN de HMW se digirió parcialmente con la enzima de restricción HindIII y el tamaño seleccionado antes de la ligación de fragmentos en el vector pCC1BAC (Epicenter Biotechnologies, Madison, WI) y la transformación de células de *E. coli* DH10B, que luego se sembraron en Luria-Bertani (LB) agar con cloranfenicol, X-gal e IPTG en concentraciones apropiadas. Los clones se recogieron
- 25 de forma robotizada con un Genetix QPIX (Molecular Devices, Sunnyvale, CA) en 240 placas de 384 pocillos que contenían medios de congelación LB. Las placas se incubaron durante 16 horas, se replicaron y luego se congelaron a -80°C. La copia replicada se usó como una placa fuente para filtros de nylon que se fabricaron y usaron para el cribado usando el kit de síntesis de sonda PCR DIG (Roche Applied Science, Indianapolis, IN). Para estimar los tamaños de inserto, se digirieron alícuotas de ADN de 10 BAC minipreps con 5U de enzima NotI
- 30 durante 3 horas a 37°C. Los productos de digestión se separaron mediante electroforesis en gel de campo pulsado (sistema CHEF-DRIII, Bio-Rad, Hercules, CA) en un gel de agarosa al 1% en TBE. Los tamaños de insertos se compararon con los de Lambda Ladder MidRange I PFG Marker (New England Biolabs, Ipswich, MA). La electroforesis se llevó a cabo durante 18 horas a 14°C con un tiempo de conmutación inicial de 5 s, un tiempo de conmutación final de 15 s, en un gradiente de voltaje de 6 V/cm. El tamaño promedio de clonación de BAC
- 35 para la biblioteca fue de 150 Kb.

Construcción y cribado del filtro

- El diseño del filtro y el cribado se llevaron a cabo en Amplicon Express, Inc. (Pullman, WA). Se prepararon platos
- 40 de bioensayo que contenían medio de placa de agar LB y 12,5 µg/ml de cloranfenicol. Se aplicó una membrana Amersham Hybond-N⁺ de nailon cargada positivamente (GE Healthcare Bio-Sciences, Piscataway, NJ) a la superficie del medio y se usó GeneMachines G3 (Genomics Solutions, Bath, RU) para tener una red robótica de 18,432 clones por duplicado en filtros. Los filtros se incubaron a 37 ° C durante 12 a 14 horas. Los filtros fueron procesados usando el método de lisis de filtro de nylon (Sambrook y col., Molecular Cloning: Un manual de
- 45 laboratorio (Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 2001, ed.3, vol.1, cap. 1) con ligeras modificaciones. Después del procesamiento, el ADN se ligó a los filtros de membrana de hibridación de acuerdo con el manual Hybond N+ mediante cocción a 80°C durante 2 horas. Para explorar la biblioteca, se generó una sonda marcada con digoxigenina (DIG) de 643 pb representando la posición 2161-2803 en la secuencia genómica de CYP82X2 (SEC ID NO 6) a partir de 1,5 ng de ADN_g por reacción de PCR usando los cebadores
- 50 que se muestran en la Tabla 3 y la PCR Kit de síntesis DIG (Roche Applied Science, Indianapolis, IN) según las instrucciones del fabricante. Se amplificó una sonda no marcada, se diluyó y se filtró a cada filtro en las siguientes diluciones de 2 ng, 1 ng, 0,1 ng y 0,0 ng como control positivo. Los controles se cocieron a 80°C durante 30 min. Después de un lavado prehibridación de 30 min en solución DIG EasyHyb a 45°C aproximadamente 0,5 µl de producto de desnaturalizado DIG etiquetado PCR se añadió por ml de solución de

hibridación con los filtros de nylon y se incubaron con agitación suave durante la noche a 45°C. Los filtros de nylon se lavaron 2x en un citrato de sodio standar (SSC), 0,1% tampón de dodecilsulfato sódico (SDS) a temperatura ambiente durante 5 minutos cada uno, y dos veces con un 0.5× SSC, tampón de SDS al 0,1% a 65°C durante 15 minutos. La sonda hibridada se detectó usando una solución madre de NBT/BCIP según las instrucciones del fabricante (Roche Applied Science, Indianapolis, IN) y se encontró que se hibridaba con seis clones de BAC.

Secuenciación de BAC y ensamblaje de secuencia automatizado: Los seis clones de BAC positivos de la biblioteca de BAC se secuenciaron en Amplicon Express, Inc. (Pullman, WA) mediante Secuenciación de Genoma Enfocado (FGS) con una profundidad promedio de cobertura de 100x. FGS es un método de secuenciación de última generación (NGS) desarrollado en Amplicon Express que permite un ensamblaje de muy alta calidad de datos de secuencia de clonación BAC utilizando la plataforma Illumina HiSeq (Illumina, Inc, San Diego, CA). El proceso de FGS patentado crea bibliotecas marcadas con NGS de clones de BAC y genera una secuencia consenso de los clones de BAC con todas las lecturas ensambladas a 80 pb de superposición y 98% de identidad. Las secuencias contiguas con huecos se ordenaron y orientaron manualmente en base a secuencias de mate pair de cuatro bibliotecas de tamaño de inserción 5000, 2000, 500 y 170 bp. Los clones de BAC superpuestos, PS_BAC193L09, PS_BAC179L19, PS_BAC150A23 y PS_BAC164F07, que juntos codificaron los 10 genes del grupo HN1, se seleccionaron para un ensamblaje de secuencia adicional. Donde fue posible, las lagunas y las regiones ambiguas en ambos clones de BAC se cubrieron con walking de cromosomas con la secuenciación tradicional de Sanger para validar el ensamblaje. La combinación de las cuatro secuencias de BAC superpuestas dio un único consenso continuo de secuencia de ensamblaje de 401 Kb. Las secuencias de los 10 genes del clúster HN1 se determinaron de forma independiente mediante la secuenciación de Sanger y el acuerdo del 100% de las secuencias génicas determinadas por Sanger con el ensamblaje de FGS proporcionó control de calidad para todo el ensamblaje.

Anotación de la secuencia ensamblada: Las secuencias de los cuatro clones de BAC se anotaron con un programa automatizado de predicción de genes FGENESH (Salamov y Solovyev (2002) Genome Res. 10, 516-522). La estructura del gen que incluye la disposición exón-intrón para los 10 genes en el grupo HN1 se validó por comparación con la secuencia de ADNc para cada gen. La secuencia de ADNc no estaba disponible para ninguno de los ORFs restantes detallados en la Fig. 3 ya que no están representados en ninguna de las bibliotecas EST. La función predicha de todos los ORFs se evaluó mediante análisis BLAST (Altschul y col (1997) Nucleic Acids Res. 25, 3389-3402) y aquellos ORFs con éxitos significativos (valor e inferior a $1e^{-5}$) se incluyeron en la Fig.3.

35 Generación de construcciones de plásmidos para silenciamiento génico inducido por virus (VIGS)

El sistema de silenciamiento génico basado en el virus del tabaco cascabeleo (TRV) (Liu y col (2002) Plant J. 30, 415-422) se usó para investigar la función del gen de *PSMT1*, *PSMT2*, *CYP719A21*, *CYP82X2*, *PSSDR1* y *PSCXE1*. Los fragmentos de ADN seleccionados para el silenciamiento se amplificaron mediante PCR y se clonaron en el vector de silenciamiento pTRV2 (GenBank acceso nº: AF406991). Se unieron a un fragmento de 129 pb de longitud (SEQ ID NO: 30) del gen *P. somniferum* PHYTOENE DESATURASE (*PSPDS*) para silenciar simultáneamente los respectivos genes candidatos y *PSPDS*. Se identificaron plantas que exhibían el fenotipo de fotodecoloración resultante del silenciamiento de *PSPDS* (Hileman y col (2005) Plant J. 44, 334-341) como plantas infectadas con éxito con las respectivas construcciones de silenciamiento y seleccionadas para un análisis posterior.

Generación de la construcción pTRV2: PDS: Un fragmento de 622 pb de *PSPDS* se amplificó a partir de ADNc preparado a partir de HN1 utilizando cebadores que se muestran en la Tabla 3. La digestión con Sau3AI del producto de PCR de 622 pb produjo, entre otros, un fragmento de 129 pb (SEQ ID NO: 30) que se clonó en el sitio BamHI del vector pTRV2. La orientación y la fidelidad se confirmaron por secuenciación y el vector pTRV2: PDS resultante se usó en la generación de la construcción VIGS para cada gen candidato. La construcción pTRV2: PDS también sirvió como control en los experimentos de VIGS.

Los fragmentos de ADN seleccionados para silenciar los genes candidatos respectivos se amplificaron a partir de ADN genómico de HN1 o de ADNc. Los cebadores usados para la amplificación así como las posiciones de las secuencias seleccionadas dentro de los respectivos marcos de lectura abiertos se muestran en la Tabla 3. Los fragmentos *PSMT1*, *CYP719A21* y *CYP82X2* se clonaron primero en pTV00 (Ratcliff y col (2001) Plant J., 237-245) usando HindIII y KpnI y luego se subclonaron en pTRV2: PDS usando BamHI y KpnI. Los fragmentos *PSMT2*, *PSCXE1* y *PSSDR1* se clonaron directamente en pTRV2: PDS usando BamHI y KpnI. La orientación y la fidelidad de todos los constructos se confirmaron por secuenciación.

Transformación de *Agrobacterium tumefaciens* con construcciones de VIGS: Los constructos de VIGS se propagaron en *E. coli* cepa DH5 α y se transformaron en electrocompetente *Agrobacterium tumefaciens* (cepa GV3101) por electroporación.

5

Infiltración de plantas: Se usaron cultivos líquidos «overnight» separados de *A. tumefaciens* que contenían constructos VIGS individuales (cada uno compuesto por un fragmento de ADN seleccionado del gen objetivo unido al fragmento de 129 pb de longitud del gen *P. somniferum PHYTOENE DESATURASE*) para inocular medio LB que contenía 10 mM MES, 20 μ M de acetosiringona y 50 μ g/ml de kanamicina. Los cultivos se mantuvieron a 28°C durante 24 horas, se recogieron por centrifugación a 3000xg durante 20 min y se resuspendieron en solución de infiltración (MES 10 mM, acetosiringona 200 μ M, MgCl₂ 10 mM) hasta una OD₆₀₀ de 2,5. *A. tumefaciens* harboring las construcciones de VIGS individuales, incluyendo el control, pTRV2: PDS, se mezclaron cada uno 1: 1(v / v) con *A. tumefaciens* que contiene pTRV1 (GenBank acceso n°: AF406990), y se incubaron durante dos horas a 22°C antes de la infiltración. Se infiltraron plántulas maduras de HN1 de dos semanas de edad cultivadas en condiciones de invernadero estándar (22°C, fotoperíodo de 16 horas), con primeras hojas emergentes, tal como se describe (Hagel y Facchini (2010) Nat. Chem. Biol. 6, 273-275).

Análisis de látex y cápsula de plantas silenciadas: Se analizó el látex foliar de las plantas infiltradas que mostraban blanqueamiento fotográfico como marcador visual de una infección y silenciamiento exitosos cuando aparecieron brotes de las flores (plantas de 7~ semanas de edad). Se recogió látex de pecíolos cortados, con una sola gota dispersa en 500 μ l de ácido acético al 10%. Esto se diluyó 10 veces en ácido acético al 1% para dar una solución de alcaloide en ácido acético al 2% para un análisis posterior. Las cápsulas se recogieron de las mismas plantas usadas para el análisis de látex y las cápsulas individuales se molieron hasta obtener un polvo fino en un molino de bolas (Modelo MM04, Retsch, Haan, Alemania). Las muestras de paja de adormidera molida se pesaron con precisión a 10 $\pm$ 0,1 mg y se extrajeron en 0,5 ml de una solución de ácido acético al 10% con agitación suave durante 1h a temperatura ambiente. Las muestras se clarificaron luego mediante centrifugación y una submuestra de 50 μ l se diluyó 10 veces en ácido acético al 1% para dar una solución de alcaloide en ácido acético al 2% para un análisis posterior. Todas las soluciones se analizaron como se describe para el análisis de paja de adormidera de plantas F2 cultivadas en el campo. Del mismo modo, todos los análisis de datos se llevaron a cabo utilizando el lenguaje de programación R. Picos putativos alcaloides se cuantificaron por sus áreas de iones pseudomolecular utilizando scripts personalizados. Las listas de picos se compilaron y cualquier diferencia significativa entre las muestras se identificó utilizando 1-way ANOVA con valores de p ajustados usando la corrección de Bonferroni para el número de picos únicos en el conjunto de datos. Para cualquier comparación de picos con valores de p ajustados <0.05, la prueba de HSD de Tukey se utilizó para identificar picos que fueron significativamente diferentes entre cualquier muestra dada y el control. Los alcaloides se identificaron comparando la masa exacta y los valores de tiempo de retención con los de los estándares. Donde los estándares no estaban disponibles, el paquete Bioconductor rcdk (Smith y col (2006) Anal. Chem. 78, 779-787) se usó para generar fórmulas pseudomoleculares a partir de masas exactas dentro de las restricciones elementales C = 1 100, H = 1 200, O = 0 200, N = 0 3 y exactitud de masa <5 ppm. El hit con el menor error de ppm dentro de estas restricciones se usó para asignar una fórmula putativa.

Ejemplo 1

El análisis transcriptómico revela la expresión exclusiva de 10 genes que codifican cinco clases distintas de enzimas en una variedad de amapola que produce noscapina alta , HN1. Estos genes están ausentes del genoma de dos variedades que no producen NOSCAPINA.

Extracto de cápsula de tres variedades de adormidera desarrolladas en Tasmania para la producción de alcaloides designadas como morfina alta 1 (HM1), tebaína alta 1 (HT1) y noscapina alta1 (HN1) sobre la base del alcaloide más abundante en cada caso (Fig. 1A) se sometió a perfiles de metabolitos. Se descubrió que la noscapina es única para HN1 en relación con HM1 y HT1. La pirosecuenciación Roche 454 se realizó en bibliotecas de ADNc derivadas de tejido de tallo y cápsula de las tres variedades. El análisis de la abundancia de la etiqueta de secuencia expresada (EST) condujo al descubrimiento de varios genes previamente no caracterizados que se expresan en la variedad HN1, pero que están completamente ausentes de las bibliotecas EST HM1 y HT1 (figura 1B). Los genes correspondientes se identificaron putativamente como tres O-metiltransferasas (*PSMT1*, *PSMT2*, *PSMT3*), cuatro citocromo P450 (*CYP82X1*, *CYP82X2*, *CYP82X3* y *CYP719A21*), una acetiltransferasa (*PSAT1*), una carboxilesterasa (*PSCXE1*) y una cadena corta deshidrogenasa/reductasa (*PSSDR1*). En contraste, una cantidad de otros genes caracterizados funcionalmente asociados con la síntesis de alcaloides de la bencilisoquinolina, incluida la *Enzima del Puente de Berberina* (*BBE*), *Tetrahidroprotoberberina cis-N-metil transferasa* (*TNMT*), *Salutaridina Reductasa* (*SalR*), *Salutaridinol 7-*

O-AcetilTransferasa (*SalAT*) y Tebaína 6-O-demethylase (*T6ODM*) se expresaron en las tres variedades (Fig. 1B). El análisis de PCR en ADN genómico de las tres variedades reveló que los genes expresados exclusivamente en la variedad HN1 están presentes como se esperaba en el genoma de HN1 pero ausentes de los genomas de las variedades HM1 y HT1 (Fig. 1B y Fig. 5).

5

Ejemplo 2

El análisis de una población de mapeo F2 muestra que los genes están estrechamente relacionados en HN1 y su presencia está asociada con la producción de noscapina.

10

Se generó una población de mapeo F2 de 271 individuos usando HN1 y HM1 como progenitores. La genotipificación de la población F2 cultivada en el campo reveló que los genes específicos de HN1 están estrechamente relacionados y asociados con la presencia de noscapina, lo que sugiere que se producen como un conjunto de genes implicados en la biosíntesis de la noscapina (figura 2B). El análisis de los niveles de noscapina en cápsulas F2 cultivadas en el campo reveló que los individuos que contienen este grupo de genes putativo se dividen en dos clases. La primera clase que contiene 150 individuos tiene niveles relativamente bajos de noscapina y la segunda clase que contiene 63 individuos exhibe el rasgo de noscapina alta de la variedad parental HN1 (figura 2B). Los 58 individuos F2 que carecen del conjunto de genes putativo contienen niveles indetectables de noscapina (figura 2B). El análisis de la familia F3 confirmó que los individuos F2 que exhiben el rasgo de alta noscapina eran homocigóticos para el grupo de genes, mientras que los que exhibían el rasgo bajo de noscapina eran heterocigotos (Tabla 2). Los niveles de noscapina tanto en la población F1 (figura 2A) como en la clase F2 heterocigota son mucho menores que los niveles intermedios esperados para un rasgo semicontinuo, lo que sugiere la participación de alguna forma de represión. El cambio de paso a la noscapina alta en la clase F2 homocigótica sugiere que este rasgo está relacionado con el locus del clúster de genes en lugar de diseminarse cuantitativamente entre otros loci.

25

Ejemplo 3

La secuenciación bacteriana de cromosomas artificiales confirma que los 10 genes existen como un complejo cúmulo de genes

30

Para caracterizar adicionalmente el supuesto conjunto de genes de noscapina, se preparó una biblioteca de Cromosoma Artificial Bacteriano (BAC) a partir de ADN genómico aislado de HN1 y se identificaron seis BACs solapantes que contenían genes del grupo. La generación siguiente y la secuenciación de Sanger se utilizaron para generar un ensamblaje de alta calidad de 401 Kb confirmando la disposición de los 10 genes en un grupo que abarca 221 Kb (figura 3). Sólo otro gen homólogo, una carboxilesterasa (*PSCXE2*), se encontró en la secuencia genómica que flanquea el grupo de genes (Fig 3), pero *PSCXE2* no se representó en ninguna de nuestras bibliotecas EST. Intercalados entre los diez genes hay secuencias de retrotransposón y de elemento transponible de ADN (TE) (Fig. 3), que pueden tener alguna función en la reorganización genética para la formación de cúmulos, como se cree para el thalianol y los cúmulos marinos de *A. thaliana* (Field y col (2011) PNAS 108, 16116-16121).

40

Ejemplo 4

El silenciamiento génico inducido por el virus da como resultado la acumulación de intermediarios de la vía, permitiendo que la función del gen se relacione con la síntesis de la noscapina y se proponga una nueva vía biostética bifurcada.

45

Con el fin de caracterizar funcionalmente los genes en el clúster de HN1, el silenciamiento génico inducido por virus (VIGS) se realizó en plántulas de amapola. VIGS en plántulas de amapola persiste a través de etapas de planta maduras (Hileman y col (2005) Plant J. 44, 334-341), y, por lo tanto, tanto el látex de hojas como los extractos de cápsulas se analizaron rutinariamente (figura 4). El silenciamiento de *PSMT1* dio como resultado la acumulación de escoulerina en cápsulas y también bajos niveles de reticulina en el látex, lo que indica que este producto génico es responsable del primer paso comprometido en la ruta hacia la síntesis de la noscapina (figura 4A). El producto predicho de *PSMT1* es tetrahidrocolumbamina (figura 6), que se acumuló en plántulas y cápsulas que se silenciaron para *CYP719A21* (figura 4B). *CYP719A21* muestra una alta homología con las oxidasas del citocromo P450 que actúan como enzimas formadoras de puentes de metilendioxi (Díaz Chávez y col (2011) Arch. Biochem. Biophys. 507, 186193; Ikezawa y col (2009) Plant Cell Rep. 28, 123-133). Por lo tanto, *CYP719A21* puede codificar una sintasa canadiense (Fig. 6). El silenciamiento de un segundo gen del citocromo P450, *CYP82X2*, dio como resultado la acumulación de varios productos intermedios de secoberbina, algunos de

60

los cuales pueden representar productos secundarios de la vía sintética principal (figura 4C, figura 6). El silenciamiento del gen de carboxilesterasa *PSCXE1* dio como resultado la acumulación de hasta un 20% del contenido total de alcaloides de la papaveroxina putativa (figura 6), lo que implica la acetilación de un intermediario de secoberbina como se representa en la figura 4G. El gen *PSAT1* del grupo HN1 es un candidato obvio para esta reacción. El silenciamiento de *PSSDR1* dio como resultado la acumulación de lo que supuestamente se identificó como narcotinemiactal (figura 6), un precursor inmediato de la noscapina (figura 4G). Estos datos apoyan una ruta biosintética hacia la noscapina que implica la O-metilación temprana de un intermediario de secoberbina en la posición equivalente al grupo hidroxilo C4' de la noscapina (figura 4G). Sin embargo, el silenciamiento de *PSMT2*, dio como resultado la acumulación de hasta 20% de narcotolina, lo que indica que la O-metilación en el grupo hidroxilo C4' también puede ocurrir como un paso final en la producción de la noscapina (Fig. 4F). Estos resultados implican la bifurcación de la vía principal en la etapa intermedia de la secoberbina, siendo *PSMT2* responsable tanto de la O-metilación de una secoberbina intermedia como de la narcotolina. El silenciamiento de *PSMT2* da como resultado la acumulación de altos niveles de narcotolina a medida que el flujo se dirige hacia abajo por la rama desmetil de la vía (figura 4F).

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> GlaxoSmithKline Australia Pty Ltd
 <120> Molécula de ácido nucleico
 <130> 4265P/WO
 <150> GB 1,204,407,9
 <151> 13/03/2012
 <160> 194
 <170> PatentIn versión 3.5
 <210> 1
 <211> 2306
 <212> ADN
 <213> Papaver somniferum
 <400> 1

ES 2 648 967 T3

cacaccaaac ttgatcattg tcataaaaaa cagtcctaata tgtcatcaat caaaaacagt	60
cctaacatgg ctaccaatgg cgaaattttc aatacctatg gtcataatca tcaatcagcc	120
acagtcacta aaatcactgc ttctaatagaa agcagcaatg gtgtctgtta tctttcagaa	180
acggctaact tggggaagtt aatatgcatt ccaatggcac taagagctgc gatggagcta	240
aatgtgttcc aacttatctc aaagtctgga actgacgcaa aagttctggc ttctgaaatt	300
gcctctaaaa tgccaaacgc gaagaataat cctgaagcag ctatgtattt ggatagaatt	360
cttcgactgc tcggggcaag ttctattctt tctgtttcta ctacaaaaaa atcaatcaac	420
agaggaggag atgatgtagt agtacatgag aagctttatg ggttaacaaa ttcgtcgtgt	480
tgtttggtcc ctcgacaaga agacggggtg tcattagtcg aagaattgct attcacatct	540
gacaaggttg ttgtggatag ttttttcaaa ctgaaatgtg tgggtggaaga aaaagacagt	600
gtgccatttg aggttgctca tggtgctaaa atctttgagt atgctgctac agaaccaaga	660
atgaatcaag tatttaacga tggaatggca gttttctcta ttgttgtttt tgaggctgtt	720
tttagagttt acgatggatt tcttgatatg aaagaattgt tagatgttg tggtggtatt	780
ggtacttcgg ttagtaagat tgttgctaaa tacccttga ttcgcggtgt caacttcgac	840
ttgcctcatg ttattttctg tgccctcaa taccaggtat tacctcttc ttcttttttc	900
tgaaaagaac gggttcgaat ttttacagaa tttttttct cattcgatac tcaagcaact	960
ctattaaagt atactgtgta ataatgcatg caggtgtaga gcatgttgca ggagatatgt	1020
tcgaggaagt cccaaagggt caaaacatgt tgctaaaagt aagctaacca tactcaattt	1080
tcttaataat taggaaaatt gcaaaaaccg tcacaatatt ataaaggcat ctgaagtgcc	1140
atcactcaga taccgatgct atgtactcta tacattgaca aaattccatg gtatcaagtc	1200
tcaacctgcc gggtataata atttttttca ggctttcttt aaaagaaatt attttgaatg	1260

gtaaaaatca tcattatatt ggagaaaagt gcagatcttg ctacattaaa atttataata 1320
 taataaaaca tttgtttatg gttgtttgaa aaaaaaatc tcattgttaa tgcattcttc 1380
 taagttaatg gtgattaatg gtgaataata tgatatctta ttaccgtctt gacacttttt 1440
 tttttgtcgt agacaaaata tttccaactt ttctatatta ataaaatcag aaatatttca 1500
 tttatatgaa tattaataa agaaggtgca tgagtaatat tccaaatttc ttaaagcggt 1560
 ttttatagca gtacggcggt tttctaaatc ttattaaccc ataattaaag ggtttccgta 1620
 aattaaattg agggatatca aaacaaaaac aaaaaatagg gttatttttg agtaaaatca 1680
 ataaccctt atcatatgaa aaggataact tagtctacc caatttggag agatatgggc 1740
 aattattgta ttactagtgc gtttgagcat tgataatatt tttcattaga tttatactca 1800
 ataaaatata tgaactatat tgataaagat taataatgca gtgggtactg cacgattggg 1860
 gtgatgaacg atgtgtgaag ctgttaaaga attgttgga ctcattacct gtgggtggaa 1920
 aagttttgat aatcgagttt gttctccga atgaacttgg taacaatgct gaatcattca 1980
 atgcgttgat tcccgattta ctctgatgg ctctgaatcc aggcggtaaa gagcgaacga 2040
 tttccgaata cgatgattta ggcaaagcag ctggattcat aaaaactata cctatcccta 2100
 tctccaatgg tcttcatgct attgagtttc acaaatgaat ggttattgag tgctttggta 2160
 attaaactac caagataact acatccattt catgcatttg cttttttttt ttttttttt 2220
 tctttttttt tctttttggt ttgtattcca ggtgtgaact agttagtgtg ttgagtggac 2280
 aaaagtaagt aatcgattt tgtgtt 2306

<210> 2

<211> 1440

<212> ADN

5 <213> Papaver somniferum

<400> 2

gaatcagaaa ctttcttcta aaatctttca ataccagtac tgttagtctt cgataagagc 60
 cacactaatc cattatggaa attcatttag aaagccaaga acaagaaatg aaatatcaat 120
 ctcaaacttg gaaccaaata tgtggcactg ttgatactc tgttctgaga tgtgcaattc 180
 aattaggtat atttgatgcc attcataact ctggcaaacc aatgattacc ttaaccgaat 240
 tatcaagcat tgtttcatca cctcttcat cttcaatcga accctgcaac ttgtatagat 300
 tagtgagata cttatcccaa atggatctca ttagtatcgg agaattgttg aatgaagcaa 360
 ctgtttcatt aacaggcaca tccaagttac tacttagaaa ccaagaaaag agtttaattg 420
 attgggtatt ggcaatttct tgcgaaatga tggttgttgt ttggcacgaa ctaagtagct 480
 ctgtttcaac tctgcggat gagcctccaa tcttcagaa ggttcattgg aaaaatgctt 540
 tagaattagc aggggaattt ccagaatgga atgatctgat caacaatgct atgactagtg 600

atactagtgt aactaagcca gcgctaatac aaggatgtgg caaaatcctg aacggagtta	660
catcgttaat tgatgtcggg ggtgggcacg gtgccactat ggcctacata gttgaagctt	720
ttcctcacat aaaaggtgcg gtaatcgatt taccacatgt tgttgaagcc gctccggagc	780
gtccagggtg tgagttcatc agcggtgata tattcaagtc catttctaac gctgatgctg	840
tgttgttgaa ggtatgtaaa gagtagctaa ccttagtgcg tctaatttat tccacaaatt	900
tttctgatgc attttattct tatttttggg ttttgcagta tgtcctgcac aattgggaag	960
atacggaatg tgtgaattta ctgaagagat gtaaggaagc agttccggca gacaaaggaa	1020
aagtgatcat aatggattta gtaatagacg acgatgataa cagtatttta acgcaggcaa	1080
agttgagcct tgatctcact gtgatgaacc atggaggagg tagagaaagg actaaagaag	1140
attggagaaa tctaattgag atgtctggat ttagtaggca tgaaataatt ccaatatctg	1200
ccatgccatc aattattgtt gcttatcctt agttaagtca cccgcatgtt tacttgaacg	1260
ggaataagtt gggggcgtgt tgaatctgtt aacatcgcaa ttgtgccttt actttatgca	1320
ttctcattcc ggtagaaaact gtttggggca ttoggattct gctgagccct tttatgtatg	1380
tttgtttgtt ggttggttgg ttttcaagta actgaagttt cttctctgtt ttcaaggcat	1440

<210> 3

<211> 1436

<212> ADN

5 <213> Papaver somniferum

<400> 3

aagttgcagg taggggttatg agcaagctca attatctctc ctataaaagc taacattaga	60
aaaactaata agcacacaaa ccgtaaaagt tctgaagata gacaaaacaa gagaaaaaag	120
atggaagtag taagtaagat tgatcaagaa aaccaagcaa aaatttggaa acaaatTTTT	180
ggttttgcag aatcattagt tctaaaatgt gcagttcagt tagagattgc tgaaacactt	240
cataataatg taaaacccat gtctttatcc gagttagcat ctaaaacttc ggctcaaccc	300
gttaatgaag accgtttgta ccgaattctg ctttcttag ttacatgaa actcttcaac	360
aaagatgcta ccacacagaa atattcatta gctccaccag caaagtattt gctaaaaggc	420
tgggaaaaat caatggttcc ttcaatatta agcgtgactg ataaagattt tacagctcca	480
tggaatcatc ttggggacgg tttaaccggg aactgtaacg cttttgagaa agcgttagga	540
aagggcattc ggggtttatat gagagaaaat cctgaaaaag atcaattgtt taatgaagga	600
atggcttgtg atactagatt atttgcttca gcattggtta acgagtgcaa aagtattttc	660
agtgacggga tcaatacact tgccggtgtt ggccgtggta ctggtactgc agtgaaagcc	720
atatccaaag cttttccgga tattaagtgc acaatccatg atcttcctga agttaccagt	780
aaaaatagta aaattccaag agatgttttt aagtccgttc ctagtgcaga cgccatcttt	840

atgaaggttaa cttctaagaa attttgtttt agaatatctg ttgcaactct aattgacaac	900
atccataaaa aatatgttaa tggctttaat ttattaattc tagtagagtt acttaaatga	960
tatacaaaaa ttcaaaatca tataacattt gcagagcatt cttcacgaat ggaacgatga	1020
ggaatgtatt caaatcttga aacgatgcaa agaagcaata ccaaaagggg gcaaagtatt	1080
cattgcggat gtcgtaatag acatggactc gactcatccg tattcaaaat ctagactcgc	1140
aatggatttg gctatgatgc tccacacggg tggaaaagag agaactgaag aagattggaa	1200
aaaacttatt gatgctgcag gttttgctag ctgtaaaatt actaaactat ctgctctcca	1260
gtctgttatt gaggcttacc ctcatcgagg ataattttta tccttctgtt ttccctttgg	1320
ttaattgttg ccttctcttt ggatcatggg tgcgtttata ataaatgcag cgtttctttc	1380
ctggcggttaa gtgcaagaaa gaaaaagctt ccagaaactt ccttgagtat gcctgg	1436

<210> 4

<211> 1921

<212> ADN

5 <213> Papaver somniferum

<400> 4

cttgagtcac gccttgatat gctcatattt tagtttgtca tattcactat aactataaat	60
ttcaatacaa tttctaaaac tcatcatcat tcaagagaga taaaaatacc ttgatatcct	120
tttatcatca atggagtatt tcataaagtt accatattat caaccaattc ctttcagtat	180
tattcttgtt actacagttt cgattgttct attatacagt gtcttcttct gggttactga	240
taagaaaaag aagaggaaga aagcaccaaa tgctgcaggg gcctggcgtt taataggtca	300
tctccgtcta ttgatgaacg acaaggaacc gttgtataga gcactagga gcctggctga	360
taagtacgga cctgcattca acatccgatt aggttaacaa gaagttcttg ttgtgagtaa	420
ctgggagatg gtaaaacagt gttttggtta tcaaaatgat aagctatttt cgaatcgtca	480
aactacatta gctgcaaaat acatgcttaa tcaaacact tctagcggat tcgcaccata	540
tggaacatat tggagagagc tacgaaagat aatgggtgcag caattactct ctaaacaatc	600
tttagaatcg tggaaacatc tgaaaatcaa agagatggat gcttcattta gtaaaactta	660
cgagttatgc aacaacaacg gtactggaac agctacccta attaggatgg acgaatgggt	720
tgctgagttg acgttcaacg tgatcgcaag aaatgtcttt ggctaccaa gtggcggaag	780
gtcgacagcg cttacgaacg gtaatatgat catactccct caatctgtat caatttaagg	840
aatcattttt ggtcttggtta ttaacttgaa ttttctatta ggagatacgg aatcaaaggg	900
cgagaggtac aagaaaacat tggaagaagc acttcatctt atgtcaattt ttgcagtttc	960
agacatatatt ccaagtctag agtgggtaga tcgggttaaga ggccttataa ggaatatgaa	1020
acgctttgga gatgagctaa attcaattgc aggggtgtctt attgaagagc accgccaaaa	1080

gagattacaa tccgtatcta aaagtataa aggagttggt gatgaacaag acttcgttga	1140
tgttctctta tccggttgctg aaaaatcgca acttcctgga gatgaccctg atttggtcat	1200
caagtctatg attctggtta ggctattgat accaagtcta ttgcaatfff ggtttatgtg	1260
cttgttctaa ctttcgttta ctgcatatgg atgtgcagga aatcgtatca ggtgggagtg	1320
agaccacatc gtcaacctta acttgggccc tctgtctgtt actgaacctt ccgcatgtgt	1380
taaagaaggc aaaagaggaa ttagatacgc acgtaggaaa agataggcat gtagaagagt	1440
cagatacccc taagctcgtg tacattaatg caattatcaa agaataaatg cgattgtatc	1500
caaacggggc aatgcttgat cgggtggcgt tagaagagtg cgaagttggt ggatttcatg	1560
taccggcccg gggacgctta tttgtcaatg tttggaagat tcagagagat ccgagtgttt	1620
gggagaatcc tctggagttt aaaccagaga ggtgggtttt gagtaatggt gaaaagatgg	1680
atgtggatta caaagggtcac aatcatgaat tcataccatt tgggatagggt cggaggatgt	1740
gcgctggtat gctttgggca tcggagggtga ttcatttgggt gctgccccgt cttattcatg	1800
ggtttgatat gaaagcagca agtgccaatg ggaaagtaga tatggcagaa atggcaggca	1860
tggtgatttg ttttaagaag acacctcttg aagttatggt caatcctcga gagtagatgt	1920
t	1921

<210> 5

<211> 1688

<212> ADN

5 <213> Papaver somniferum

<400> 5

catgaaattc tttatgcaaa gagtcaatct gactcaagct agctagaata tataccaatc	60
ataaaagaaa tgatcatgag taacttatgg attcttacgc tcattttctac catattagca	120
gtctttgctg ctgtgttaat cattttcagg agaagaatat cagcatccac aacggaatgg	180
cctgttggcc caaaaacatt accaatcata ggtaacttgc acattcttgg aggcactgct	240
ctccatgtcg tcttacataa acttgctgaa gtttacggca gtgtaatgac gatatggatt	300
ggtagttgga aacctgttat tattgtttcc gactttgatc gagcctggga agttcttgtt	360
aacaaatcgt cagattatct agctcgtgaa atgcctgaga tcactaaaat cggcactgca	420
aattggagaa caatttcaag ttctgattct ggtccgtttt gggccactct tcgaaaagggt	480
cttcagagtg tagcattatc gcctcagcat ttagcatcgc aaactgcaca ccaagagaga	540
gatataataa agttgatcaa aaatttgaaa gacgaagcag cttctggaat ggttaaacca	600
cttgatcatc tcaagaaagc aactgtaaga ttaatcagtc ggttaatcta tggtcaggat	660
tttgatgacg ataagtatgt tgaagatatg catgacgtga tcgagttttt gattcgtatt	720
agtggttatg ctcaacttgc tgaggttatc tattatgcta aatatctacc aggtcataag	780

ES 2 648 967 T3

agagctgtaa	ctggcgccga	agaagcaaaa	agaagagtaa	tagctctggt	gcgtcctttt	840
cttcagctcaa	accctgctac	taacacttac	ttgcattttc	tcaaatcgca	actgtatcct	900
gaagagggtta	tcatattcgc	tatattcgaa	gcttatcttt	taggtgttga	tagcacttct	960
tcaaccactg	catgggcact	cgcatcttta	atagcggaac	catctgttca	agagaaactt	1020
tatcaagagc	ttaagaatth	cacagccaat	aacaatcgca	caatgctgaa	agtcgaagac	1080
gtcaacaaat	taccatattt	acaagctgtt	gttaaagaaa	caatgaggat	gaaaccaatt	1140
gcaccactgg	cgattcctca	taaagcttgt	aaagacactt	cattgatggg	caagaaagtt	1200
gataagggaa	ctaaagttag	ggtaacatt	catgctttac	atcatactga	aaagggttg	1260
aaagaacctt	acaaattcat	accagagagg	tttctgcaga	agcacgataa	ggcgatggaa	1320
caatcactat	taccatttag	tgcaggtag	agaatttgtg	caggaatgga	attaggaaaa	1380
cttcagttta	gtttttctct	tgctaactct	gttaatgctt	ttaaattggtc	ttgtgtgtct	1440
gatggagtgc	ttcctgatat	gagtgattta	ctgggggttg	ttctgttcat	gaaaacccca	1500
ctcgaagcac	gtatagtcc	tcgtttgtag	tgatggaaat	ttcatctcat	gttgttgttt	1560
ctcttcattg	ttactatttc	gtactcgttt	ggttttggtg	taaaaataa	gatctaaact	1620
tccaaatatc	attaatgttt	acacaaatcg	aatcaatca	actatgttat	gaaaattagt	1680
gttttctc						1688

<210> 6

<211> 2918

<212> ADN

5 <213> Papaver somniferum

<400> 6

aaagtgtgcca	ctaactctact	gctagtgtcta	ctgctcactg	acacttacac	atatgattga	60
tttatggcta	aacaggatga	ccactaaatt	tattttggaa	agcggagtga	attaattaag	120
tggcacattt	tccatgagaa	ttattgatgg	catgcattta	gatgaacaag	atacaccaaa	180
tgtagtgact	gaacaagatg	ctcgatccta	acccacactg	caacttttagc	taaactttta	240
taattacatg	tcttatcttt	ttattgaatc	attttatcta	tcaatggatg	ctgatcaata	300
atatcatata	tctttgcttt	ttcttcaatc	atthagatga	acaaaaaaca	caataagtgt	360
agtgggtgtt	cataacccca	ccttcaactc	attcttccct	ttaataacaa	atatctttgc	420
tttttctcca	atcatttact	tgaacaacca	acactagtaa	gtgtagtggt	ttctcataac	480
cccacctgca	atttttgctt	acctttaata	acatatatct	ttgattttct	tcgatcattt	540
tagctacca	tggatgctga	tccaaaaagt	tatggcaaaa	agagacaacg	tgatcgaaca	600
cgagcctctc	gtgcaccaca	gcacaaaggt	ttgtggaaat	taaccgcttg	taaaaaatgg	660
agtgcgtgat	cataatgagg	tattgctaag	atatagtatc	aacttttagtg	aactgggcca	720

ES 2 648 967 T3

acaaaactca cgagttgttg aaaattggag attatatatta taagataaaa gggtcactcc	780
ctacacaacg acttgcaactg caagtgaaaa agaaaaaaaa caaacaacct caatctagct	840
agagtcgtga aaaagttttg tgcgactgtt atttagttaa ttataaaatt tcaatgaagt	900
cgттаатgat gaacaagtta ttatttctcc aacggattac tgattctcct tcgaccacca	960
ttatcagtac ttttattgtt acaataatat ccattgtttt tctctacact gtcttggtga	1020
taaggacgac taagaataag cagaagatag cagcaccaaa agcatcgagg gcgtggccgt	1080
tcataggtca tctcaaaacta ttcatgaaac aagatactca gttttacaga actctaggaa	1140
ccatgtctga taaatacggg tcgggtgtca cacttcgatt aggaaaccaa gcaatcctag	1200
ttgtgagcaa ctgggagatg gtaaaagaat gtttcacaac aaacgacaag tcattctcga	1260
atcgccaag tacgttaagc actaaatata tgctgaatga cactaattct gtcgtgtttt	1320
caccttacgg aacgtattgg agagaaatgc ggaagatatt ggtgcacaaa ctactgatct	1380
ctaaccacaa atcagaggca ttgaaaaatc tgaaaacgaa agaaatcgac aactogtttg	1440
taaagcttaa tgatttatgc aacaacgatg tcagtggagg aggcacacaaa gttaggatgg	1500
acgaatgggt ggctgacatg atgttcaaca ttattgctag gattacattt ggttaccaaa	1560
gcgaggagg cgatgcacct ggtatgtgat catcaaatct tcgttaaaac caaattaact	1620
tgтactatat cttatgttta catgttatat tgatcacttt gacacgttct gatcattttc	1680
acaaatcgaa ttagcgctct ctacaacatc caagaatgtc gagagataca agaaaacgtt	1740
ggacgagatg tttgtgtttt tagcgacgag gtttgcaagt tcagatatat ttccatctct	1800
ggagtttata gaccgattga gaggtcttgt aaaggatatg aaaatcttgg gagacgaatt	1860
aaactccatt gctggatgtt ttattgaaga acatcgtaa aagagacgag aatcattatc	1920
ctcattgtta tctttgtcaa atgaatccgt tggatgatga caagatttca ttgatgttct	1980
cttgtaata atggatcagt cagggtctcc cggagatgac ccagatttta ttatcaaaat	2040
tatgatcctg gtaacatata ttacaacagt atttctttaa gttatggatt aatggatgtc	2100
gtaaccatga atatttttct gatctggata aatgtaatcc ggaactaata tatgaatatt	2160
gttgacgcag gaagcttttg cagggtggac ggacagttta agtgcaacct taacttgggt	2220
cctctctcta ctgctgaacc acccaaacgt gttaaagagg gcaagggagg aaatagatag	2280
gcatgtggaa aacggtaagc aagtggagt gtctgatatt ccgaagctcg gatacattga	2340
tgcaataatc aaagagacga tgagattgta tccagtcgga gcattaagcg aacgatacac	2400
gactgaagaa tgcgaggttg gtogggttaa cgtaccgct ggcacacgct tactggtgaa	2460
tatatggaag atccacagag acccaagtgt gtgggagaat ccacagatt ttcaaccaga	2520
gaggtttttg tgcagcgata aggtgggtgt ggatttatat gccagaatt atgagctgat	2580
accatttggg gccggtagga gggтatgtcc ggctatagtt tcatcactgc agacgatgca	2640

ttatgcgttg ggcgctctta ttcaaggata tgaaatgaaa tcagccagcc tcgatgggaa	2700
ggtgaatatg gaagaaatga tagccatgtc gtgccacaag atgagccctc ttgaagttat	2760
tatcagtcct cgggagccga ggcggagtta aatcttatgt tccaatttta cattagcatc	2820
tttgattatg aaatgtattg ctcttaagtt tcttttttgt tttttatatt ttttaagcttg	2880
tatgtgatca tcagcgaaaa tgatgatgac agaatcgt	2918

<210> 7

<211> 1915

<212> ADN

5 <213> Papaver somniferum

<400> 7

ttcagttcat tcatggcgta tttgatgatc aagaagtcta tctatttggt ttttgatcaa	60
ccaactgcag ttggcactct tatacttgct tttctgctga cactttcgcc tgttattatt	120
tactatgaac agaagaagag gggtttgagg cgaaatcgca ccgcaattac aacgactcca	180
ttaccagagg catcaggtgc atggccagtg ataggtcatc ttcttctttt catgaacgaa	240
aacgatctaa atcatgtaac tcttggtcac atggctgata aatatggacc tattttcagc	300
ttaagattcg gtagacatag aactctagtt gttagtagtt gggagatggt aaaggagtgt	360
tttacaggta ccaatgacaa gttgttctca aatcgtcctt cctccttggc ggttaaactt	420
atgttttatg acactgaatc ttatggtttt gcaccttatg ggaaatactg gagagagttg	480
cgaaagatat ctacacacaa actcctctct aatcagcaat tagagaagtt caagcacttg	540
cggatttctg aagtcgataa ctcttttaaa aagcttcatg agttatgcag caacaacaaa	600
cagggaggtg atactacata tgtggctagt cttgtgagaa tggatgattg gttcgcgtac	660
ttgacattta acgtaatagg acggatcgtc agcggattcc aatcaaatgc agtggcaggt	720
gagctcatat agctaggttt ttatatgttt ggtttgtaca cacacagctc attcatattc	780
taaactgaat tatatgttat aattgaacaa cataggtgcc acaaacagcc aggaaaaata	840
caagcttgca atcgatgaag tgtcaaactc tatggcaacg tttgccgttt cagatgtggt	900
tccacggctt gggtggttg atcgattgac tggctctaca ggaaagatga agaattgtgg	960
taaaaaatta gatgcagtag ttggggatgc agtggaggat catcgccaaa agaaactcaa	1020
aattttctaga aataacacag gagcacttac ggagcacgaa gaagaagact ttatcgatgt	1080
ttgcttgctg attatggagc agtcacagat tccgggaaac caccocgaaa tctctgtcaa	1140
atctattgcc ttggtaatac gtctcataag catgttagca gattttacct ctatatatac	1200
ttacatatta ttttttatca atcacacata tgtgcaggac atgttatcgg gtgggagtga	1260
cactacaaaa ttgataatga catggaccct ttctttgctg ttgaaccatc cagacatatt	1320
ggacaaggct aaagaagaag tagatacata cttcgggaag aaaaagatat cggataacac	1380

acctgtgggt gatgctgccc atgttcctaa cctcgtctac atccaagcaa tcatcaaaga 1440
atcaatgcgg ttataccctg ctacacacatt gatggagcga atgacaagtg atgattgtga 1500
tgttgggtggc ttccacgtac cagctgggac acgattatgg gttaacgtat ggaagatgca 1560
acggggaccca aggggtgtgga aagatccact ggtatttcta cctgagagat tcttgagcaa 1620
tgacaaaggg atggtagatg tgaagggtca gaattatgaa ctgataccat ttggaacagg 1680
caggcgata tgcctcgtg catcttttgc cttggaagtc ttgcatttgg ttcttactcg 1740
tcttattctt gagttcgaga tgaaggcacc agaggggaaa attgacatga gggcaagacc 1800
aggttttttc cacaacaagg tgggtccact agatgttcaa ctcacccccc gcacactaga 1860
ttaagattcc tatatatgct aattaattag atgaataaaa tctgtggtcg agtaa 1915

<210> 8

<211> 1133

<212> ADN

5 <213> Papaver somniferum

<400> 8

aataaaaaatc caacaatggc agatccttat gaattcctaa tgtgcattca caatcctgaa 60
gaagataccc taacaagaaa ttttccgatt cctgctactc ccttagatca aaacaccaaa 120
gacatttctt taaatcctga taggaaaacc tcacttcgaa tctttcggcc accaaccaaa 180
gaacctcctg taacaaagaa taagctgctt cctatcataa tttatttcca tgggtggagg 240
ttcattcttt tcaatgcaga ttcaactatg aaccatgact tttgtcaatc gattgctaca 300
catatacccg cgctggcgtt ttctgtagac taccgtcttg ctccctgaaa ccgacttccc 360
gctgcctatg atgatgctgt tgatgcttta aactgggtca aagaccaagg tttaggcaaa 420
ctaaataata gtgaagtatg gttaaaagag tatgggtgact tctcaaagtg tttcattatg 480
gggtgcagct cagggtgctaa tgttgcatac catgccagtt taagagcaat agaaatggat 540
cttgaaccag ctaagattaa tggattaata ttacactgcc ctttttttgg tagtcttgag 600
agaactgaat cagattcaaa agtgatcaac aatcaggact tgccgcttgc cgtaagggat 660
gtcatgtggg aactggcgtt gccgcttggg tctactcgtg atcacgttta ttgtaatccg 720
aatattgatc atgatggatc atcatctgga aatatgggtg ggttaatcga gagatgtttt 780
gtggtaggat tttatgggga tccacttatt gatcgacaaa ttcagctggg gaagatgctg 840
gaggaaaaag gtgtgaagggt tgaacttgg attgaacaag gagggatatca tggggtgcta 900
tgctttgacc ctatgatagc tgaaaccttt ttggaaaaac taaaacattt tatttttaac 960
gacgaattta tatactaaaa tatattatta gtattaaaca atgaaattct tattttttct 1020
aaaatgagct tttggacgaa acattgtgta cgaactagct gatgtaattt ttcgttttac 1080
cggatttttc attttttttg ctttctttct gctctctttt ataagtcgtt ctt 1133

<210> 9

<211> 2488

10 <212> ADN

<213> Papaver somniferum

<400> 9

ES 2 648 967 T3

ctaacaggca aacaataaca ggttgcacct acaacattca atttttattht ttgtaaatga	60
agttcagttg gagagtaacc acatctttgt tgtcggcatt gccccacaa tactgagtg	120
tttggctgag tgtagtctga ctgtaggtaa gctacaactg catgttgca gataaatca	180
ctaactgatt attcatgcat acctaacagt catattgtta tagttcccaa aaaaaattct	240
cgaactataa aggcattgcat ggacagaaaa atatatcaga gagatatcag aaattcaaag	300
agatggaag aacagggaag atagtatgtg taacagggtg agctggatac ttggcatctt	360
ggctgatcat gagattgctt gaacgtggtt actctgttcg gaccaccgtt cggctcgacc	420
caagtacgta ataaattaaa tttcctggca tcattttctt caatataaat ttcttattat	480
ctagttcatc attctttatt gttccaatca tgtccccc agtctaaaag aagtagtaat	540
ctaaaaatag ctaatttatg tacgaaattg taacaatgat ctctagctt atgaggctca	600
cctaatttcg tttctatcat ttgtgtctt gaaagaattt aggggaagatg tgagccacct	660
taaagctctt cctgaagcta cagagaagct tcaaattttt gaagcagatc ttgaaaacc	720
agaaagtttc gacgatgca tcaacggttg tgtcgggtgc tttctcgttg ctcaaggaat	780
gaattttgcc gaagaatata ctcttgaaaa aataatcaa acatgcgttg aaggaaactc	840
tagaattcta cagtcattgt tgaatctaa aacagtga aaggttgtgt acacatcttc	900
tgtgatgca gcaatgatga taagtaattc caaagctgtt aaagaaattg acgagacaat	960
atggtcagaa gttgacaatt tcattagcaa accggaacaa gttattcctg gattgccctc	1020
atatgtggtt tcaaaggta cagacagaa agcttgcta aagttttctg aagaacatgg	1080
tttggatgtt gttactatac ttctcctgtt ggttggttga ccttttatca ctcccatcc	1140
tcctccagc gtatctatag ctctttcgat aatttcaggt atcctctcca tccgaaaaat	1200
atgccaatc ctaaaactaa aaggcatatt gatatttaaat aatacctcca tacctaaaa	1260
aagagttgct atataacatt ttaattttc gccattttt aggcctaatt gaaaaagtta	1320
taataacatt ttaggaagga gggagaatga tttttgagca aaccttagaa ctgtgtggtg	1380
agatttgctc gttatcattg ttgtataac tgtgtatac atggttttta aaagcgccgc	1440
tcaogctacg ctctgtacgg ttcggtctag atttttttaa ttcgctcga agcgtagtta	1500
tgaagctacc atgaagcgc gcttcacgct acgtttcgta cgcttcgctt cagatttttc	1560
aaattcgctc cgaggcgaat ctacatgaa gtggaagatt cctttaattg attcaatttt	1620
ttacttagtc aagtcctttt taggggggtt cgaaaactaa agtgaaccac tgcgcctcgc	1680

tactgttttt	gaaattaact	agacttatat	taaattgata	caattattat	atcttcctaa	1740
atattaaatt	attaataaca	aactactact	atztatagga	aaaaattcgc	ttcaaatact	1800
aatcataaaa	cgacgcttca	catttcaaca	tgcgcacgc	ttcgtataaa	aaaaaacgc	1860
ttcacgcttt	caataccttg	gtgtacatag	attaataactt	cctcctctgc	gctggtgtta	1920
acatttctgt	gtttcgttta	tatatatgac	caggtgatgt	gtcgatgatg	cttggtgtta	1980
gacttgaaaa	tgcggtacat	atagatgatg	ttgctttagc	acacatatct	gtttttgaat	2040
gtgaaaaagc	aaaaggaaga	catatttggt	cttcagttga	ttttccaatg	catgatctgc	2100
ctaaatttat	atctgagaat	tatccggaat	tcaacgtacc	gactgagtga	gtttatcttt	2160
caccaccttc	tttattatta	ttcatcaagt	cactttgggt	attttaacct	tattgttttt	2220
actgaattat	catcagttta	ctaaaggata	ttgaggaaca	agaaccagtt	catctttcct	2280
cagataagct	gttgagtatg	ggatttcagt	tcaaataatga	ttttgcagag	attttcgggtg	2340
atgcaatacg	atgtgccaaa	gagaagggtt	tccttttagag	accaactata	gtttgggtcg	2400
gaggagatgt	gggagtagct	agcccaaaat	gccctgctcg	cactagctta	tattattggt	2460
attgtttttc	aatgaataa	acgggcag				2488

<210> 10

<211> 1572

<212> ADN

5 <213> Papaver somniferum

<400> 10

cgcataaat	ccaatttgca	ttgtttatcg	accttgagga	acaattaggg	gatatggcaa	60
caatgtctag	tgtgtctgta	gaagtgatct	cgaaagaaac	gattaaacca	agaaatccaa	120
caccatatca	acttagaaac	tacaatatgt	cacttctcga	ccaatattct	tctctagttt	180
atgttccgat	cattcttttc	tacctgctg	cctccgacgc	taatagtacc	ggaagtaagc	240
accatgatga	tcttcacttg	cttaagaggt	ctctttctga	aacgctagtt	cacttttctc	300
caatggctgg	taggatgaaa	gacaacatga	ctgttgactg	taacgacgaa	ggtattgact	360
ttttcgaagt	aagaatcaaa	ggtagaatgt	tgacttcat	gatgaaatca	gatgcacact	420
taagtctgct	tcttccgtct	gaagtgcgtt	ccacgaactt	cgtgaaggaa	gcacaggtga	480
ttgttcaagt	gaacatgttt	gattgcggtg	gaactgccat	ttgtttctgt	atatcaaaca	540
agattgcaga	tgcatgcacc	atgattacct	tcattcgtag	tttggcaggc	accaccaaca	600
tagctcgtcg	tgggagctct	attgctgcac	caaccacaaa	tcagaatttg	gttccttctt	660
tcgattcgac	atcactcttt	ccacctagtg	aacaattggc	atctcaagtt	tcctatccta	720
cacaggatag	taccagcgta	gataaacttg	tcagcaaaaag	atttgtgttt	gatgcgggcaa	780
agattacatc	tgcacgtgaa	aaattgcaat	ccttgatgca	tgataaatac	aaatgccata	840

```

ggccgacaag gggtgaggtg gtttcgctt tgatatggaa gtcagcagtg aaatctgctc      900
cgcccggttc tatatccact gtaacccatg ccatgaactt tagaaagaaa atggatccac      960
cattacaaga tgcgtcattc gggaaatctt gtgtggttgt tacagcagta ttaccagcaa    1020
caacggcgac aacaacaaat ccagcaacca aaaaagttag tagtacgagt aatgaagagc    1080
aagtggcact tgatgagtta agtgattttg tagccctatt gaggcgcgaa atagataagg    1140
taaaggggta taaaggttgc atggagaaaa tcattcaaaa gttcatctat ggtcatgatg    1200
cttccgtagc gaaagacagt gatgttgaag ataaggtgac agctttgttt atgactagct    1260
ggtgcaagtt tggattctac gaagctgatt ttggttgggg aacgccagtt tgggtaacta    1320
ctgttccatt aattgagcca aagtacaaga acatggtttt catgaacgat atgaaatgtg    1380
gtgaaggaat tgaagtgtgg gtgaattttc tggaggatga tatgaccaag ttcgaacacc    1440
acctaagaga gatcctccaa ctgttttgat tttcaaccgt ttcctaata gaggtcaatt    1500
gtcgtgtttg tccatcttaa ctaccatctt tattctcttg ttttcatact tgtatttgtc    1560
ttactccggt aa                                                              1572

```

<210> 11

<211> 390

<212> PRT

5 <213> Papaver somniferum

<400> 11

```

Met Ala Thr Asn Gly Glu Ile Phe Asn Thr Tyr Gly His Asn His Gln
 1              5              10              15

Ser Ala Thr Val Thr Lys Ile Thr Ala Ser Asn Glu Ser Ser Asn Gly
      20              25              30

Val Cys Tyr Leu Ser Glu Thr Ala Asn Leu Gly Lys Leu Ile Cys Ile
      35              40              45

Pro Met Ala Leu Arg Ala Ala Met Glu Leu Asn Val Phe Gln Leu Ile
      50              55              60

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

Lys Met Pro Asn Ala Lys Asn Asn Pro Glu Ala Ala Met Tyr Leu Asp
      85              90              95

Arg Ile Leu Arg Leu Leu Gly Ala Ser Ser Ile Leu Ser Val Ser Thr
      100             105             110

```

ES 2 648 967 T3

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

ES 2 648 967 T3

Ala Gly Phe Ile Lys Thr Ile Pro Ile Pro Ile Ser Asn Gly Leu His
370 375 380

Val Ile Glu Phe His Lys
385 390

<210> 12

<211> 356

<212> PRT

5 <213> Papaver somniferum

<400> 12

Met Glu Ile His Leu Glu Ser Gln Glu Gln Glu Met Lys Tyr Gln Ser
1 5 10 15

Gln Ile Trp Asn Gln Ile Cys Gly Thr Val Asp Thr Ser Val Leu Arg
20 25 30

Cys Ala Ile Gln Leu Gly Ile Phe Asp Ala Ile His Asn Ser Gly Lys
35 40 45

Pro Met Ile Thr Leu Thr Glu Leu Ser Ser Ile Val Ser Ser Pro Ser
50 55 60

Ser Ser Ser Ile Glu Pro Cys Asn Leu Tyr Arg Leu Val Arg Tyr Leu
65 70 75 80

Ser Gln Met Asp Leu Ile Ser Ile Gly Glu Cys Leu Asn Glu Ala Thr
85 90 95

Val Ser Leu Thr Gly Thr Ser Lys Leu Leu Leu Arg Asn Gln Glu Lys
100 105 110

Ser Leu Ile Asp Trp Val Leu Ala Ile Ser Cys Glu Met Met Val Val
115 120 125

Val Trp His Glu Leu Ser Ser Ser Val Ser Thr Pro Ala Asp Glu Pro
130 135 140

Pro Ile Phe Gln Lys Val His Gly Lys Asn Ala Leu Glu Leu Ala Gly
145 150 155 160

Glu Phe Pro Glu Trp Asn Asp Leu Ile Asn Asn Ala Met Thr Ser Asp
165 170 175

Thr Ser Val Thr Lys Pro Ala Leu Ile Gln Gly Cys Gly Lys Ile Leu
180 185 190

ES 2 648 967 T3

Asn Gly Val Thr Ser Leu Ile Asp Val Gly Gly Gly His Gly Ala Thr
195 200 205

Met Ala Tyr Ile Val Glu Ala Phe Pro His Ile Lys Gly Ala Val Ile
210 215 220

Asp Leu Pro His Val Val Glu Ala Ala Pro Glu Arg Pro Gly Val Glu
225 230 235 240

Phe Ile Ser Gly Asp Ile Phe Lys Ser Ile Ser Asn Ala Asp Ala Val
245 250 255

Leu Leu Lys Tyr Val Leu His Asn Trp Glu Asp Thr Glu Cys Val Asn
260 265 270

Leu Leu Lys Arg Cys Lys Glu Ala Val Pro Ala Asp Lys Gly Lys Val
275 280 285

Ile Ile Met Asp Leu Val Ile Asp Asp Asp Asp Asn Ser Ile Leu Thr
290 295 300

Gln Ala Lys Leu Ser Leu Asp Leu Thr Val Met Asn His Gly Gly Gly
305 310 315 320

Arg Glu Arg Thr Lys Glu Asp Trp Arg Asn Leu Ile Glu Met Ser Gly
325 330 335

Phe Ser Arg His Glu Ile Ile Pro Ile Ser Ala Met Pro Ser Ile Ile
340 345 350

Val Ala Tyr Pro
355

<210> 13

<211> 339

<212> PRT

5 <213> Papaver somniferum

<400> 13

Met Glu Val Val Ser Lys Ile Asp Gln Glu Asn Gln Ala Lys Ile Trp
1 5 10 15

Lys Gln Ile Phe Gly Phe Ala Glu Ser Leu Val Leu Lys Cys Ala Val
20 25 30

Gln Leu Glu Ile Ala Glu Thr Leu His Asn Asn Val Lys Pro Met Ser
35 40 45

ES 2 648 967 T3

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

Arg Leu Tyr Arg Ile Leu His Phe Leu Val His Met Lys Leu Phe Asn
 65 70 75 80

Lys Asp Ala Thr Thr Gln Lys Tyr Ser Leu Ala Pro Pro Ala Lys Tyr
 85 90 95

Leu Leu Lys Gly Trp Glu Lys Ser Met Val Pro Ser Ile Leu Ser Val
 100 105 110

Thr Asp Lys Asp Phe Thr Ala Pro Trp Asn His Leu Gly Asp Gly Leu
 115 120 125

Thr Gly Asn Cys Asn Ala Phe Glu Lys Ala Leu Gly Lys Gly Ile Arg
 130 135 140

Val Tyr Met Arg Glu Asn Pro Glu Lys Asp Gln Leu Phe Asn Glu Gly
 145 150 155 160

Met Ala Cys Asp Thr Arg Leu Phe Ala Ser Ala Leu Val Asn Glu Cys
 165 170 175

Lys Ser Ile Phe Ser Asp Gly Ile Asn Thr Leu Ala Gly Val Gly Arg
 180 185 190

Gly Thr Gly Thr Ala Val Lys Ala Ile Ser Lys Ala Phe Pro Asp Ile
 195 200 205

Lys Cys Thr Ile His Asp Leu Pro Glu Val Thr Ser Lys Asn Ser Lys
 210 215 220

Ile Pro Arg Asp Val Phe Lys Ser Val Pro Ser Ala Asp Ala Ile Phe
 225 230 235 240

Met Lys Ser Ile Leu His Glu Trp Asn Asp Glu Glu Cys Ile Gln Ile
 245 250 255

Leu Lys Arg Cys Lys Glu Ala Ile Pro Lys Gly Gly Lys Val Ile Ile
 260 265 270

Ala Asp Val Val Ile Asp Met Asp Ser Thr His Pro Tyr Ser Lys Ser
 275 280 285

Arg Leu Ala Met Asp Leu Ala Met Met Leu His Thr Gly Gly Lys Glu
 290 295 300

ES 2 648 967 T3

Arg Thr Glu Glu Asp Trp Lys Lys Leu Ile Asp Ala Ala Gly Phe Ala
305 310 315 320

Ser Cys Lys Ile Thr Lys Leu Ser Ala Leu Gln Ser Val Ile Glu Ala
325 330 335

Tyr Pro His

<210> 14

<211> 540

<212> PRT

5 <213> Papaver somniferum

<400> 14

Met Glu Leu Phe Ile Lys Leu Pro Phe Ile Gln Pro Ile Pro Phe Ser
1 5 10 15

Ile Ile Leu Val Thr Thr Val Ser Ile Val Leu Leu Tyr Ser Val Phe
20 25 30

Phe Trp Val Thr Asp Lys Lys Lys Lys Arg Lys Lys Ala Pro Asn Ala
35 40 45

Ala Gly Ala Trp Pro Leu Ile Gly His Leu Arg Leu Leu Met Asn Asp
50 55 60

Lys Glu Pro Leu Tyr Arg Ala Leu Gly Ser Met Ala Asp Lys Tyr Gly
65 70 75 80

Pro Ala Phe Asn Ile Arg Leu Gly Asn Gln Glu Val Leu Val Val Ser
85 90 95

Asn Trp Glu Met Val Lys Gln Cys Phe Gly Asn Gln Asn Asp Lys Leu
100 105 110

Phe Ser Asn Arg Gln Thr Thr Leu Ala Ala Lys Tyr Met Leu Asn Gln
115 120 125

Thr Thr Ser Ser Gly Phe Ala Pro Tyr Gly Pro Tyr Trp Arg Glu Leu
130 135 140

Arg Lys Ile Met Val Gln Gln Leu Leu Ser Lys Gln Ser Leu Glu Ser
145 150 155 160

Trp Lys His Leu Lys Ile Lys Glu Met Asp Ala Ser Phe Ser Lys Leu
165 170 175

ES 2 648 967 T3

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

ES 2 648 967 T3

	420		425		430
Val Trp Lys	Ile Gln Arg Asp Pro Ser Val Trp Glu Asn Pro Leu Glu				
435		440		445	
Phe Lys Pro Glu Arg Trp Phe Leu Ser Asn Gly Glu Lys Met Asp Val					
450		455		460	
Asp Tyr Lys Gly His Asn His Glu Phe Ile Pro Phe Gly Ile Gly Arg					
465		470		475	480
Arg Met Cys Ala Gly Met Leu Trp Ala Ser Glu Val Ile His Leu Val					
	485		490		495
Leu Pro Arg Leu Ile His Gly Phe Asp Met Lys Ala Ala Ser Ala Asn					
	500		505		510
Gly Lys Val Asp Met Ala Glu Met Ala Gly Met Val Ile Cys Phe Lys					
	515		520		525
Lys Thr Pro Leu Glu Val Met Val Asn Pro Arg Glu					
	530		535		540

<210> 15
 <211> 486
 <212> PRT
 5 <213> Papaver somniferum
 <400> 15

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

ES 2 648 967 T3

[illegible]

ES 2 648 967 T3

Arg Met Lys Pro Ile Ala Pro Leu Ala Ile Pro His Lys Ala Cys Lys
355 360 365

Asp Thr Ser Leu Met Gly Lys Lys Val Asp Lys Gly Thr Lys Val Met
370 375 380

Val Asn Ile His Ala Leu His His Thr Glu Lys Val Trp Lys Glu Pro
385 390 395 400

Tyr Lys Phe Ile Pro Glu Arg Phe Leu Gln Lys His Asp Lys Ala Met
405 410 415

Glu Gln Ser Leu Leu Pro Phe Ser Ala Gly Met Arg Ile Cys Ala Gly
420 425 430

Met Glu Leu Gly Lys Leu Gln Phe Ser Phe Ser Leu Ala Asn Leu Val
435 440 445

Asn Ala Phe Lys Trp Ser Cys Val Ser Asp Gly Val Leu Pro Asp Met
450 455 460

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

Arg Ile Val Pro Arg Leu
485

<210> 16

<211> 554

<212> PRT

5 <213> Papaver somniferum

<400> 16

Met Lys Ser Leu Met Met Asn Lys Leu Leu Phe Leu Gln Arg Ile Thr
1 5 10 15

Asp Ser Pro Ser Thr Thr Ile Ile Ser Thr Phe Ile Val Thr Ile Ile
20 25 30

Ser Ile Val Phe Leu Tyr Thr Val Leu Leu Ile Arg Thr Thr Lys Asn
35 40 45

Lys Gln Lys Ile Ala Ala Pro Lys Ala Ser Gly Ala Trp Pro Phe Ile
50 55 60

Gly His Leu Lys Leu Phe Met Lys Gln Asp Thr Gln Phe Tyr Arg Thr
65 70 75 80

ES 2 648 967 T3

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

ES 2 648 967 T3

Asp Asp Pro Asp Phe Ile Ile Lys Ile Met Ile Leu Glu Ala Phe Ala
 340 345 350
 Gly Gly Thr Asp Ser Leu Ser Ala Thr Leu Thr Trp Val Leu Ser Leu
 355 360 365
 Leu Leu Asn His Pro Asn Val Leu Lys Arg Ala Arg Glu Glu Ile Asp
 370 375 380
 Arg His Val Glu Asn Gly Lys Gln Val Glu Val Ser Asp Ile Pro Lys
 385 390 395 400
 Leu Gly Tyr Ile Asp Ala Ile Ile Lys Glu Thr Met Arg Leu Tyr Pro
 405 410 415
 Val Gly Ala Leu Ser Glu Arg Tyr Thr Thr Glu Glu Cys Glu Val Gly
 420 425 430
 Arg Phe Asn Val Pro Ala Gly Thr Arg Leu Leu Val Asn Ile Trp Lys
 435 440 445
 Ile His Arg Asp Pro Ser Val Trp Glu Asn Pro Ser Asp Phe Gln Pro
 450 455 460
 Glu Arg Phe Leu Cys Ser Asp Lys Val Gly Val Asp Leu Tyr Gly Gln
 465 470 475 480
 Asn Tyr Glu Leu Ile Pro Phe Gly Ala Gly Arg Arg Val Cys Pro Ala
 485 490 495
 Ile Val Ser Ser Leu Gln Thr Met His Tyr Ala Leu Ala Arg Leu Ile
 500 505 510
 Gln Gly Tyr Glu Met Lys Ser Ala Ser Leu Asp Gly Lys Val Asn Met
 515 520 525
 Glu Glu Met Ile Ala Met Ser Cys His Lys Met Ser Pro Leu Glu Val
 530 535 540
 Ile Ile Ser Pro Arg Glu Pro Arg Arg Ser
 545 550

<210> 17

<211> 556

<212> PRT

5 <213> Papaver somniferum

<400> 17

ES 2 648 967 T3

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

ES 2 648 967 T3

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

ES 2 648 967 T3

500 505 510
 Val Leu Thr Arg Leu Ile Leu Glu Phe Glu Met Lys Ala Pro Glu Gly
 515 520 525
 Lys Ile Asp Met Arg Ala Arg Pro Gly Phe Phe His Asn Lys Val Val
 530 535 540
 Pro Leu Asp Val Gln Leu Thr Pro Arg Thr Leu Asp
 545 550 555
 <210> 18
 <211> 320
 <212> PRT
 5 <213> Papaver somniferum
 <400> 18
 Met Ala Asp Pro Tyr Glu Phe Leu Met Cys Ile His Asn Pro Glu Glu
 1 5 10 15
 Asp Thr Leu Thr Arg Asn Phe Pro Ile Pro Ala Thr Pro Leu Asp Gln
 20 25 30
 Asn Thr Lys Asp Ile Ser Leu Asn Pro Asp Arg Lys Thr Ser Leu Arg
 35 40 45
 Ile Phe Arg Pro Pro Thr Lys Glu Pro Pro Val Thr Lys Asn Lys Leu
 50 55 60
 Leu Pro Ile Ile Ile Tyr Phe His Gly Gly Gly Phe Ile Leu Phe Asn
 65 70 75 80
 Ala Asp Ser Thr Met Asn His Asp Phe Cys Gln Ser Ile Ala Thr His
 85 90 95
 Ile Pro Ala Leu Val Val Ser Val Asp Tyr Arg Leu Ala Pro Glu Asn
 100 105 110
 Arg Leu Pro Ala Ala Tyr Asp Asp Ala Val Asp Ala Leu Asn Trp Val
 115 120 125
 Lys Asp Gln Gly Leu Gly Lys Leu Asn Asn Ser Glu Val Trp Leu Lys
 130 135 140
 Glu Tyr Gly Asp Phe Ser Lys Cys Phe Ile Met Gly Cys Ser Ser Gly
 145 150 155 160
 Ala Asn Val Ala Tyr His Ala Ser Leu Arg Ala Ile Glu Met Asp Leu

ES 2 648 967 T3

	165		170		175										
Glu	Pro	Ala	Lys	Ile	Asn	Gly	Leu	Ile	Leu	His	Cys	Pro	Phe	Phe	Gly
			180					185					190		
Ser	Leu	Glu	Arg	Thr	Glu	Ser	Asp	Ser	Lys	Val	Ile	Asn	Asn	Gln	Asp
		195					200					205			
Leu	Pro	Leu	Ala	Val	Arg	Asp	Val	Met	Trp	Glu	Leu	Ala	Leu	Pro	Leu
	210					215					220				
Gly	Ser	Thr	Arg	Asp	His	Val	Tyr	Cys	Asn	Pro	Asn	Ile	Asp	His	Asp
225					230					235					240
Gly	Ser	Ser	Ser	Gly	Asn	Met	Val	Gly	Leu	Ile	Glu	Arg	Cys	Phe	Val
				245					250					255	
Val	Gly	Phe	Tyr	Gly	Asp	Pro	Leu	Ile	Asp	Arg	Gln	Ile	Gln	Leu	Val
			260					265					270		
Lys	Met	Leu	Glu	Glu	Lys	Gly	Val	Lys	Val	Glu	Thr	Trp	Ile	Glu	Gln
		275					280					285			
Gly	Gly	Tyr	His	Gly	Val	Leu	Cys	Phe	Asp	Pro	Met	Ile	Arg	Glu	Thr
	290					295					300				
Phe	Leu	Glu	Lys	Leu	Lys	His	Phe	Ile	Leu	Asn	Asp	Glu	Phe	Ile	Tyr
305					310					315					320
<210>	19														
<211>	348														
<212>	PRT														
5 <213>	Papaver somniferum														
<400>	19														
Met	His	Gly	Gln	Lys	Asn	Ile	Ser	Glu	Arg	Tyr	Gln	Lys	Phe	Lys	Glu
1				5					10					15	
Met	Glu	Gly	Thr	Gly	Lys	Ile	Val	Cys	Val	Thr	Gly	Gly	Ala	Gly	Tyr
			20					25					30		
Leu	Ala	Ser	Trp	Leu	Ile	Met	Arg	Leu	Leu	Glu	Arg	Gly	Tyr	Ser	Val
	35					40						45			
Arg	Thr	Thr	Val	Arg	Ser	Asp	Pro	Lys	Phe	Arg	Glu	Asp	Val	Ser	His
	50					55					60				
Leu	Lys	Ala	Leu	Pro	Glu	Ala	Thr	Glu	Lys	Leu	Gln	Ile	Phe	Glu	Ala

ES 2 648 967 T3

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

ES 2 648 967 T3

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

Asp Ala Ile Arg Cys Ala Lys Glu Lys Gly Phe Leu
340 345

<210> 20

<211> 471

<212> PRT

5 <213> Papaver somniferum

<400> 20

Met Ala Thr Met Ser Ser Ala Ala Val Glu Val Ile Ser Lys Glu Thr
1 5 10 15

Ile Lys Pro Arg Asn Pro Thr Pro Tyr Gln Leu Arg Asn Tyr Asn Met
20 25 30

Ser Leu Leu Asp Gln Tyr Ser Ser Leu Val Tyr Val Pro Ile Ile Leu
35 40 45

Phe Tyr Pro Ala Ala Ser Asp Ala Asn Ser Thr Gly Ser Lys His His
50 55 60

Asp Asp Leu His Leu Leu Lys Arg Ser Leu Ser Glu Thr Leu Val His
65 70 75 80

Phe Tyr Pro Met Ala Gly Arg Met Lys Asp Asn Met Thr Val Asp Cys
85 90 95

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

Cys Asp Phe Met Met Lys Ser Asp Ala His Leu Ser Leu Leu Leu Pro
115 120 125

Ser Glu Val Ala Ser Thr Asn Phe Val Lys Glu Ala Gln Val Ile Val
130 135 140

Gln Val Asn Met Phe Asp Cys Gly Gly Thr Ala Ile Cys Phe Cys Ile
145 150 155 160

Ser Asn Lys Ile Ala Asp Ala Cys Thr Met Ile Thr Phe Ile Arg Ser
165 170 175

Leu Ala Gly Thr Thr Asn Ile Ala Arg Arg Gly Ser Ser Ile Ala Ala
180 185 190

ES 2 648 967 T3

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

ES 2 648 967 T3

Trp Val Asn Phe Leu Glu Asp Asp Met Thr Lys Phe Glu His His Leu
450 455 460

Arg Glu Ile Leu Gln Leu Phe
465 470

<210> 21

<211> 350

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> VIGS:

<400> 21

tggtcataat catcaatcag ccacagtcac taaaatcact gcttctaataa aaagcagcaa	60
tggtgtctgt tatctttcag aaacgggctaa cttggggaag ttaatatgca ttccaatggc	120
actaagagct gcgatggagc taaatgtgtt ccaacttata tcaaagttag gaactgacgc	180
aaaagtttag gcttctgaaa ttgcctctaa aatgccaaac gcgaagaata atcctgaagc	240
agctatgtat ttggatagaa ttcttcgact gctcggggca agttctattc tttctgtttc	300
tactacaaaa aaatcaatca acagaggagg agatgatgta gtagtacatg	350

10 <210> 22

<211> 213

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> VIGS

:

<400> 22

gtgtaactaa gccagcgcta atacaaggat gtggcaaaat cctgaacgga gttacatcgt	60
taattgatgt cgggtggtggt cacgggtgca ctatggccta catagttgaa gcttttcctc	120
acataaaaagg tgcggtaatc gatttaccac atgttggtga agccgctccg gagcgtccag	180
gtgttgagtt catcagcggg gatattattca agt	213

<210> 23

20 <211> 264

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> VIGS

25 <400> 23

tttgagtaat ggtgaaaaga tggatgtgga ttacaaaggc cacaatcatg aattcatacc	60
atgtgggata ggtcggagga tgtgcgctgg tatgctttgg gcatcggagg tgattcattt	120
ggtgctgccc cgtcttattc atgggtttga tatgaaagca gcaagtgccg atgggaaagt	180
agatatggca gaaatggcag gcatggtgat ttgttttaag aagacacctc ttgaagttat	240
ggtcaatcct cgagagtaga tggt	264

<210> 24

30 <211> 119

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> VIGS <400> 24

	atgatcatga gtaacttatg gattcttacg ctcatttcta ccatattagc agtctttgct	60
	gctgtgttaa tcattttcag gagaagaata tcagcatcca caacggaatg gcctgttg	119
	<210> 25	
	<211> 196	
	<212> ADN	
5	<213> secuencia artificial	
	<220>	
	<223> VIGS	
	<400> 25	
	taggagggta tgtccggcta tagtttcatc actgcagacg atgcattatg cgttggcgcg	60
	tcttattcaa ggatatgaaa tgaaatcagc cagcctcgat gggaaggtga atatggaaga	120
	aatgatagcc atgtcgtgcc acaagatgag ccctcttgaa gttattatca gtcctcgga	180
	gccgaggcgg agttaa	196
10	<210> 26	
	<211> 186	
	<212> ADN	
	<213> secuencia artificial	
	<220>	
15	<223> VIGS	
	<400> 26	
	tcctatatat gctaattaat tagatgaata aaatctgtgg tcgagtaaat ctaattaatg	60
	ctaataaaca agatgaataa aaaatcttct ttctgctttt gctttgggta gggttatttg	120
	accctcattt gggtgtattc gttggcgcac aacttttgtg cttcttaata taattccttt	180
	tggtgg	186
	<210> 27	
	<211> 204	
20	<212> ADN	
	<213> secuencia artificial	
	<220>	
	<223> VIGS	
	<400> 27	
	tggcagatcc ttatgaattc ctaatgtgca ttcacaatcc tgaagaagat accctaacaa	60
	gaaatcttcc gattcctgct actcccttag atcaaaacac caaagacatt tctttaaatc	120
	ctgataggaa aacctcactt cgaatctttc ggccaccaac caaagaacct cctgtaacaa	180
25	agaataagct gcttcctatc ataa	204
	<210> 28	
	<211> 323	
	<212> ADN	
	<213> secuencia artificial	
30	<220>	
	<223> VIGS	
	<400> 28	

gaaattgacg agacaatatg gtcagaagtt gacaatttca ttagcaaacc ggaacaagtt 60
 attcctggat tgcctcata tgtggtttca aaggtagtga cagaaagagc ttgcctaaag 120
 ttttctgaag aacatggttt ggatgttggt actatacttc ctccgttggt tgttggacct 180
 tttatcactc cccatcctcc tcccagtgtg tctatagctc tttcgataat ttcaggtgat 240
 gtgtcgatga tgcttggtgt tagacttgaa aatgcggtac atatagatga tgttgcttta 300
 gcacacatat tcgtttttga atg 323
 <210> 29
 <211> 117
 <212> ADN
 5 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> VIGS
 <400> 29
 cctaagagag atcctccaac tgttttgatt ttcaaccgtt tccctaatag aggtcaattg 60
 tcgtgtttgt ccatcttaac taccatcttt attctcttgt tttcatactt gtattttg 117
 10 <210> 30
 <211> 129
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 15 <223> VIGS
 <400> 30
 gatcatcttc tcttcagcag aagtcacctc ttaagcgtat acgctgacat gtcagtgaca 60
 tgcaaggaat attatgaccc aaacaaatcc atgcttgagt tggatatttg acccgctgag 120
 gaatggatc 129
 <210> 31
 <211> 22
 20 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 <400> 31
 25 gattcccgat ttactctga tg 22
 <210> 32
 <211> 30
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 30 <220>
 <223> Cebador
 <400> 32
 aacacaaaat acgattactt actttgtcc 30
 <210> 33
 35 <211> 23
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 40 <400> 33
 tgctcatgt tatttctgt gcc 23
 <210> 34
 <211> 26
 <212> ADN
 45 <213> secuencia artificial
 <220>

<223> Cebador
 <400> 34
 gcatgaaatg gatgtagtta tcttgg 26
 <210> 35
 5 <211> 22
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 10 <400> 35
 attgatgtcg gtggtgtgca cg 22
 <210> 36
 <211> 24
 <212> ADN
 15 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 <400> 36
 attcccgttc aagtaaacaat gcgg 24
 20 <210> 37
 <211> 27
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 25 <223> Cebador
 <400> 37
 gcaactgttt cattaacagg cacatcc 27
 <210> 38
 <211> 29
 30 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 <400> 38
 35 cagtaaattc acacattccg tatcttccc 29
 <210> 39
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 40 <220>
 <223> Cebador
 <400> 39
 gcttcagcat tggtaacga gtgc 24
 <210> 40
 45 <211> 26
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 50 <400> 40
 gagggtaagc ctcaataaca gactgg 26
 <210> 41
 <211> 23
 <212> ADN
 55 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 <400> 41
 agaccgtttg taccgaattc tgc 23
 60 <210> 42

<211> 22
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 5 <223> Cebador
 <400> 42
 tcgttcatt cgtgaagaat gc 22
 <210> 43
 <211> 25
 10 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 <400> 43
 15 gaaccattaa acacttgagt catgc 25
 <210> 44
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 20 <220>
 <223> Cebador
 <400> 44
 tgcaattgaa ttagctcat ctcc 24
 <210> 45
 25 <211> 21
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 30 <400> 45
 ttgatgaacg acaaggaacc g 21
 <210> 46
 <211> 26
 <212> ADN
 35 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 <400> 46
 attcatgatt gtgaccttg taatcc 26
 40 <210> 47
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 45 <223> Cebador
 <400> 47
 atgtggaaaa cggtagcaa gtgg 24
 <210> 48
 <211> 25
 50 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 <400> 48
 55 acgattctgt catcatcatt ttcgc 25
 <210> 49
 <211> 23
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 60 <220>

<223> Cebador
 <400> 49
 caacctcaat ctagctagag tcg 23
 <210> 50
 5 <211> 25
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 10 <400> 50
 cccaagattt tcatatcctt taaa 25
 <210> 51
 <211> 31
 <212> ADN
 15 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 <400> 51
 caataattga gtaattcag ttcattcatg g 31
 20 <210> 52
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 25 <223> Cebador
 <400> 52
 gctccgtaag tgctcctgtg 20
 <210> 53
 <211> 26
 30 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 <400> 53
 35 gaattgtggt aaaaaattag atgcag 26
 <210> 54
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 40 <220>
 <223> Cebador
 <400> 54
 cccttcacat ctaccatccc tt 22
 <210> 55
 45 <211> 27
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 50 <400> 55
 caaagagtca atctgactca agctagc 27
 <210> 56
 <211> 18
 <212> ADN
 55 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 <400> 56
 cgagtgccca tgcagtgg 18
 60 <210> 57

<211> 28
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 5 <223> Cebador
 <400> 57
 tcaaaccctg ctactaacac ttacttgc 28
 <210> 58
 <211> 23
 10 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 <400> 58
 15 cactccatca gacacacaag acc 23
 <210> 59
 <211> 27
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 20 <220>
 <223> Cebador
 <400> 59
 ttttatcgac ctgaggaac aattagg 27
 <210> 60
 25 <211> 18
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 30 <400> 60
 aaatggcagt tccaccgc 18
 <210> 61
 <211> 25
 <212> ADN
 35 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 <400> 61
 gacttcatga tgaaatcaga tgcac 25
 40 <210> 62
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 45 <223> Cebador
 <400> 62
 cactgctgac ttccatatca aagc 24
 <210> 63
 <211> 24
 50 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 <400> 63
 55 atgctgttga tgctttaaac tggg 24
 <210> 64
 <211> 26
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 60 <220>

<223> Cebador
 <400> 64
 agctgaattt gtcgatcaat aagtgg 26
 <210> 65
 5 <211> 26
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 10 <400> 65
 aataaaaatc caacaatggc agatcc 26
 <210> 66
 <211> 24
 <212> ADN
 15 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 <400> 66
 actggcatga tatgcaacat tagc 24
 20 <210> 67
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 25 <223> Cebador
 <400> 67
 ggaagatgtg agccacctta aagc 24
 <210> 68
 <211> 22
 30 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 <400> 68
 35 gatacactgg gaggaggatg gg 22
 <210> 69
 <211> 26
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 40 <220>
 <223> Cebador
 <400> 69
 gagagtaacc acatctttgt tgcgg 26
 <210> 70
 45 <211> 22
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 50 <400> 70
 cggcaaaatt cattccttga gc 22
 <210> 71
 <211> 19
 <212> ADN
 55 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 <400> 71
 gtttactccc acgtgcatc 19
 60 <210> 72

<211> 23
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 5 <223> Cebador
 <400> 72
 cattcctcgt ctaattcatc tgc 23
 <210> 73
 <211> 19
 10 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 <400> 73
 15 gtttactccc acgtgcatc 19
 <210> 74
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 20 <220>
 <223> Cebador
 <400> 74
 gcttcactac ttcttctga aaag 24
 <210> 75
 25 <211> 18
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 30 <400> 75
 aaacaatgct ggggttgc 18
 <210> 76
 <211> 26
 <212> ADN
 35 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 <400> 76
 cattataatt tccaatgccg tagttc 26
 40 <210> 77
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 45 <223> Cebador
 <400> 77
 taagagaggg agaccacgag 20
 <210> 78
 <211> 23
 50 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 <400> 78
 55 cattcgttgt tgttgctggt aag 23
 <210> 79
 <211> 26
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 60 <220>

<223> Cebador
 <400> 79
 cttatgaagc taggtaatgg tatgga 26
 <210> 80
 5 <211> 20
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 10 <400> 80
 catcctcatt gcttggtcc 20
 <210> 81
 <211> 19
 <212> ADN
 15 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 <400> 81
 ctctaaaatg ccaaacgcg 19
 20 <210> 82
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 25 <223> Cebador
 <400> 82
 gacccttgg gactcctcg 20
 <210> 83
 <211> 19
 30 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 <400> 83
 35 cgtgtgtgtt ggtccctcg 19
 <210> 84
 <211> 23
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 40 <220>
 <223> Cebador
 <400> 84
 tgcctcatgt tattctgtt gcc 23
 <210> 85
 45 <211> 23
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 50 <400> 85
 gattcccgat ttactcctga tgg 23
 <210> 86
 <211> 30
 <212> ADN
 55 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 <400> 86
 aacacaaaat acgattactt actttgtcc 30
 60 <210> 87

<211> 23
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 5 <223> Cebador
 <400> 87
 tgcctcatgt tatttctgtt gcc 23
 <210> 88
 <211> 26
 10 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 <400> 88
 15 gcatgaaatg gatgtagtta tcttgg 26
 <210> 89
 <211> 21
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 20 <220>
 <223> Cebador
 <400> 89
 tcccttgact ttaataccct c 21
 <210> 90
 25 <211> 22
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 30 <400> 90
 cacaccaaac ttgatcattg tc 22
 <210> 91
 <211> 27
 <212> ADN
 35 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 <400> 91
 attgttgata ttgaatcaga aactttc 27
 40 <210> 92
 <211> 25
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 45 <223> Cebador
 <400> 92
 tcaataaccag tactgttagt ttccg 25
 <210> 93
 <211> 27
 50 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 <400> 93
 55 gcaactgttt cattaacagg cacatcc 27
 <210> 94
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 60 <220>

<223> Cebador
 <400> 94
 attgatgtcg gtggtgtgca cg 22
 <210> 95
 5 <211> 23
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 10 <400> 95
 gcacactgtc ttttctcc acc 23
 <210> 96
 <211> 28
 <212> ADN
 15 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 <400> 96
 accggaatga gaatgcataa agtaaagg 28
 20 <210> 97
 <211> 23
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 25 <223> Cebador
 <400> 97
 ccaataccca atcaattaaa ctc 23
 <210> 98
 <211> 29
 30 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 <400> 98
 35 cagtaaattc acacattccg tatctccc 29
 <210> 99
 <211> 27
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 40 <220>
 <223> Cebador
 <400> 99
 attgtatagc caaagtgca ggtaggg 27
 <210> 100
 45 <211> 23
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 50 <400> 100
 agaccgtttg taccgaattc tgc 23
 <210> 101
 <211> 23
 <212> ADN
 55 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 <400> 101
 gcagtgaag ccatatccaa agc 23
 60 <210> 102

<211> 21
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 5 <223> Cebador
 <400> 102
 tcccttgact ttaataccct c 21
 <210> 103
 <211> 22
 10 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 <400> 103
 15 tcgttcatt cgtgaagaat gc 22
 <210> 104
 <211> 26
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 20 <220>
 <223> Cebador
 <400> 104
 gagggtaagc ctcaataaca gactgg 26
 <210> 105
 25 <211> 25
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 30 <400> 105
 gaaccattaa acacttgagt catgc 25
 <210> 106
 <211> 21
 <212> ADN
 35 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 <400> 106
 ttgatgaacg acaaggaacc g 21
 40 <210> 107
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 45 <223> Cebador
 <400> 107
 tcgacagcgc ttacgaacg 19
 <210> 108
 <211> 21
 50 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 <400> 108
 55 tcccttgact ttaataccct c 21
 <210> 109
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 60 <220>

<223> Cebador
 <400> 109
 tgcaattgaa tttagctcat ct 22
 <210> 110
 5 <211> 26
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 10 <400> 110
 attcatgatt gtgaccttg taatcc 26
 <210> 111
 <211> 21
 <212> ADN
 15 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 <400> 111
 gacagagggc ccaagttaag g 21
 20 <210> 112
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 25 <223> Cebador
 <400> 112
 agcaaaccat tcgtccatcc 20
 <210> 113
 <211> 21
 30 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 <400> 113
 35 tacgacaggt tgctagcttg g 21
 <210> 114
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 40 <220>
 <223> Cebador
 <400> 114
 aataatggat cagtcacggc ttcc 24
 <210> 115
 45 <211> 27
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 50 <400> 115
 aatccatcag atttcaacc agagagg 27
 <210> 116
 <211> 28
 <212> ADN
 55 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 <400> 116
 tgtcagccaa ccattcgtcc atcctaac 28
 60 <210> 117

<211> 28
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 5 <223> Cebador
 <400> 117
 ggcttcccgg agatgacca gattttat 28
 <210> 118
 <211> 38
 10 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 <400> 118
 15 ttgtatttt catgactatt accaccagct tcctcta 38
 <210> 119
 <211> 30
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 20 <220>
 <223> Cebador
 <400> 119
 agtggaggag gcacaaaagt taggatggac 30
 <210> 120
 25 <211> 29
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 30 <400> 120
 ccatgtctga taaatacggg tcggtgttc 29
 <210> 121
 <211> 36
 <212> ADN
 35 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 <400> 121
 ttgttgataa ggacgactaa gaataagcag aagata 36
 40 <210> 122
 <211> 25
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 45 <223> Cebador
 <400> 122
 acgattctgt catcatcatt ttcgc 25
 <210> 123
 <211> 24
 50 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 <400> 123
 55 agtcgtgtat cgttcgctta atgc 24
 <210> 124
 <211> 29
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 60 <220>

<223> Cebador
 <400> 124
 catgcctatc tatttctcc ctggcctc 29
 <210> 125
 5 <211> 28
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 10 <400> 125
 tgtcagccaa ccattcgtcc atcctaac 28
 <210> 126
 <211> 31
 <212> ADN
 15 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 <400> 126
 tgttcgatca cgttgtctct tttgccata a 31
 20 <210> 127
 <211> 38
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 25 <223> Cebador
 <400> 127
 taacaataaa agtactgata atgggtggtcg aaggagaa 38
 <210> 128
 <211> 20
 30 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 <400> 128
 35 tattgatgtg gaccagtacc 20
 <210> 129
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 40 <220>
 <223> Cebador
 <400> 129
 tgtaactctt ggtcacatgg 20
 <210> 130
 45 <211> 20
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 50 <400> 130
 cgcgtacttg acatttaacg 20
 <210> 131
 <211> 20
 <212> ADN
 55 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 <400> 131
 ggatcatcgc caaaagaaac 20
 60 <210> 132

<211> 27
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 5 <223> Cebador
 <400> 132
 caaagagtca atctgactca agctagc 27
 <210> 133
 <211> 26
 10 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 <400> 133
 15 tgaaatgcct gagatcacta aaatcg 26
 <210> 134
 <211> 28
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 20 <220>
 <223> Cebador
 <400> 134
 tcaaaccctg ctactaacac ttacttgc 28
 <210> 135
 25 <211> 24
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 30 <400> 135
 tgtaaagaca cttcattgat gggc 24
 <210> 136
 <211> 31
 <212> ADN
 35 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 <400> 136
 ttcgatttgt gtaaacatta atgatatttg g 31
 40 <210> 137
 <211> 27
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 45 <223> Cebador
 <400> 137
 gagatgatca agtggtttaa ccattcc 27
 <210> 138
 <211> 18
 50 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 <400> 138
 55 cgagtgccca tgcagtgg 18
 <210> 139
 <211> 26
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 60 <220>

<223> Cebador
 <400> 139
 aataaaaaatc caacaatggc agatcc 26
 <210> 140
 5 <211> 24
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 10 <400> 140
 atgctgttga tgctttaaac tggg 24
 <210> 141
 <211> 28
 <212> ADN
 15 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 <400> 141
 ggttaatcga gagatgtttt gtggtagg 28
 20 <210> 142
 <211> 23
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 25 <223> Cebador
 <400> 142
 cgatgacaca gagcaagaac gac 23
 <210> 143
 <211> 23
 30 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 <400> 143
 35 cgcggtata tgtgtagcaa tcg 23
 <210> 144
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 40 <220>
 <223> Cebador
 <400> 144
 cggcaacgcc agttccc 17
 <210> 145
 45 <211> 26
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 50 <400> 145
 ctaacaggca aacaataaca ggttgc 26
 <210> 146
 <211> 24
 <212> ADN
 55 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 <400> 146
 ggaagatgtg agccaccta aagc 24
 60 <210> 147

<211> 26
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 5 <223> Cebador
 <400> 147
 aaaggtactg acagaaagag ctgccc 26
 <210> 148
 <211> 23
 10 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 <400> 148
 15 agatacactg ggaggaggat ggg 23
 <210> 149
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 20 <220>
 <223> Cebador
 <400> 149
 cggcaaaatt cattcctga gc 22
 <210> 150
 25 <211> 24
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 30 <400> 150
 aacatatagc caaaggactc ttcg 24
 <210> 151
 <211> 20
 <212> ADN
 35 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 <400> 151
 aggatacaca atgaccaac 20
 40 <210> 152
 <211> 27
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 45 <223> Cebador
 <400> 152
 tttatcgac ctgaggaac aattagg 27
 <210> 153
 <211> 20
 50 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 <400> 153
 55 tggtcactag gtggaaagag 20
 <210> 154
 <211> 26
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 60 <220>

<223> Cebador
 <400> 154
 agtacaatac cgagaaatcc gacaag 26
 <210> 155
 5 <211> 27
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 10 <400> 155
 gctcaattaa tggaacagta gttaccc 27
 <210> 156
 <211> 19
 <212> ADN
 15 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 <400> 156
 cgtgtgtgtt ggtccctcg 19
 20 <210> 157
 <211> 23
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 25 <223> Cebador
 <400> 157
 gcacactgtc ttttctcc acc 23
 <210> 158
 <211> 27
 30 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 <400> 158
 35 gcaactgttt cattaacagg cacatcc 27
 <210> 159
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 40 <220>
 <223> Cebador
 <400> 159
 gccagcgcta atacaaggat gtgg 24
 <210> 160
 45 <211> 23
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 50 <400> 160
 gcagtgaag ccatatcaa agc 23
 <210> 161
 <211> 22
 <212> ADN
 55 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 <400> 161
 tcgttcatt cgtgaagaat gc 22
 60 <210> 162

<211> 23
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 5 <223> Cebador
 <400> 162
 gctacgaaag ataatggtgc agc 23
 <210> 163
 <211> 20
 10 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 <400> 163
 15 agcaaaccat tcgtccatcc 20
 <210> 164
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 20 <220>
 <223> Cebador
 <400> 164
 atgtggaaaa cggtagcaa gtgg 24
 <210> 165
 25 <211> 25
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 30 <400> 165
 acgattctgt catcatcatt ttcgc 25
 <210> 166
 <211> 26
 <212> ADN
 35 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 <400> 166
 tgaaatgcct gagatcacta aaatcg 26
 40 <210> 167
 <211> 27
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 45 <223> Cebador
 <400> 167
 ggaatggta aaccactga tcatctc 27
 <210> 168
 <211> 27
 50 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 <400> 168
 55 atgccagttt aagagcaata gaaatgg 27
 <210> 169
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 60 <220>

<223> Cebador
 <400> 169
 gggaactggc gttgccg 17
 <210> 170
 5 <211> 23
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 10 <400> 170
 gaagatgtga gccacctaa agc 23
 <210> 171
 <211> 22
 <212> ADN
 15 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 <400> 171
 gctcaaggaa tgaatttgc cg 22
 20 <210> 172
 <211> 21
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 25 <223> Cebador
 <400> 172
 tcccttgact ttaataccct c 21
 <210> 173
 <211> 25
 30 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 <400> 173
 35 ggaacataag atttaactcc gcctc 25
 <210> 174
 <211> 34
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 40 <220>
 <223> Cebador
 <400> 174
 aaactcgaga agcttggtca taatcatcaa tcag 34
 <210> 175
 45 <211> 31
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 50 <400> 175
 aaaggtaccc atgtactact acatcatctc c 31
 <210> 176
 <211> 33
 <212> ADN
 55 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 <400> 176
 aaactcgaga agcttggtga actaagccag cgc 33
 60 <210> 177

<211> 27
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 5 <223> Cebador
 <400> 177
 aaaggtacca ctggaatata tcaccgc 27
 <210> 178
 <211> 29
 10 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 <400> 178
 15 aaaggatcct ttgagtaatg gtgaaaaga 29
 <210> 179
 <211> 30
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 20 <220>
 <223> Cebador
 <400> 179
 aaaggtacca acatctactc tcgaggattg 30
 <210> 180
 25 <211> 33
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 30 <400> 180
 aaactcgaga agcttagga gggatgtcc ggc 33
 <210> 181
 <211> 28
 <212> ADN
 35 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 <400> 181
 aaaggtacct taactccgcc tcggctcc 28
 40 <210> 182
 <211> 27
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 45 <223> Cebador
 <400> 182
 aaaggatcct tcagtcatt catggcg 27
 <210> 183
 <211> 33
 50 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 <400> 183
 55 aaaggtaccg ttcatagtaa ataataacag gcg 33
 <210> 184
 <211> 37
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 60 <220>

<223> Cebador
 <400> 184
 aaactcgaga agcttatgat catgagtaac ttatgga 37
 <210> 185
 5 <211> 28
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 10 <400> 185
 aaaggtaccc caacaggcca ttccgttg 28
 <210> 186
 <211> 30
 <212> ADN
 15 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 <400> 186
 aaaggatcct ggcagatcct tatgaattcc 30
 20 <210> 187
 <211> 32
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 25 <223> Cebador
 <400> 187
 aaaggtacct tatgatagga agcagcttat tc 32
 <210> 188
 <211> 30
 30 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 <400> 188
 35 aaaggatccg aaattgacga gacaatatgg 30
 <210> 189
 <211> 32
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 40 <220>
 <223> Cebador
 <400> 189
 aaaggtaccc attcaaaaac gaatatgtgt gc 32
 <210> 190
 45 <211> 31
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 50 <400> 190
 aaaggatccc ctaagagaga tcctccaact g 31
 <210> 191
 <211> 36
 <212> ADN
 55 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 <400> 191
 aaaggtagca atacaagtat gaaaacaaga gaataa 36
 60 <210> 192

```

<211> 22
<212> ADN
<213> secuencia artificial
<220>
5 <223> Cebador
<400> 192
gaggtgttca ttgcatgtc aa      22
<210> 193
<211> 22
10 <212> ADN
<213> secuencia artificial
<220>
<223> Cebador
<400> 193
15 gtttcgcaag ctctgcata gt      22
<210> 194
<211> 39
<212> AND
<213> Secuencia artificial
20 <220>
<223> Cebador
<220>
<221> misc_feature
<222> (12)_(12)
25 <223> n is a, c, g, o t
<220>
<221> misc_feature
<222> (38)..(38)
<223> V = A, C or G
30 <222>(39)(39)

<223> N = A/T or C/G
<400> 194
attctagatc cracatgttt tttttttt ttttttvn      39
35

```

REIVINDICACIONES

1. Una molécula de ácido nucleico aislada que comprende un grupo de genes que codifica dos o más polipéptidos implicados en la biosíntesis de alcaloides opiáceos o intermedios, en donde uno de dichos dos genes comprende una secuencia de nucleótidos seleccionada del grupo que consiste en:
 - i) una secuencia de nucleótidos como se expone en la SEQ ID NO: 9;
 - ii) una secuencia de nucleótidos donde dicha secuencia está degenerada como resultado del código genético de la secuencia de nucleótidos definida en (i);
 - 10 iii) una molécula de ácido nucleico cuya cadena complementaria se hibrida en condiciones de hibridación rigurosas con la secuencia en la SEQ ID NO: 9 y que codifica un polipéptido que tiene actividad deshidrogenasa/reductasa de cadena corta; y
 - iv) una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos como se expone en la SEQ ID NO: 19 o una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido que tiene una
 - 15 identidad de secuencia de aminoácidos del 46% a través de la secuencia de aminoácidos de longitud completa expuesta en la SEQ ID NO: 19 donde dicho polipéptido tiene actividad deshidrogenasa/reductasa de cadena corta.
2. Un polipéptido aislado seleccionado del grupo que consiste en:
 - i) un polipéptido que comprende o que consiste en una secuencia de aminoácidos como se representa en SEQ ID NO: 19; o
 - ii) un polipéptido modificado que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos modificada donde dicho polipéptido se modifica por adición, delección o sustitución de al menos un residuo de aminoácido de la
 - 25 secuencia presentada en la EQ ID NO: 19 y que ha retenido o mejorado la actividad de deshidrogenasa/reductasa de cadena corta; o
 - iii) un polipéptido modificado que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos un 46% idéntica a la secuencia de aminoácidos de longitud completa en la EQ ID NO: 19 y que codifica un polipéptido con actividad deshidrogenasa/reductasa de cadena corta.
3. La molécula de ácido nucleico aislada de acuerdo con la reivindicación 1, donde la molécula de ácido nucleico incluye además una o más secuencias de nucleótidos seleccionadas del grupo que consiste en:
 - i) una secuencia de nucleótidos representada por la secuencia en la SEQ ID NO: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 o 10;
 - 35 ii) una secuencia de nucleótidos donde dicha secuencia está degenerada como resultado del código genético de la secuencia de nucleótidos definida en (i);
 - iii) una molécula de ácido nucleico cuya cadena complementaria se hibrida en condiciones de hibridación rigurosas con la secuencia en la SEQ ID NO: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 o 10 donde dicha molécula de ácido nucleico codifica polipéptidos implicados en la biosíntesis de alcaloides opiáceos de *P. somniferum* o intermedios en la
 - 40 biosíntesis de alcaloides opiáceos;
 - iv) una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos como se representa en SEQ ID NO: 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18 y 20.
 - v) una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos donde dicha secuencia de aminoácidos se modifica por adición, delección o sustitución de al menos un residuo de aminoácido como se representa en iv) anterior y que ha retenido o mejorado la actividad biosintética del alcaloide opiáceo .
 - 45
4. La molécula de ácido nucleico de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 o 3, donde dicha molécula de ácido nucleico incluye la SEC ID NO: 9 y además incluye una o más secuencias de nucleótidos seleccionadas del grupo que consiste en: SEQ ID NO. 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 y 10.
5. La molécula de ácido nucleico de acuerdo con la reivindicación 1 o 3, donde dicha molécula de ácido nucleico incluye 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 secuencias de nucleótidos seleccionadas del grupo que consiste en: SEQ ID NO: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 y 10.
- 55
6. La molécula de ácido nucleico de acuerdo con la reivindicación 5, donde dicha molécula de ácido nucleico incluye cada una de las secuencias de nucleótidos como se representa en la SEC ID NO: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 y 10.
- 60
7. Un vector que comprende la molécula de ácido nucleico de cualquiera de las reivindicaciones 1, 3-

- 6.
8. Una célula transgénica transformada o transfectada con un vector de acuerdo con la reivindicación 7.
- 5 9. La célula transgénica según la reivindicación 8, donde dicha célula es una célula vegetal o célula microbiana.
10. Una molécula de ácido nucleico que comprende un casete de transcripción donde dicho casete incluye la secuencia de nucleótidos SEQ ID NO: 9 y está adaptado para la expresión mediante la provisión de al menos un promotor unido operativamente a dicha secuencia de nucleótidos de modo que las moléculas sentido y antisentido se transcriban a partir de dicho casete.
11. Un proceso para la modificación de uno o más alcaloides opiáceos que comprende:
15 i) proporcionar una célula vegetal transgénica según 9;
ii) cultivar dicha célula vegetal para producir una planta transgénica; y opcionalmente
iii) cosechar dicha planta transgénica, o parte de la misma.
- 20 12. Un proceso para la modificación de uno o más alcaloides opiáceos o metabolitos intermedios de alcaloides opiáceos que comprende:

i) proporcionar una célula microbiana transgénica según la reivindicación 9 que expresa una o más moléculas de ácido nucleico de acuerdo con la invención en cultivo con al menos un alcaloide opiáceo o un metabolito intermedio de alcaloide opiáceo;
25 ii) cultivar la célula microbiana en condiciones que modifican uno o más alcaloides opiáceos o alcaloides opiáceos intermedios; y opcionalmente
iii) aislar dicho alcaloide opiáceo o intermedio alcaloide opiáceo de la célula microbiana o cultivo celular.
- 30 13. El uso de un gen codificado por una molécula de ácido nucleico que comprende o que consiste en la secuencia de nucleótidos SEQ ID NO: 9, o una molécula de ácido nucleico que se hibrida en condiciones de hibridación rigurosas con la secuencia de nucleótidos en la SEQ ID NO: 9 y codifica un polipéptido con actividad de deshidrogenasa/reductasa de cadena corta como un medio para identificar un locus donde dicho locus está asociado con la expresión o actividad alterada de dicha actividad biosintética del alcaloide opiáceo.
- 35 14. Una planta de *P. somniferum* que tiene una expresión alterada de un polipéptido de deshidrogenasa/reductasa de cadena corta según la reivindicación 2, que comprende los pasos de:

i) mutagénesis de semillas de tipo silvestre de una planta de *P. somniferum* que expresa dicho polipéptido de deshidrogenasa/reductasa de cadena corta;
40 ii) cultivo de la semilla en i) para producir las primeras y posteriores generaciones de plantas;
iii) obtener semilla de la planta de la primera generación y las siguientes generaciones de plantas; y
iv) determinar si la semilla de dicha primera y siguientes generaciones de plantas tiene una secuencia de nucleótidos alterada y / o una expresión alterada de dicho polipéptido de deshidrogenasa/reductasa de cadena
45 corta.
15. Un procedimiento para el análisis de una planta, que comprende

i) obtener una muestra de la planta de acuerdo con la reivindicación 14 y analizar la secuencia de ácido nucleico de una molécula de ácido nucleico seleccionada del grupo que consiste en:
50

a) una molécula de ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos como se representa en 9;
b) una molécula de ácido nucleico que se hibrida con la molécula de ácido nucleico en a) bajo condiciones de hibridación rigurosas y que codifica un polipéptido con actividad biosintética de alcaloides; y opcionalmente
55 c) comparar la secuencia de nucleótidos de la molécula de ácido nucleico en dicha muestra con una secuencia de nucleótidos de una molécula de ácido nucleico de la planta original de tipo salvaje y donde la molécula de ácido nucleico se analiza mediante un método que comprende los pasos:

ii) extraer ácido nucleico de dichas plantas mutadas;
60 iii) amplificación de una parte de dicha molécula de ácido nucleico mediante una reacción en cadena de la

polimerasa;

iv) formar una preparación que comprende el ácido nucleico amplificado y el ácido nucleico extraído de la semilla de tipo silvestre para formar ácido nucleico heterodúplex;

- 5 v) incubar dicha preparación con una nucleasa monocatenaria que corta en una región de ácido nucleico heterodúplex para identificar la falta de coincidencia en dicho heterodúplex; y
vi) determinar el sitio del desapareamiento en dicho heterodúplex de ácido nucleico.

16. Un vector viral que comprende una molécula de ácido nucleico según la reivindicación 1.

Figura 1

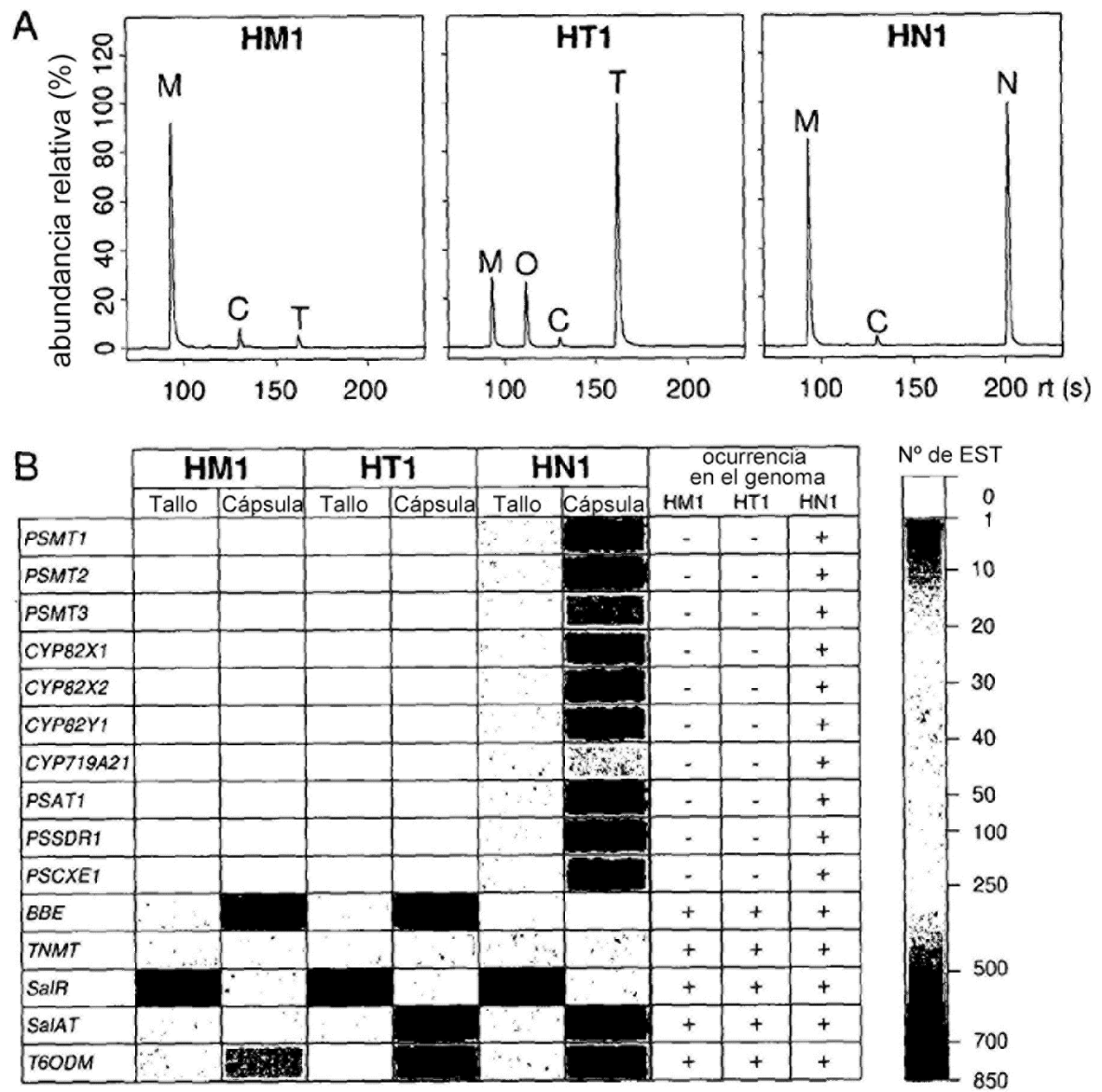


Figura 2

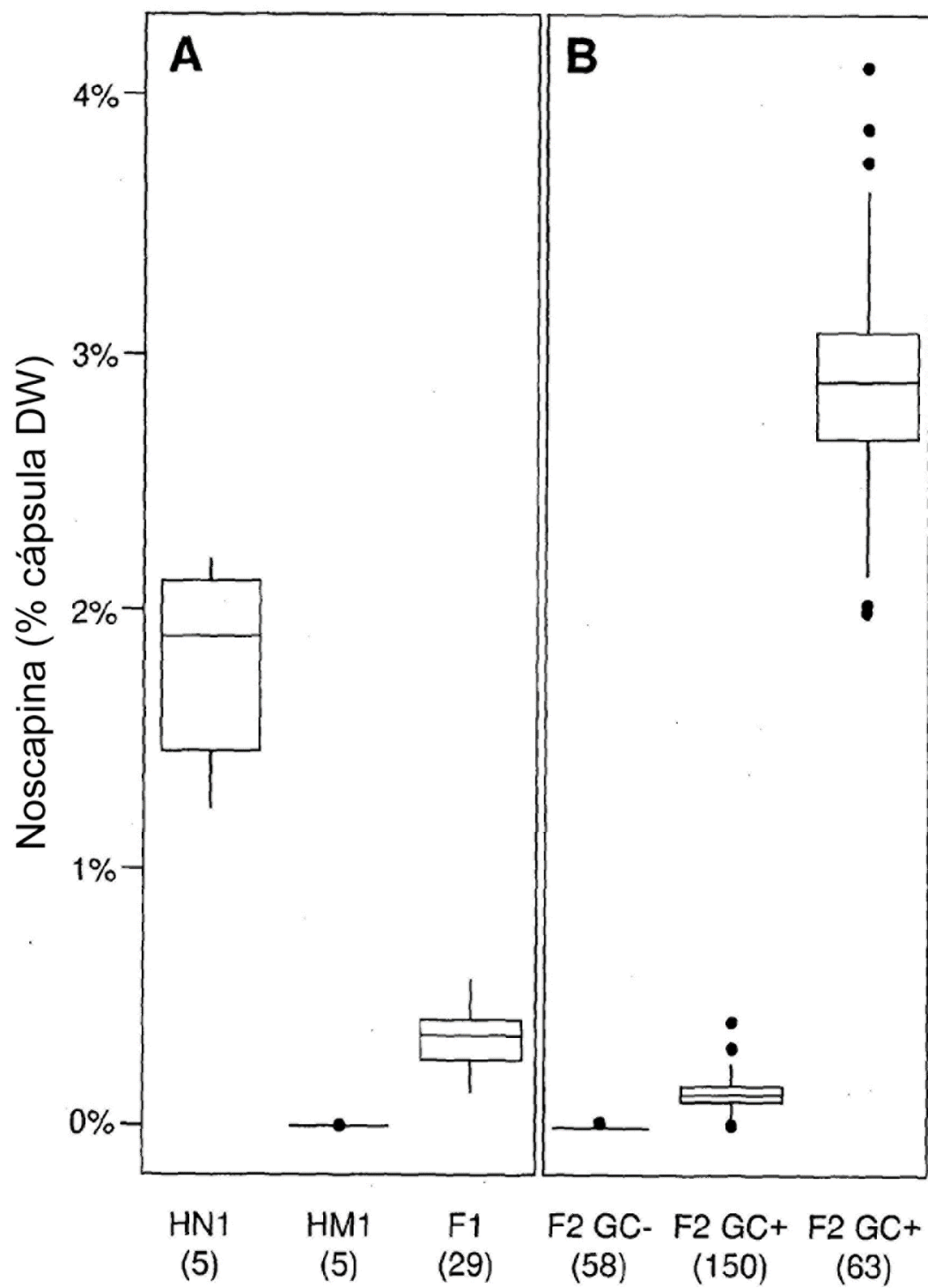


Figura 3

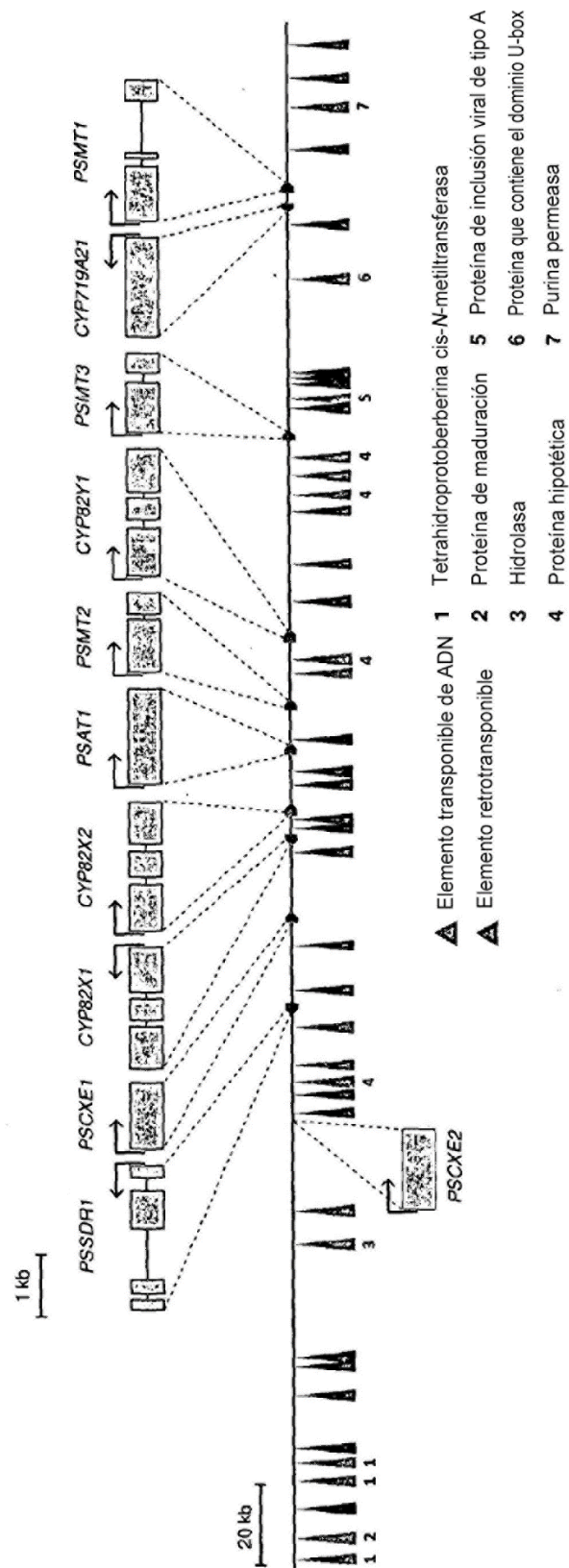
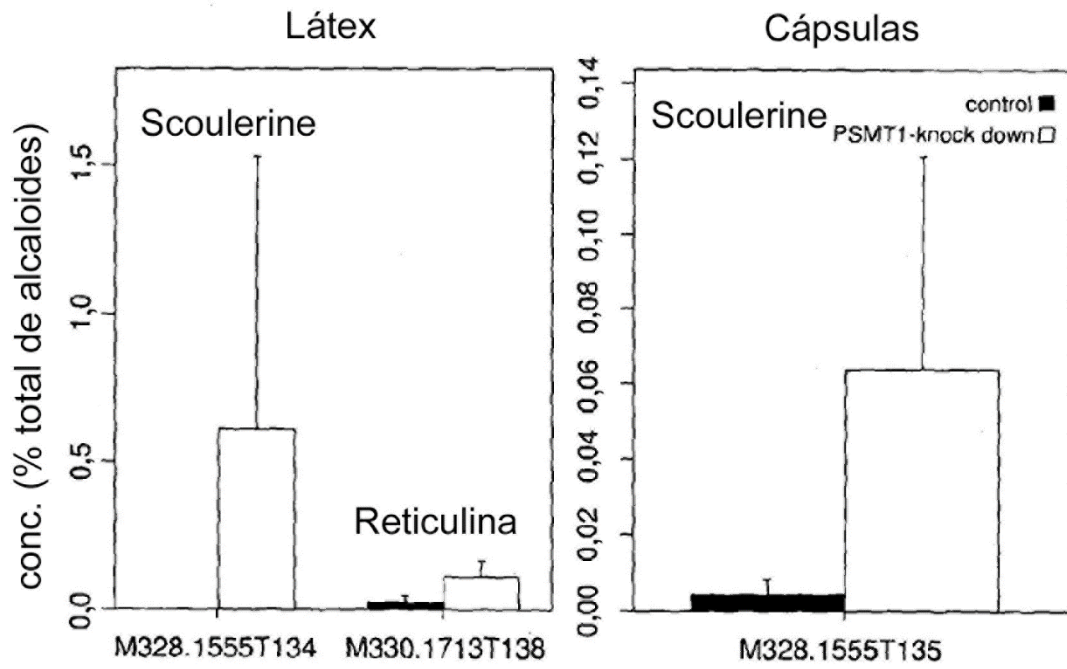


Figura 4

A PSMT1



B CYP719A21

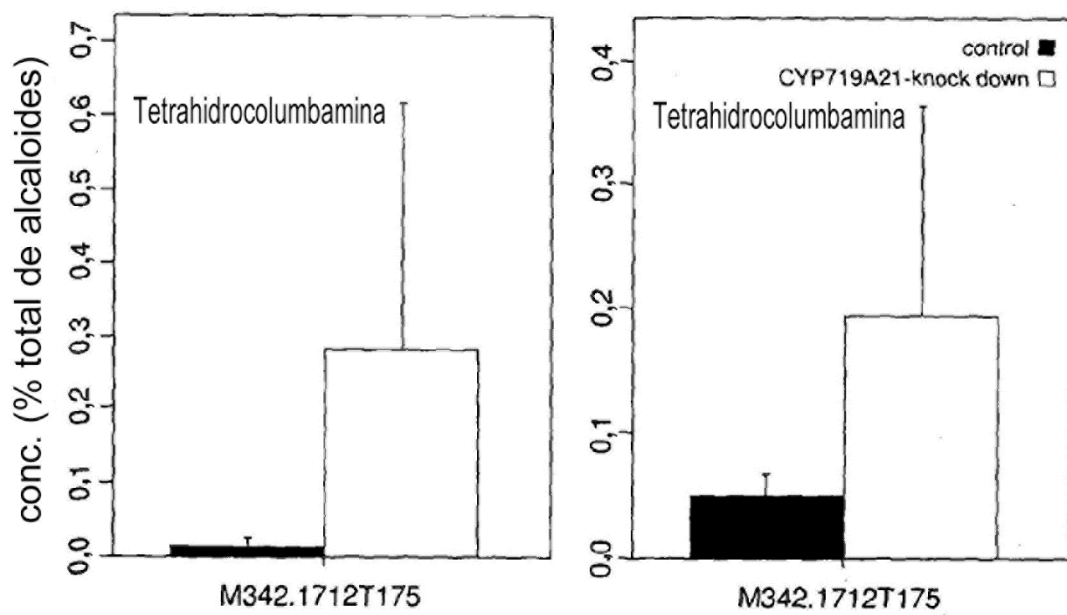


Figura 4 (cont 1)

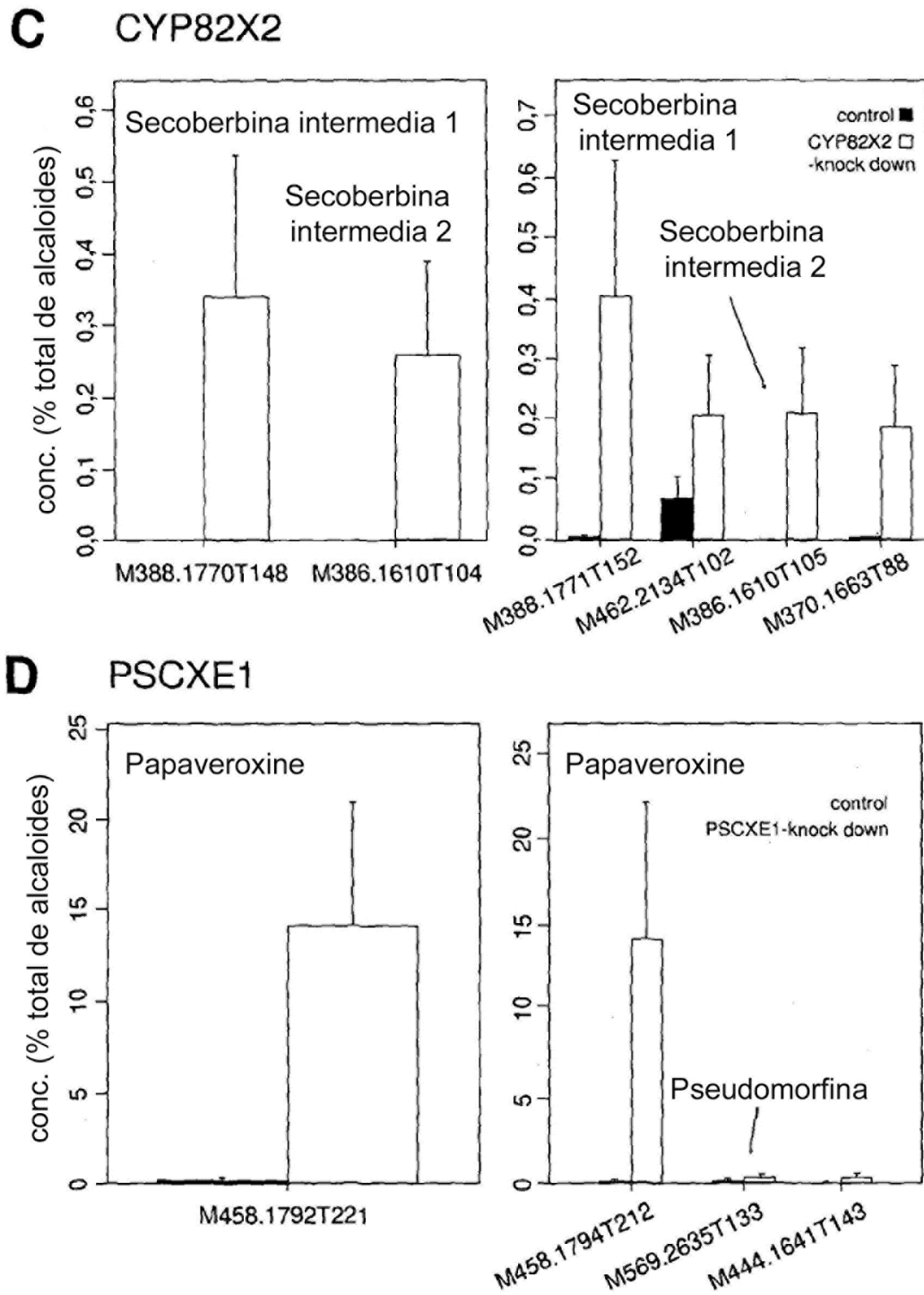
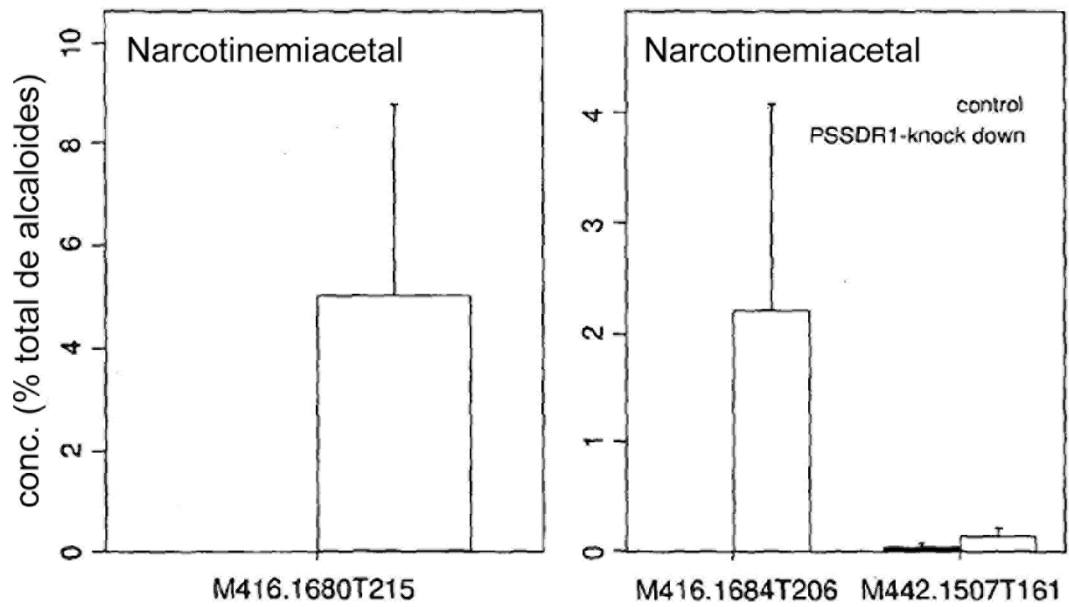


Figura 4 (cont 2)

E PSSDR1



F PSMT2

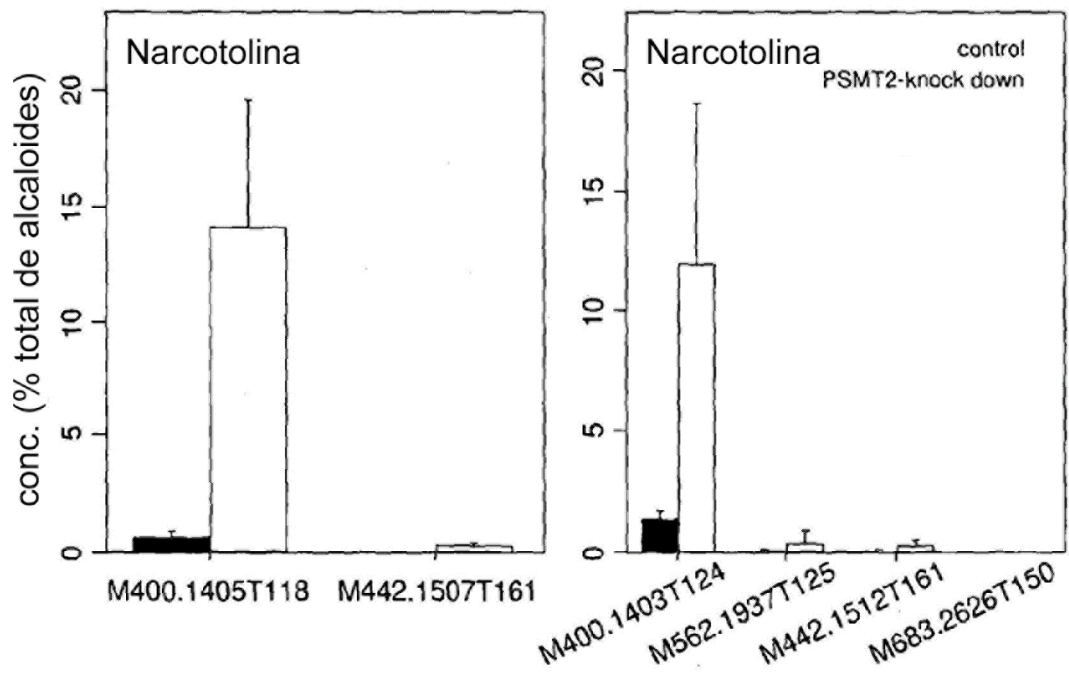


Figura 4 (cont 3)

G

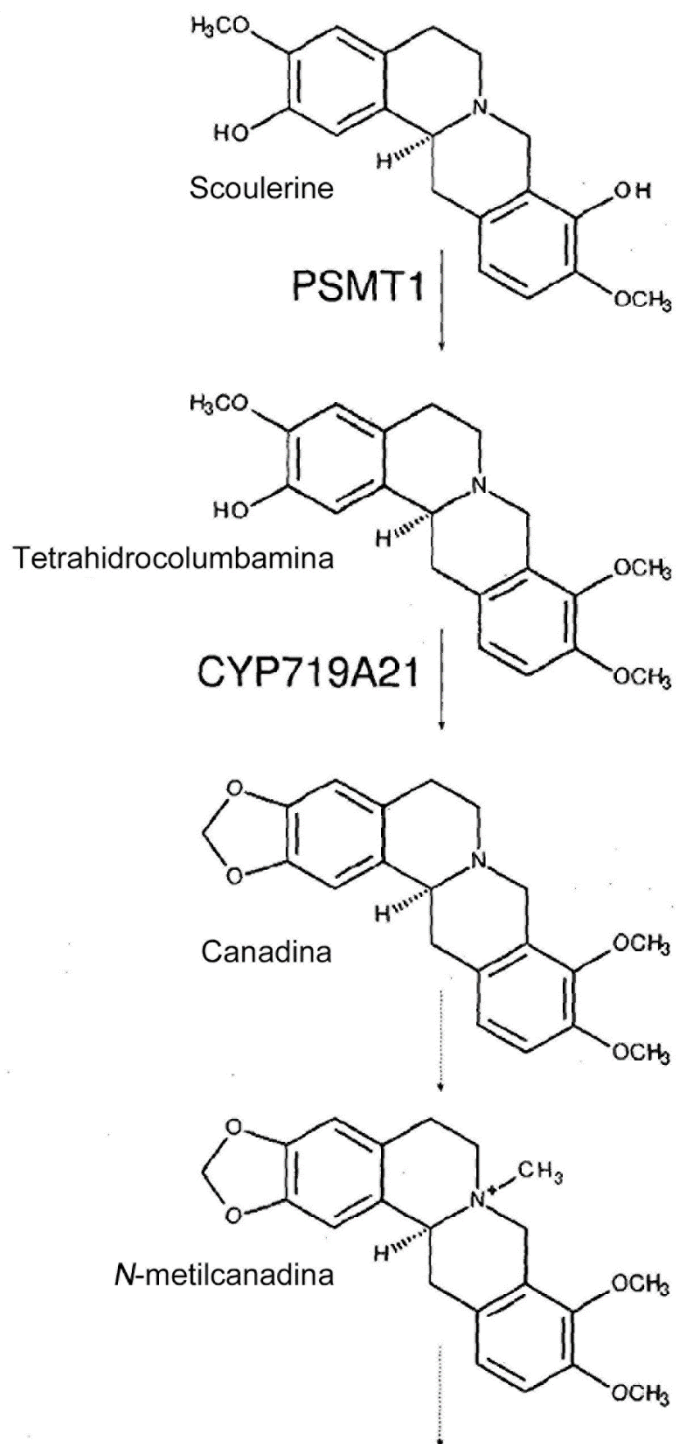


Figura 4 (cont 4)

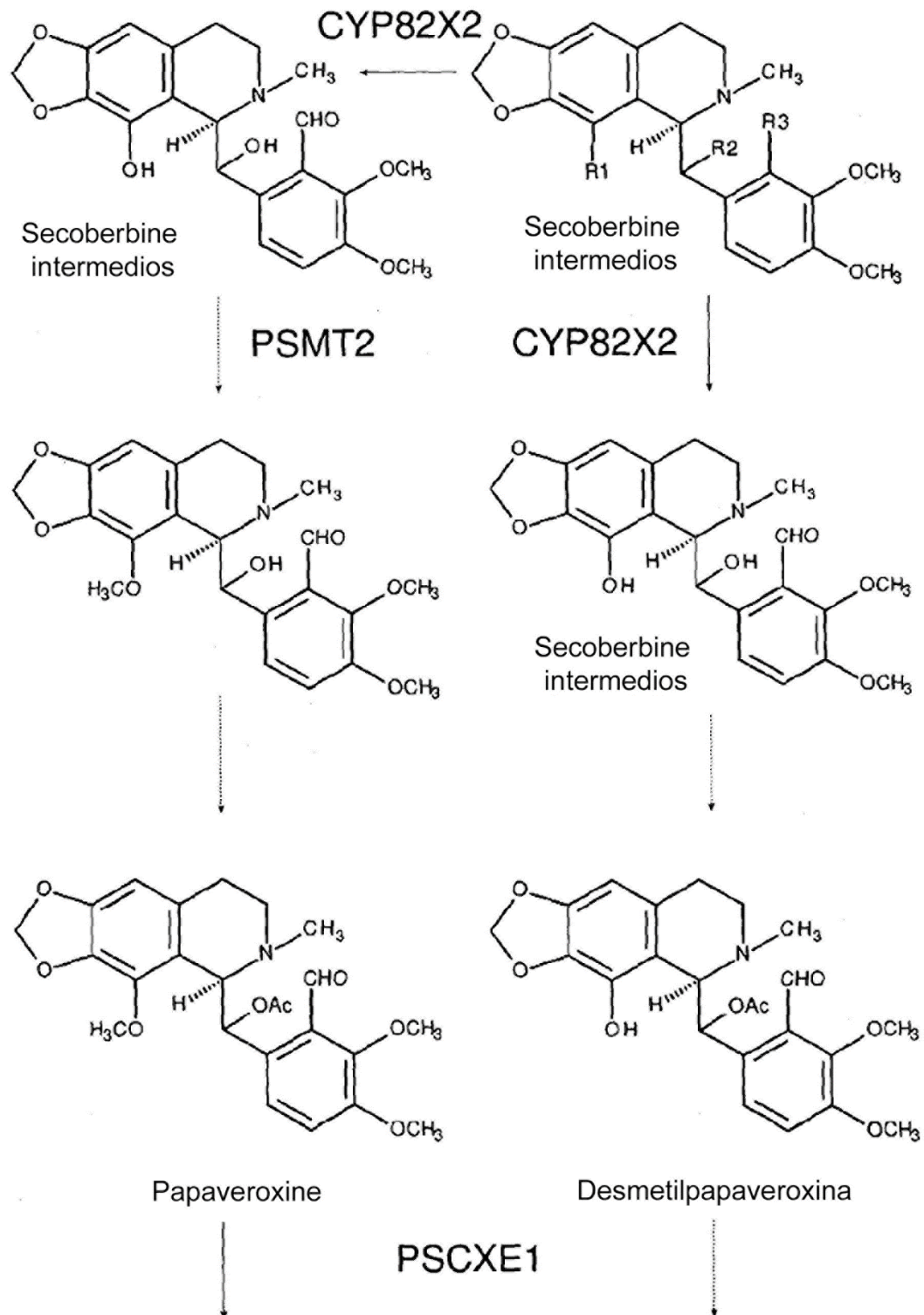


Figura 4 (cont 5)

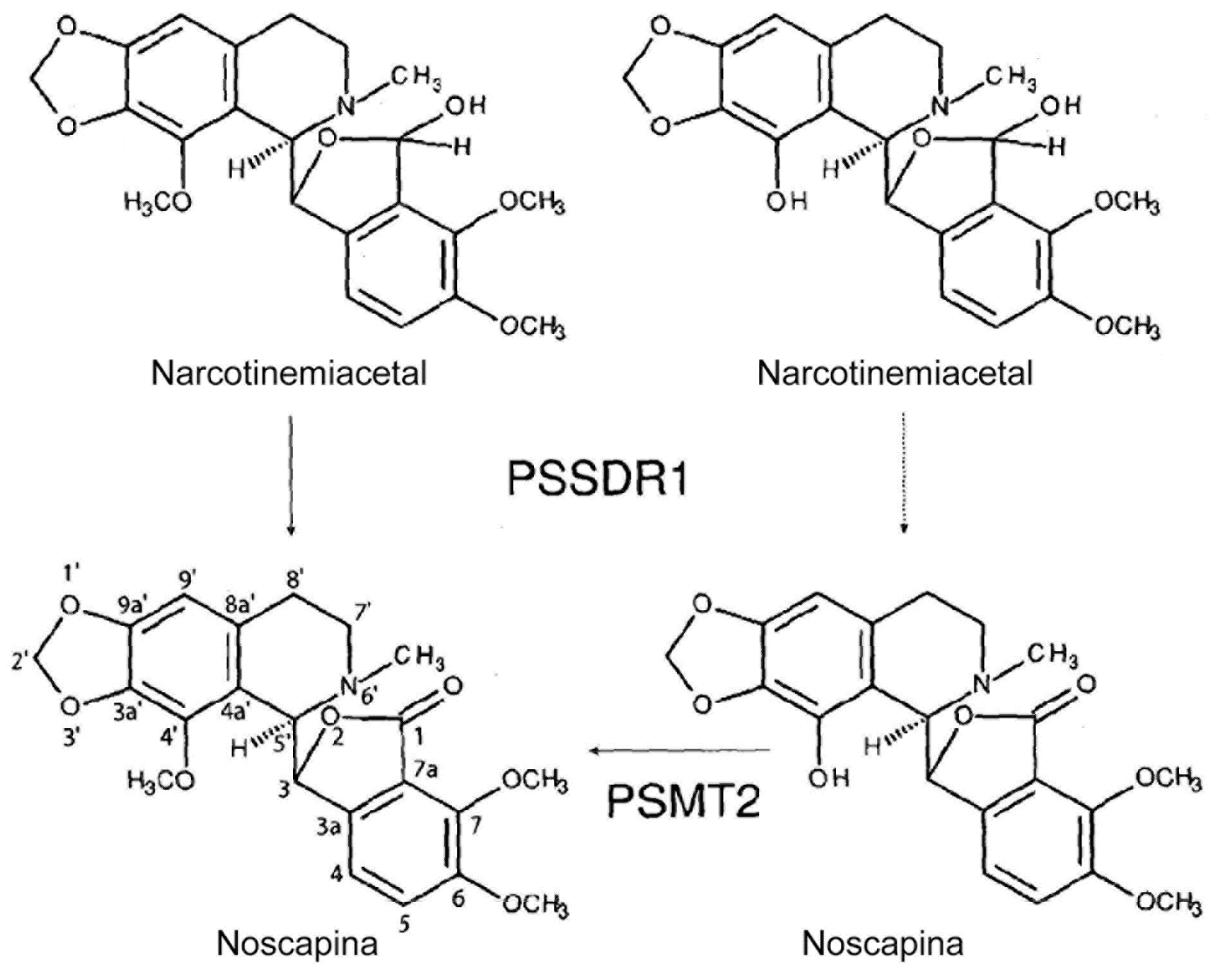


Figura 5

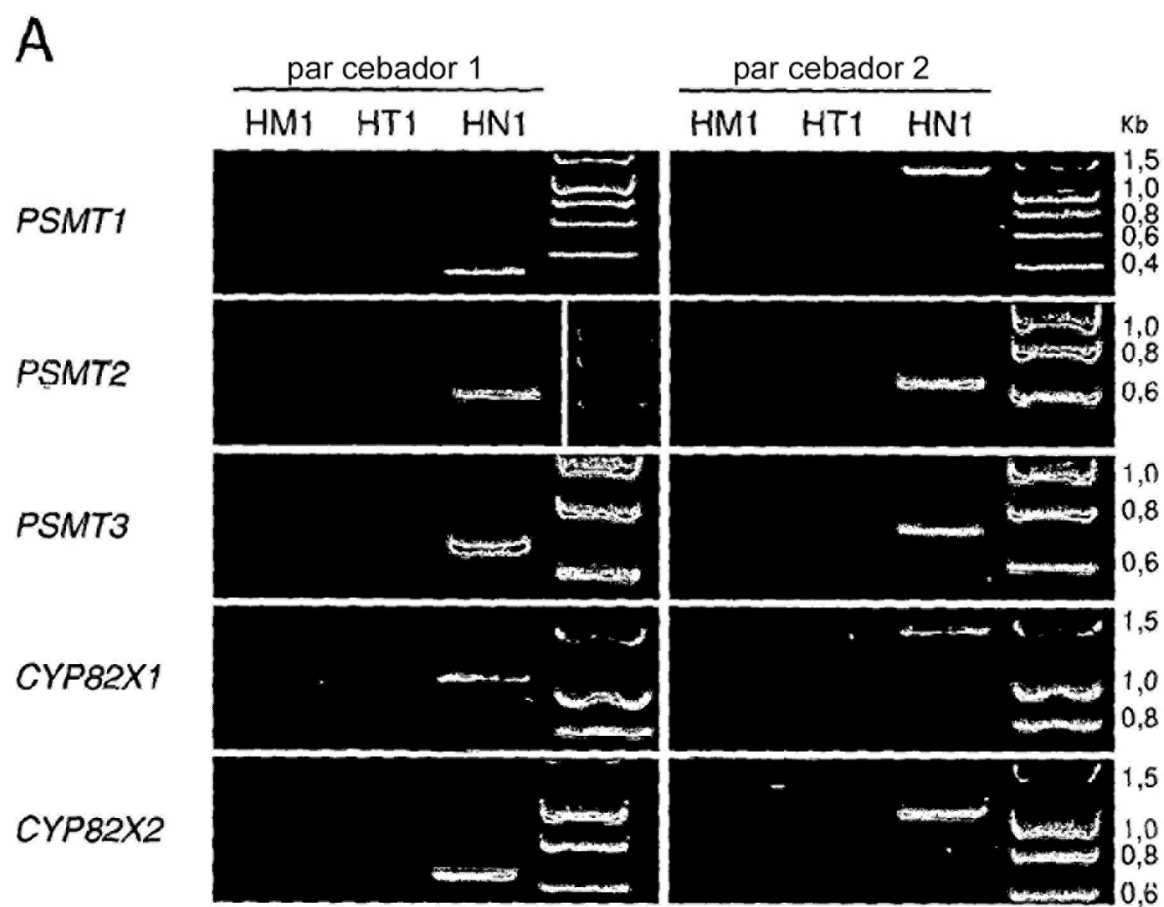


Figura 5 (cont 1)

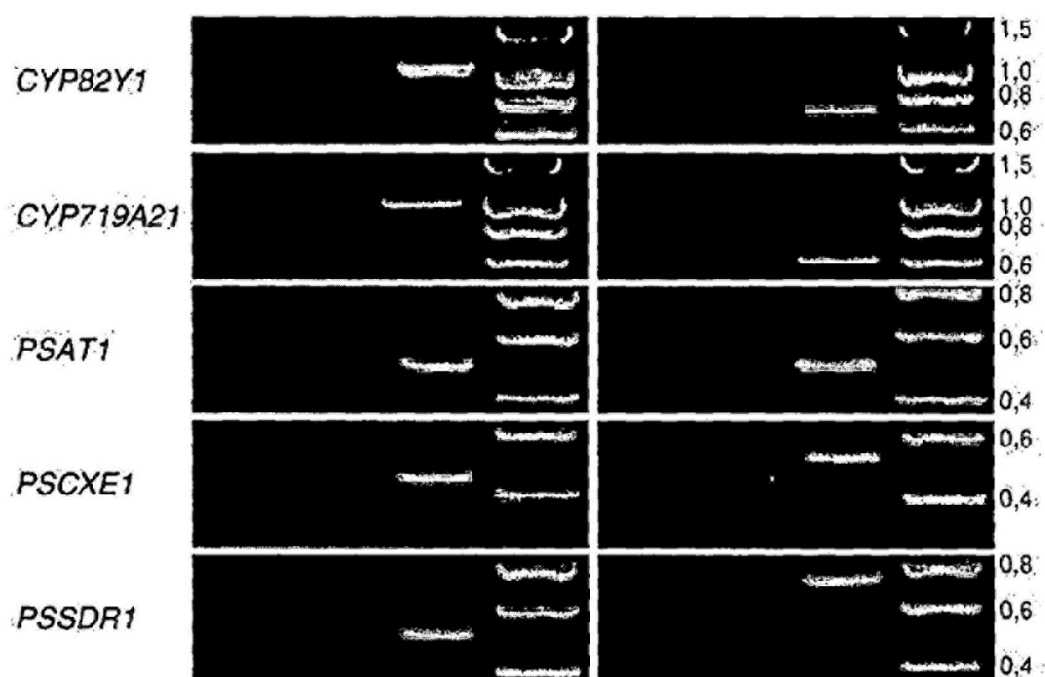


Figura 5 (cont 2)

B

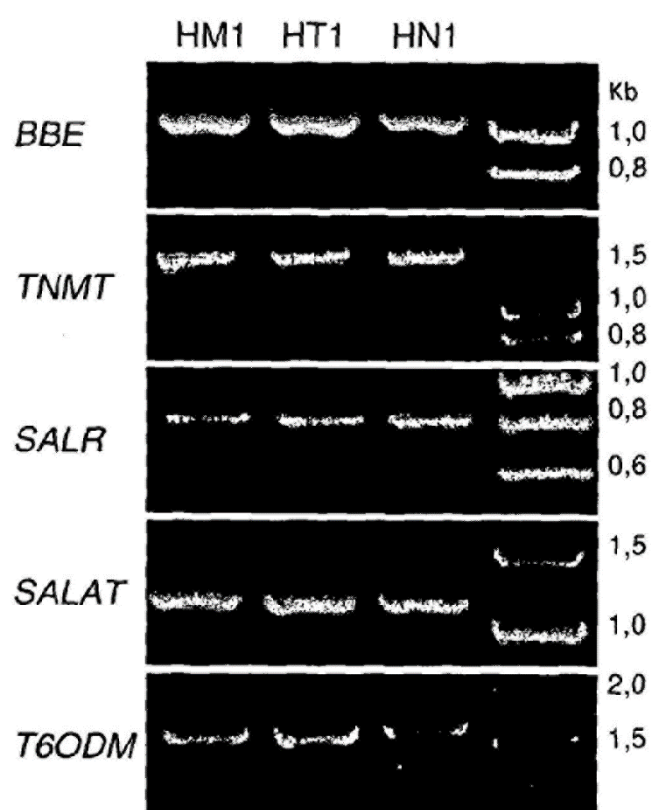
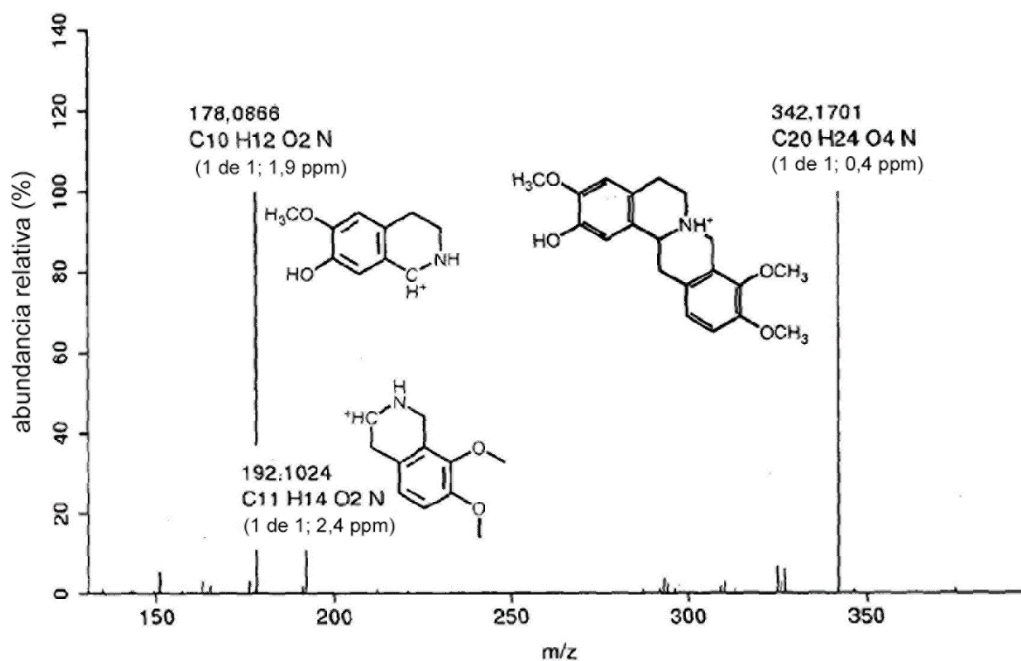


Figura 6

A



B

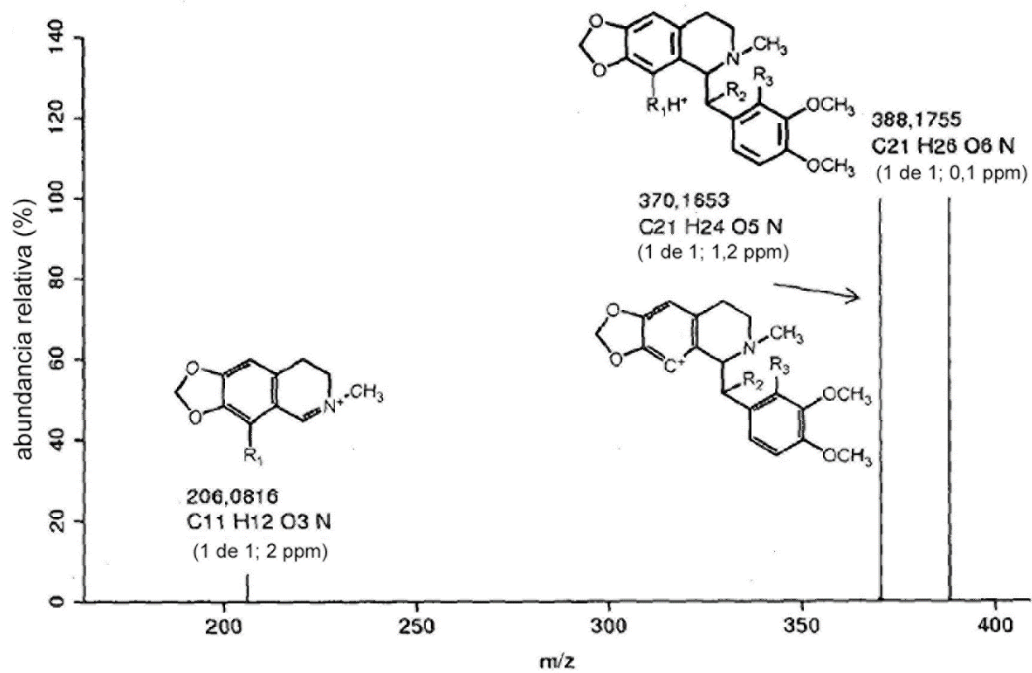
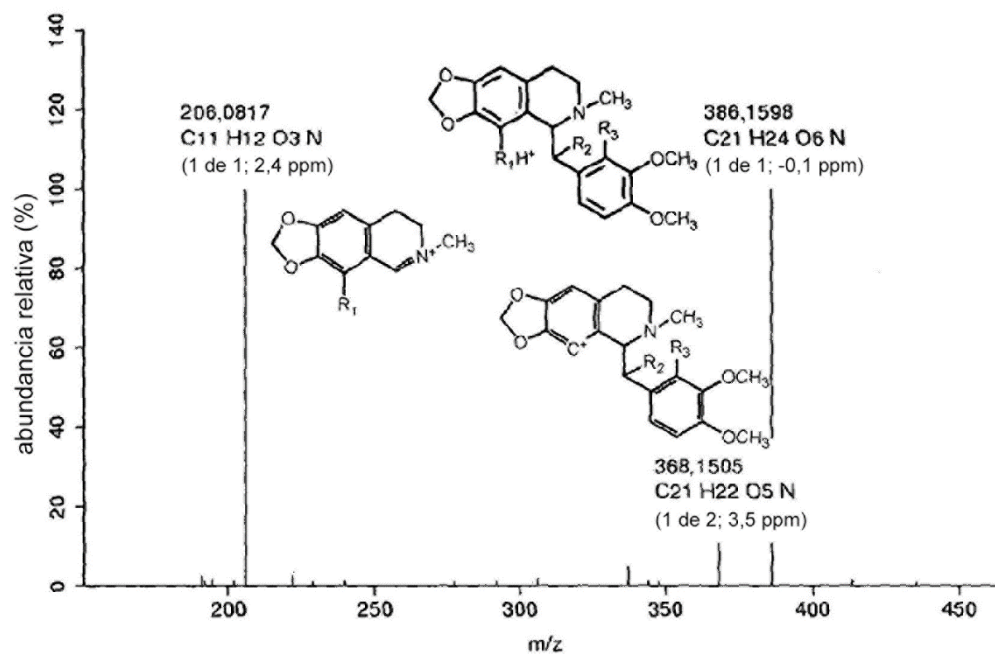


Figura 6 (cont 1)

C



D

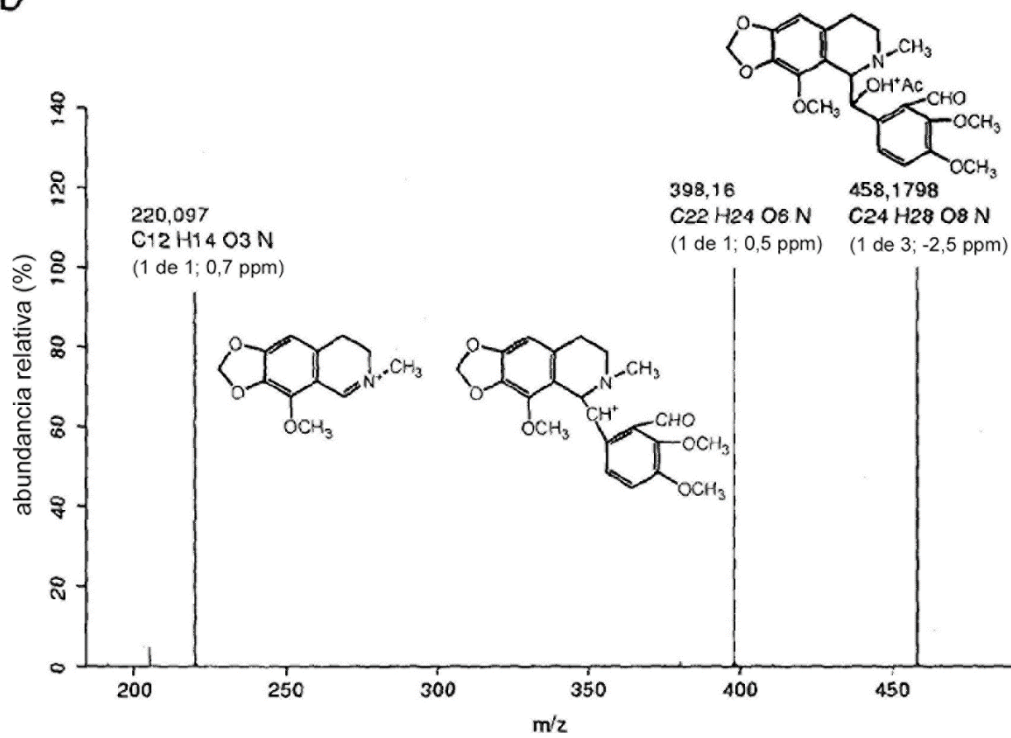
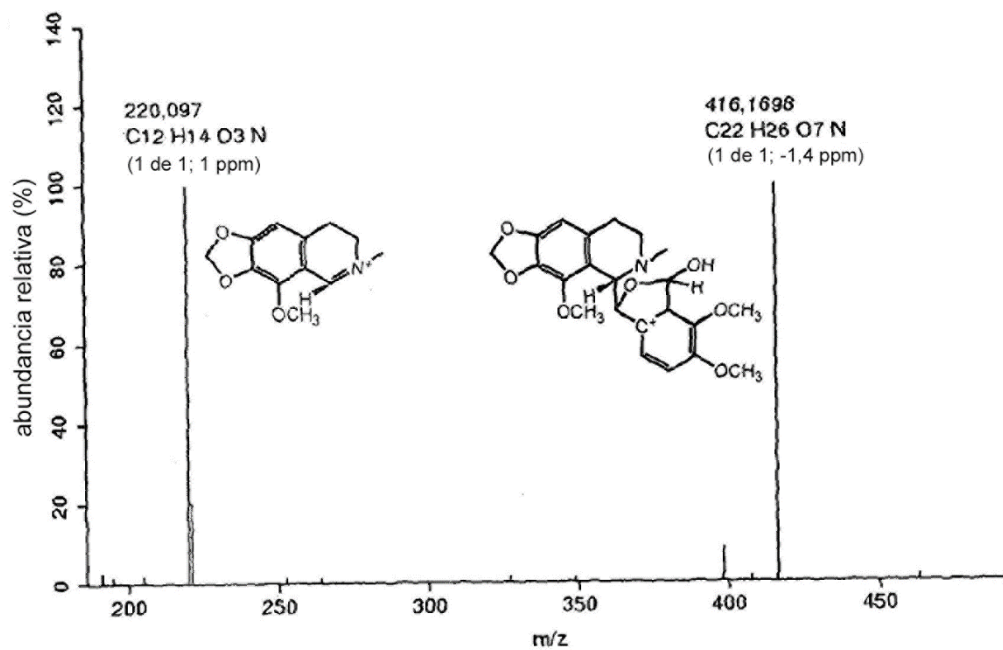
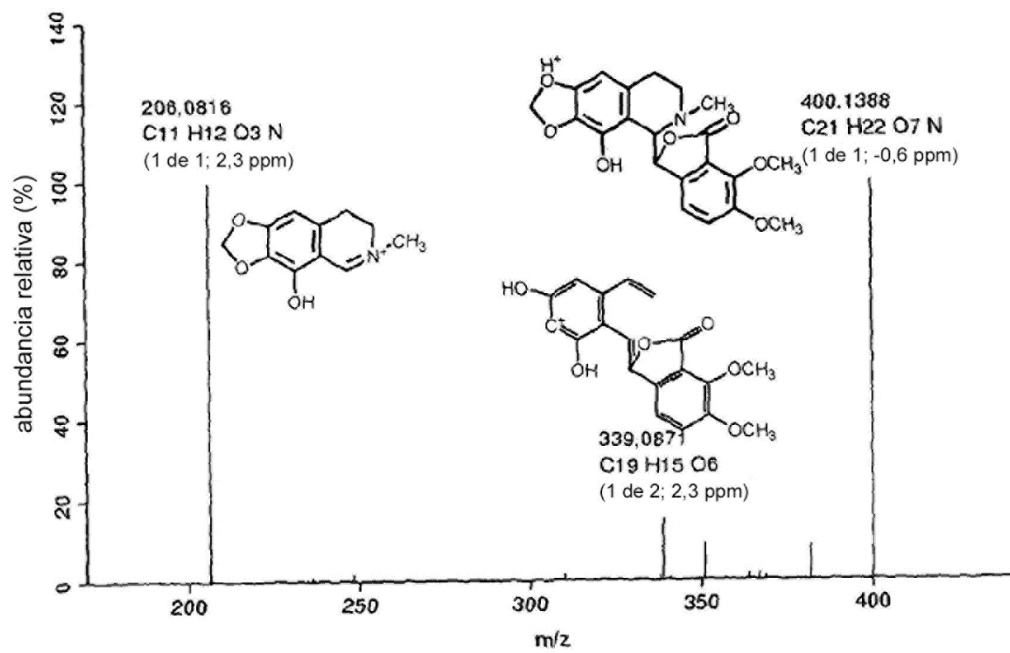


Figura 6 (cont 2)

E



F



SEQ ID NO: 1 PSMT1

Comienzo	Fin	Característica
1	66	región no traducida 5'
67	877	exon 1
878	993	intrón 1
994	1058	exon 2
1059	1841	intrón 2
1842	2138	exon 3
2139	2306	región no traducida 3'

> PSMT1

CACACCAAACCTTGATCATTGTCATAAAAAACAGTCCTAATTGTCATCAATCAAAAACAGTCCTAACATGGCTACC
AATGGCGAAATTTTCAATACCTATGGTCATAATCATCAATCAGCCACAGTCACTAAAATCACTGCTTCTAATGAA
AGCAGCAATGGTGTCTGTTATCTTTTCAGAAACGGCTAACTTGGGGAAGTTAATATGCATTCCAATGGCCTAAGA
GCTGCGATGGAGCTAAATGTGTTCCAACCTTATCTCAAAGTTCCGGAAGTACGCAAAAAGTTTCGGCTTCTGAAAT
GCCTCTAAAATGCCAAACGCGAAGAATAATCCTGAAGCAGCTATGTATTTGGATAGAATCTTCGACTGCTCGGG
GCAAGTTCTATTCTTTCTGTTTCTACTACAAAAAATCAATCAACAGAGGAGGAGATGATGTAGTAGTACATGAG
AAGCTTTATGGGTTAACAAATTCGTGCTGTTGTTTGGTCCCTCGACAAGAAGACGGGGTGTCAATAGTCGAAGAA
TTGCTATTACATCTGACAAGGTGTTGTTGGATAGTTTTTCAAACCTGAAATGTGTGGTGAAGAAAAAGACAGT
GTGCCATTTGAGGTTGCTCATGGTGCTAAAATCTTTGAGTATGCTGCTACAGAACCAAGAAATGAATCAAGTATTT
AACGATGGAATGGCAGTTTTCTCTATTGTTGTTTTGAGGCTGTTTTAGAGTTTACGATGGATTTCTTGATATG
AAAGAATTGTTAGATGTTGGTGGTGGTATTGGTACTTCGGTTAGTAAGATTGTTGCTAAAATACCCCTTTGATTGCG
GGTGTCAACTTCGACTTCGCTCATGTTATTTCTGTTGCCCCCTCAATACCCAGGTATACCTTCTTCTTTTTTTC
TGAAAAGAACGGGTTTCAATTTTTTACAGAATTTTTTCTCATTCGATACTCAAGCAACTCTATTAAAGTATACT
GTGTAATAATGCATGCAGGTGTAGAGCATGTTGCAGGAGATATGTTCGAGGAAGTCCCAAAGGGTCAAAACATGT
TGCTAAAAGTAAGCTAACCATACTCAATTTTCTTAATAATTAGGAAAATTGCAAAAACCGTCACAATATTATAAA
GGCATCTGAAGTGCCATCACTCAGATACCGATGCTATGTACTCTATACATTGACAAAATTCATGGTATCAAGTC
TCAACCTGCCGTTATAATAATTTTTTTCAGGCTTTCTTTAAAGAAATTTATTTGAATGGTAAAAATCATCAT
ATATTGGAGAAAAGTGCAGATCTTGCTACATTAAAAATTTATAATATAATAAAACATTTGTTTATGGTTGTTTGAA
AAAAAAATCTCATTGTTAATGCATCTTTCTAAGTTAATGGTGATTAATGGTGAATAATGATATCTTATTACC
GTCTTGACACTTTTTTTTTTGTCTGATAGACAAAATATTTCCAACCTTTCTATATTAATAAAATCAGAAATATTTCA
TTTATATGAATATTAATAAAGAGGTGCATGAGTAATATTCCAAATTTCTTAAAGCGTTTTTTATAGCAGTACG
GCGTTTTCTCAAATCTTATTAACCCATAATTAAGGGTTTTCCGTAAATTAATTTGAGGGATATCAAAACAAAAAC
AAAAAATAGGGTTATTTTGCAGTAAAAATCAATAACCCCTTATCATATGAAAAGGATAACTTAGTCTACCCCAATT
TGGAGAGATATGGGCAATTATTGTATTACTAGTTCTGTTGAGCATTGATAATTTTTTCATTAGATTTTACTCA
ATAAAATATATGAATATATTGATAAAGATTAAATATGCAGTGGGTACTGCACGATTGGGGTGATGAACGATGTG
TGAAGCTGTTAAAGAATTGTTGGAACCTATTACCTGTGGGTGGAAAAGTTTTGATAATCGAGTTTGTCTCCCGA
ATGAACCTGGTAACAATGCTGAATCATTCAATGCGTTGATTCCCGATTTACTCCTGATGGCTCTGAATCCAGGCG
GTAAAGAGCGAACGATTTCCGAATACGATGATTTAGGCAAAGCAGCTGGATTATATAAACTATACCTATCCCTA
TCTCCAATGGTCTTCATGTGATTGAGTTTCACAAATGAATGGTTATTGAGTGCTTTGGTAATTAACTACCAAGA
TAACTACATCCATTTATGCTTTTCTTTTTTCTTTTTTCTTTTTTCTTTTTTGTGTTTGTATTCCA
GGTGTGAAGTATGTTAGTGTGTTGAGTGGACAAAAGTAAGTAATCGIATTTTGTGTT

SEQ ID NO: 2 PSMT2

Comienzo	Fin	Característica
1	74	región no traducida 5'
75	851	exon 1
852	938	intrón
939	1232	exon 2
1233	1440	región no traducida 3'

> PSMT2

GAATCAGAAACTTTCTTCTAAAATCTTTCAATACCAGTACTGTTAGTTTCCGATAAGAGCCACACTAATCCATTA
 TGGAAATTCATTTAGAAAGCCAAGAACAAGAAATGAAATATCAATCTCAAATCTGGAACCAAATATGTGGCACTG
 TTGATACCTCTGTTCTGAGATGTGCAATTCATTAGGTATATTTGATGCCATTCATAACTCTGGCAAACCAATGA
 TTACCTTAACCGAATTATCAAGCATTGTTTCATCACCTCTTCATCTTCAATCGAACCTTGCAACTTGATAGAT
 TAGTGAGATACTTATCCCAAATGGATCTCATTAGTATCGGAGAATGTTTGAATGAAGCAACTGTTTCATTAAACAG
 GCACATCCAAGTTACTACTTAGAAACCAAGAAAAGAGTTTAAATTGATTGGGTATTGGCAATTTCTTGCGAAATGA
 TGGTTGTTGTTTGGCACGAACTAAGTAGCTCTGTTTCAACTCCTGCGGATGAGCCTCCAATCTTCCAGAAGGTTT
 ATGGTAAAAATGCTTTAGAATTAGCAGGGGAATTTCCAGAATGGAATGATCTGATCAACAATGCTATGACTAGTG
 ATACTAGTGTAACCTAAGCCAGCGCTAATACAAGGATGTGGCAAAATCCTGAACGGAGTTACATCGTTAATTGATG
 TCGGTGGTGGTCACGGTGCCACTATGGCCTACATAGTTGAAGCTTTTCTCACATAAAAGGTGCGGTAATCGATT
 TACCACATGTTGTTGAAGCCGCTCCGGAGCGTCCAGGTCTTGAGTTCATCAGCGGTGATATATTCAAGTCCATTT
 CTAACGCTGATGCTGTGTTGTTGAAGGTATGTAAAGAGTAGCTAACCTTAGTGCGTCTAATTTATCCACAAATT
 TTTCTGATGCATTTTATTCTTATTTTGGTTTTTGCAGTATGTCCTGCACAATTGGGAAGATACGGAATGTGTGA
 ATTTACTGAAGAGATGTAAGGAAGCAGTTCGGGCAGACAAAGGAAAAGTGATCATAATGGATTTAGTAATAGACG
 ACGATGATAACAGTATTTTAAACGCAGGCAAGTTGAGCCTTGATCTCACTGTGATGAACCATGGAGGAGGTAGAG
 AAAGGACTAAAGAAGATTGGAGAAATCTAATTGAGATGTCTGGATTTAGTAGGCATGAAATAAATCCAATATCTG
 CCATGCCATCAATTATTGTTGCTTATCCTTAGTTAAGTCACCCGCATGTTTACTTGAACGGGAATAAGTTGGGGG
 CGTGTTGAATCTGTTAACATCGCAATTGTGCCTTTACTTTATGCATTCTCATTCCGGTAGAAACTGTTTGGGGCA
 TTCGGATTCTGCTGAGCCCTTTTATGTATGTTTGTGTTGTTGGTTGGTTTCAAGTAACCTGAAGTTTCTTCT
 CTGTTTTCAAGGCAT

SEQ ID NO: 3 PSMT3

Comienzo	Fin	Característica
1	120	región no traducida 5'
121	846	exon 1
847	994	intrón
995	1288	exon 2
1289	1436	región no traducida 3'

> PSMT3

AAGTTGCAGGTAGGGTTATGAGCAAGCTCAATTATCTCTCCTATAAAAAGCTAACATTAGAAAACTAATAAGCAC
 ACAAACCGTAAACTTCTGAAGATAGACAAAACAAGAGAAAAAGATGGAAGTAGTAAGTAAGATTGATCAAGAA
 AACCAAGCAAAATTTGGAAACAAATTTTGGTTTTGCAGAATCATTAGTTCTAAATGTGCAGTTCAGTTAGAG
 ATTGCTGAAACACTTCATAATAATGTAAAACCCATGTCTTTATCCGAGTTAGCATCTAAACTTCCGGCTCAACCC
 GTTAATGAAGACCGTTTGTACCGAATTCTGCATTCTTAGTTACATGAAACTCTCAACAAAGATGCTACCACA
 CAGAAATATTATTAGCTCCACCAGCAAAGTATTTGCTAAAAGGCTGGGAAAAATCAATGGTTCCTTCAATATTA
 AGCGTGACTGATAAAGATTTTACAGCTCCATGGAATCATCTTGGGGACGGTTTAACCGGTAAGTGAACGCTTTT
 GAGAAAGCGTTAGGAAAGGGCAATTCGGGTTTATATGAGAGAAAAATCCTGAAAAAGATCAATTGTTTAAATGAAGGA
 ATGGCTTGTGATACTAGATTATTTGCTTCAGCATTGGTTAACGAGTGCAAAAGTATTTTCAGTGACGGGATCAAT
 ACACTTGCCGGTGTGGCCGTGGTACTGGTACTGCAGTGAAAGCCATATCCAAAGCTTTTCCGGATATTAAGTGC
 ACAATCCATGATCTTCTGAAGTTACCAGTAAAAATAGTAAATTCGAAGAGATGTTTTAAGTCCGTTCCTAGT
 GCAGACGCCATCTTTATGAAGGTAACCTCTAAGAAATTTGTTTTAGAAATATTCGTTGCAACTCTAATTGACAAC
 ATTCATAAAAAATATGTTAATGGTCTTAATTTATTAATTCTAGTAGAGTTACTTAAATGATATACAAAAATTCAA
 AATCATATAACATTTGCAGAGCATTCTTCACGAATGGAACGATGAGGAATGTATTCAAATCTTGAAACGATGCAA
 AGAAGCAATACCAAAAGGGGGCAAAGTTATCATTGCGSATGTCTGTAATAGACATGGACTCGACTCATCCGTATTC
 AAAATCTAGACTCGCAATGGATTTGGCTATGATGCTCCACACGGGTGGAAAAGAGAGAACTGAAGAAGATTGGAA
 AAAACTTATTGATGCTGCAGGTTTTGCTAGCTGTAAATTAATAACTATCTGCTCTCCAGTCTGTTATTGAGGC
 TTACCCTCATTGAGGATAATTTTATCCTTCTGTTTTCCCTTTGGTTAATTGTTGCCCTCTCTTTGGATCATGGT
 TGGCTTTATAATAAATGCAGCGTTTCTTCTGCGGTAAGTGCAAGAAAGAAAAGCTTCCAGAACTTCCTTG
 AGTATGCCTGG

SEQ ID NO: 4 CYP82X1

Comienzo	Fin	Característica
1	130	región no traducida 5'
131	800	exon 1
801	881	intrón 1
882	1216	exon 2
1217	1298	intrón 2
1299	1916	exon 3
1917	1921	región no traducida 3'

CTTGAGTCATGCCTTGATATGCTCATATTTTGTGTCATATTCACCTATAACTATAAAATTTCAATACAATTTCT
 AAAACTCATCATCATTCAGAGAGATACAAATACCTTGATATCCTTTTATCATCAATGGAGTTATTATCAAAAGTT
 ACCATTTATCCAACCAATTCCTTTTCTAGTATTATTCTTGTACTACAGTTTCGATTGTTCTATTATACAGTGTCTT
 CTTCTGGGTTACTGATAAGAAAAAGAGAGGAAGAAAGCACCAAATGCTGCAGGGGCATGGCCGTTAATAGGTCA
 TCTCCGTCTATTGATGAACGACAAGGAACCGTTGTATAGAGCACTAGGGAGCATGGCTGATAAGTACGGACCTGC
 ATTCACATCCGATTAGGTAACCAAGAAGTTCTTGTGTGAGTAACTGGGAGATGGTAAAAACAGTGTCTTGGTAA
 TCAAAATGATAAGCTATTTTGAATCGTCAAACTACATTAGCTGCAAAATACATGCTTAATCAAACTTCTAG
 CGGATTTCGACCATATGGACCATATTGGAGAGAGCTACGAAAGATAATGGTGCAGCAATTACTCTCTAAACAATC
 TTTAGAATCGTGGAACATCTGAAATCAAAGAGATGGATGCTTCATTTAGTAACTTAACGAGTTATGCAACAA
 CAACGGTACTGGAACAGCTACCCTAATTAGGATGGACGAATGGTTTGTGAGTTGACGTTCAACGTGATCGCAAG
 AATGTCTTTGGCTACCAAGTGGCGGAAGGTCGACAGCGCTTACGAACGGTAATATGATCATACTCCCTCAATC
 TGTATCAATTTAAGGAAATCATTTTGGTCTTGTATTAACTTGAATTTCTATTAGGAGATACGGAATCAAAGGG
 CGAGAGGTACAAGAAAACATTGGAAGAAGCACTTCATCTTATGTCAATTTTGCAGTTTCAGACATATTTCCAAG
 TCTAGAGTGGGTAGATCGGTTAAGAGGCCTTATAAGGAATATGAAACGCTTTGGAGATGAGCTAAATTCATTTGC
 AGGGTGTCTTATTGAAGAGCACCGCCAAAAGAGATTACAATCCGTATCTAAAAGTGATAAAGGAGTTGGTGATGA
 ACAAGACTTCGTTGATGTTCTCTTATCGGTTGCTGAAAAATCGCAACTTCCTGGAGATGACCCTGATTTGGTCAT
 CAAGTCTATGATTCTGGTTAGGCTATTGATACCAAGTCTATTGCAATTTGGTTTATGTGCTTGTCTAACTTTC
 GTTACTGTCATATGGATGTGCAGGAATCGTATCAGGTGGGAGTGAGACCACATCGTCAACCTTAACCTTGGGCCC
 TCTGTCTGTTACTGAACCATCCGCATGTGTTAAAGAAGGCAAAAGAGCAATTAGATACGCACGTAGGAAAAGATA
 GGCATGTAGAAGAGTCAGATACCCCTAAGCTCGTGATCAATTAATGCAATTATCAAAGAATCAATGCGATTGTATC
 CAAACGGGGCAATGCTTGATCGGTTGGCGTTAGAAGAGTGCAGAGTTGGTGGATTTCATGTACCGGCCGGGGGAC
 GCTTATTTGTCAATGTTTGAAGATTTCAGAGAGATCCGAGTGTGTTGGGAGAATCCTCTGGAGTTTAAACCAGAGA
 GGTGGTTTGTGAGTAATGGTGAAAAGATGGATGTGGATTACAAAGGTCACAATCATGAATTCATACCATTGTTGGA
 TAGGTGCGAGGATGTGCGCTGGTATGCTTTGGGCATCGGAGGTGATTTCATTTGGTGTGCCCCGTCTTATTCATG
 GGTGTTGATATGAAAGCAGCAAGTGCCAAATGGGAAAGTAGATATGGCAGAAAATGGCAGGCATGGTGATTGTTTTA
 AGAAGACACCTCTTGAAGTTATGGTCAATCCTCGAGAGTAGATGTT

SEQ ID NO: 5 CYP719A21

Comienzo	Fin	Característica
1	69	región no traducida 5'
70	1530	ORF
1531	1688	región no traducida 3'

CATGAAATTCCTTATGCAAAGAGTCAATCTGACTCAAGCTAGCTAGAATATATACCAATCATAAAAGAAATGATC
 ATGAGTAACTTATGGATTCTTACGCTCATTTCTACCATATTAGCAGTCTTTGCTGCTGTGTTAATCATTTTCAGG
 AGAAGAATATCAGCATCCACAACCGAATGGCCTGTTGGCCCAAAACATTACCAATCATAGGTAACCTTGCACATT
 CTTGGAGGCACTGCTCTCCATGTCGTCTTACATAAACTTGCTGAAGTTACGGCAGTGTAAATGACGATATGGATT
 GGTAGTTGGAACCTGTTATTATTGTTTCCGACTTTGATCGAGCCTGGGAAGTTCTTGTAAACAAATCGTCAGAT
 TATTCAGCTCGTGAATGCCTGAGATCACTAAAATCGGCACTGCAATTTGGAGAACAATTTCAAGTTCTGATTCT
 GGTCCGTTTTGGGCCACTCTTCGAAAAGGTCTTCAGAGTGTAGCATTATCGCCTCAGCATTTAGCATCGCAAACT
 GCACACCAAGAGAGAGATATAATAAAGTTGATCAAAAATTTGAAAGACGAAGCAGCTTCTGGAATGGTTAAACCA
 CTTGATCATCTCAAGAAAGCAACTGTAAGATTAAATCAGTCGGTTAATCTATGGTCAGGATTTTGTATGACGATAAG
 TATGTTGAAGATATGCATGACGTGATCGAGTTTTGATTTCGTATTAGTGGTTATGCTCAACTTGCTGAGGTATTC
 TATTATGCTAAATATCTACAGGTCTAAGAGAGCTGTAAGTGGCGCGAAGCAAAAGAAAGAGTAATAGCT
 CTGGTGCCTCCTTTCTCAGTCAAACTGCTACTAAGCACTTACTTGCAATTTCTCAAAATCGCAACTGTATCCT
 GAAGAGGTTATCATATTCGCTATATTCGAAGCTTATCTTTAGGTGTTGATAGCACTTCTTCAACCACTGCATGG
 GCACTCGCATTCCTTAATACGCGAACCCTCTGTTCAAGAGAACTTTATCAAGAGCTTAAGAATTTACAGCCAAT

AACAATCGCACAAATGCTGAAAGTCGAAGACGTCAACAAATTACCATATTTACAAGCTGTTGTTAAAGAAACAATG
 AGGATGAAACCAATTGCACCACTGGCGATTCTCATAAAGCTTGTAAGACACTTCATTGATGGGCAAGAAAGTT
 GATAAGGGAACATAAGTTATGGTTAACATTTCATGCTTACATCATACTGAAAAGGTTGGAAAGAACCTTACAAA
 TTCATACCAGAGAGGTTTCTGCAGAAGCAGATAAGGCGATGGAACAATCACTATTACCATTTAGTGCAGGTATG
 AGAATTTGTGCAGGAATGGAATTAGGAAAACCTTCAGTTTGTCTCTTCTGCTAATCTTGTAAATGCTTTTAAA
 TGGTCTTGTGTCTGATGGAGTGCCTCCTGATATGAGTGATTTACTGGGGTTTGTCTGTTTCATGAAAACCCCA
 CTCGAAGCACGTATAGTTCCTCGTTTGTAGTGATGGAATTTTCATCTCATGTTGTTGTTTCTCTTCATGTTTACT
 ATTTCTGACTCGTTTGGTTTGGTGTAAAAATAAGATCTAAACTTCCAAATATCATTAAATGTTTACACAAATCG
 AAATCAATCAACTATGTTATGAAAATTAGTGTCTCTC

SEQ ID NO: 6 CYP82X2

Comienzo	Fin	Característica
1	783	secuencia promotora
784	893	región no traducida 5'
894	1581	exon 1
1582	1694	intrón 1
1695	2050	exon 2
2051	2170	intrón 2
2171	2791	exon 3
2792	2918	región no traducida 3'

>CYP82X2

AAGTGTGCCACTAATCTACTGCTAGTGCTACTGCTCACTGACACTTACACATATGATTGATTTATGGCTAAACAG
 GATGACCACTAAATTTATTTTGGAAAGCGGAGTGAATTAATTAAGTGGCACATTTTCCATGAGAATTATTGATGG
 CATGCATTTAGATGAACAAGATACACCAATGTAGTGACTGAACAAGATGCTCGATCCTAACCCACCTGCAACT
 TTAGCTAAACTTTAATAATTACATGCTCTATCTTTTATTGAATCATTTATCTATCAATGGATGCTGATCAATA
 ATATCATATATCTTTGCTTTTCTTCAATCATTTAGATGAACAAAAACACAATAAGTGATGAGTGTGTTTCATAA
 CCCCACCTTCAACTCATCTTCCCTTTAATAACAAATATCTTTGCTTTTCTCCAATCATTTACTTGAACAACCA
 ACACGATTAAGTGTAGTGGTTTCTCATAACCCACCTGCAATTTTGGCTTACCTTTAATAACATATATCTTTGAT
 TTTCTTCGATCATTTTAGCTACCAATGGATGCTGATCCAAAAAGTTATGGCAAAAAGAGACAACGTGATCGAACA
 CGAGCCTCTCGTGACCAACAGCATCAAGGTTTGTGGAATTAACCGCTTGTAAAAAATGGAGTGCCTGATCATAA
 TGAGGTATTGCTAAGATATAGTATCACTTTAGTGAACGGGCCAACAACTCACGAGTTGTTGAAAAATGGAG
 ATTATATTATAAGATAAAAGGGTCACTCCCTACACAACGACTTGCACTGCAAGTGAAAAAGAAAAAACAAAC
 AACCTCAATCTAGCTAGAGTTCGTGAAAAAGTTTGTGCGACTGTTATTTAGTTAATTATAAAATTTCAATGAAGT
 CGTTAATGATGAACAAGTTATTATTTCTCAACGGATTACTGATTCTCCTTCGACCACCATTAACGACTTTTA
 TTGTTACATAATATCCATTGTTTCTCTACACTGTCTTGTGATAAGGACGACTAAGAATAAGCAGAGATAG
 CAGCACCAAAAGCATCGGGGGCGTGGCCGTTCATAGGTCATCTCAAATATTTCATGAAACAAGATACTCAGTTT
 ACAGAACTCTAGGAACCATGCTGATAAATACGGGTGGTGTTCACACTTCGATTAGGAAACCAAGCAATCCTAG
 TTGTGAGCAACTGGGAGATGGTAAAGAAATGTTTACACAACACGACAGTCATTCTCGAATCGTCCAAGTACGT
 TAAGCACTAAATACATGCTGAATGACACTAATCTGTCGTGTTTCCCTTACGGAACGTATTGGAGAGAAATGC
 GGAAGATATTGGTGCAAAACTACTGATCTCAACCAAGATCAGAGGCATTGAAAAATCTGAAAACGAAAGAAA
 TCGCAACTCGTTTGTAAAGCTTAATGATTTATGCAACACGATGTCAGTGGAGGAGGCACAAAAGTTAGGATGG
 ACGAATGGTTGGCTGACATGATGTTCAACATTATTGCTAGGATTACATTGGTTACCAAAGCGGAGGAGCGATG
 CACCTGGTATGTGATCATCAAATTTTGTGTTAAACCAAAATTAACCTTGTAATATCTTATGTTTACATGTTATAT
 TGATCACTTTGACACGTTCTGATCATTTTCAAAATCGAATTAGGCGCTTCTACAACATCCAAGAATGTCGAGAG
 ATACAAGAAAACGTTGGACGAGATGTTTGTGTTTGTAGCGACGAGGTTGCAGTTTCAGATATATTTCCATCTCT
 GGAGTTTATAGACCGATTGAGAGGTCCTGTAAGGATATGAAAATCTTGGAGACGAATTAACCTCCATTGCTGG
 ATGTTTTTATTGAAGAACATCGTCAAAAGAGACGAGAATCATTATCCTCATTGTTATCTTGTCAAATGAATCCGT
 TGGTGTGAAACAAGATTTTCAATGATGTTCTCTTGTCAATAATGGATCAGTCACGGCTTCCCGGAGATGACCCAGA
 TTTTATTATCAAATTTATGATCCTGGTAACATATATTACAACAGTATTTCTTTAAGTTATGGATTAAATGGATGTC
 GTAACCATGAATATTTTCTGATCTGGATAAATGTAATCCGGAACATAATATGAATATTGTTGACGCAGGAAGC
 TTTTGCAGGTGGGACGGACAGTTTAAAGTGCAACCTTAACCTTGGGTCTCTCTCTACTGCTGAACACCCAAACGT
 GTTAAAGAGGGCAAGGGAGGAAATAGATAGGCATGTGGAACCGTAAGCAAGTGAAGTGTCTGATATCCGAA
 GCTCGGATACATTGATGCAATAATCAAGAGACGATGAGATTGTATCCAGTCGGAGCATTAAGCGAACGATACAC
 GACTGAAGAATGCGAGGTTGGTGGTTTAACTGACCGCTGGCACACGCTTACTGGTGAATATATGGAAGATCCA
 CAGAGACCAAGTGTGTGGGAGAATCCATCAGATTTTCAACCAGAGAGGTTTTTGTGCAGCGATAAGGTGGGTGT

GGATTTATATGGCCAGAATTATGAGCTGATACCATTGGGGCCGGTAGGAGGGTATGTCCGGCTATAGTTTCATC
 ACTGCAGACGATGCATTATGCGTTGGCGCGTCTTATTCAAGGATATGAAATGAAATCAGCCAGCCTCGATGGGAA
 GGTGAATATGGAAGAAATGATAGCCATGTCGTGCCACAAGATGAGCCCTCTTGAAGTTATTATCAGTCCTCGGGA
 GCCGAGGCGGAGTTAAATCTTATGTTCCAAATTTACATTAGCATCTTTGATTATGAAATGTATTGCTCTTAAGTT
 TCTTTTTTGTTTTTTATATTTTAAAGCTTGTATGTGATCATCAGCGAAAATGATGATGACAGAATCGT

SEQ ID NO: 7 CYP82Y1

Comienzo	Fin	Característica
1	12	región no traducida 5'
13	718	exon 1
719	815	intrón 1
816	1153	exon 2
1154	1237	intrón 2
1238	1864	exon 3
1865	1915	región no traducida 3'

> CYP82Y1

TTCAGTTCATTCATGGCGTATTTGATGATCAAGAAGTCTATCTATTTGTTTTTGGATCAACCAACTGCAGTTGGC
 ACTCTTATACTTGCTTTTCTGCTGACACTTTCGCTGTTATTATTACTATGAACAGAAGAAGAGGGGTTTGAGG
 CGAAATCGCACCGCAATTACAACGACTCCATTACCAGAGGCATCAGGTGCATGGCCAGTGATAGGTCATCTTCTT
 CTTTTCATGAACGAAAACGATCTAAATCATGTAACCTCTTGGTCACATGGCTGATAAATATGGACCTATTTTCAGC
 TTAAGATTGCGTAGACATAGAAGTCTAGTTGTTAGTAGTTGGGAGATGGTAAAGGAGTGTTTACAGGTACCAAT
 GACAAGTTGTTCTCAAATCGTCTTCTCCTTGGCGGTTAAACTTATGTTTTATGACACTGAATCTTATGGTTTTT
 GCACCTTATGGGAAATACGAGAGAGTGGCGAAAGATATCTACACACAACTCCTCTCTAATCAGCAATTAGAG
 AAGTTCAAGCACTTGGCGATTCTGAAGTCGATAACTCCTTTAAAAAGCTTCATGAGTTATGCAGCAACAACAAA
 CAGGGAGGTGATACTACATATGTGGCTAGTCTGTGAGAATGGATGATTGGTTCGCGTACTTGACATTTAACGTA
 ATAGGACGGATCGTCAGCGGATTCGAATCAAATGCAGTGGCAGGTGAGCTCATATAGCTAGGTTTTTATATGTTT
 GGTTTGTACACACACAGCTCATTCATATCTAACTGAATTATATGTTATAATTGAACAACATAGGTGCCACAAA
 CAGCCAGGAAAAATACAAGCTTGCAATCGATGAAGTGTCAAATCTTATGGCAACGTTTGCCGTTTCAGATGTGGT
 TCCACGGCTTGGGTGGATTGATCGATTGACTGGTCTTACAGGAAAGATGAAGAATTGTGGTAAAAAATTAGATGC
 AGTAGTTGGGGATGCAGTGGAGGATCATCGCCAAAAGAACTCAAAATTTCTAGAAAATAACACAGGAGCACTTAC
 GGAGCACGAAGAAGAAGACTTTATCGATGTTTGCTTGTGATTATGGAGCAGTCACAGATTCCGGGAAACCACCC
 CGAAATCTCTGTCAAATCTATTGCTTGGTAATACGTCTCATAGCATGTTAGCAGATTTTACCTCTATATATAC
 TTACATATTATTTTTTATCAATCACACATATGTGCAGGACATGTTATCGGGTGGGAGTGACACTACAAAATTGAT
 AATGACATGGACCTTTCTTTGCTGTTGAACCATCCAGACATATTGGACAAGGCTAAAGAAGAAGTAGATACATA
 CTTCCGGGAAGAAAAAGATATCGGATAACACACCTGTGGTTGATGCTGCCGATGTTCTAACCTCGTCTACATCCA
 AGCAATCATCAAAGAATCAATGCGGTTATACCCTGCTAGCACATTGATGGAGCGAATGACAAGTGATGATTGTGA
 TGTTGGTGGCTTCCACGTACCAGCTGGGACACGATTATGGGTTAACGTATGGAAGATGCAACGGGACCCAAGGGT
 GTGGAAAGATCCACTGGTATTCTACCTGAGAGATTCTTGAGCAATGACAAAGGGATGGTAGATGTGAAGGGTCA
 GAATTATGAACTGATACCATTGGAACAGGCGGATATGTCCTGGTGCATCTTTGCTTGGAGTCTTGCA
 TTTGGTCTTACTCGTCTTATCTTGAGTTCGAGATGAAGGCACAGAGGGGAAAATTGACATGAGGGCAAGACC
 AGGTTTTTTCCACAACAAGGTGGTGCCACTAGATGTTCAACTCACCCACGCACACTAGATTAAGATTCTTATAT
 ATGCTAATTAATTAGATGAATAAAATCTGTGGTCGAGTAA

SEQ ID NO: 8 PSCXE1

Comienzo	Fin	Característica
1	15	región no traducida 5'
16	978	ORF
979	1333	región no traducida 3'

>PSCXE1

AATAAAATCCACAATGGCAGATCCTTATGAATTCCTAATGTGCATTACCAATCCTGAAGAAGATACCCCTAACA
 AGAAATTTTCGATTCTCTGCTACTCCCTTAGATCAAAACACCAAGACATTTCTTTAAATCCTGATAGGAAAACC
 TCACTTCGAATCTTTCCGCCACCAACCAAGAACCCTCTGTAACAAAGAATAAGCTGCTTCCTATCATAATTTAT
 TTCCATGGTGGAGGTTTCATTCTTTTCAATGCAGATTCAACTATGAACCATGACTTTTGTCAATCGATTGCTACA
 CATATACCCGCGCTGGTCTGTTCTGTAGACTACCGTCTTGCTCCTGAAAACCGACTTCCCGCTGCCTATGATGAT
 GCTGTTGATGCTTTAAACTGGGTCAAAGACCAAGGTTTAGGCAAACTAAATAATAGTGAAGTATGGTTAAAAGAG
 TATGGTGACTTCTCAAAGTGTTCATTATGGGGTGCAGCTCAGGTGCTAATGTTGCATATCATGCCAGTTAAGA
 GCAATAGAAATGGATCTTGAAACAGCTAAGATTAATGGATTAAATATTACACTGCCCTTTTTTTGGTAGTCTTGAG
 AGAACTGAATCAGATTCAAAGTGATCAACAATCAGGACTTCCCGCTTGCCGTAAGGGATGTCATGTGGGAACTG
 GCGTTGCCGCTTGGGTCTACTCGTGATCAGCTTTATGTAATCCGAATATTGATCATGATGGATCATCATCTGGA
 AATATGGTGGGGTAAATCGAGAGATGTTTTGTGGTAGGATTTTATGGGGATCCACTTATTGATCGACAAATTCAG
 CTGGTGAAGATGCTGGAGGAAAAGGTGTGAAGGTTGAACTTGGATTGAACAAGGAGGGTATCATGGGGTGCTA
 TGCTTTGACCCTATGATACGTGAAACCTTTTGGAAAACTAAACATTTTATTTTAAACGACGAATTTATATAC
 TAAATATATTATTAGTATTAAACAATGAAATTCCTATTTTTTCTAAATGAGCTTTTGGACGAAACATTGTGTA
 CGAACTAGCTGATGTAATTTTTCGTTTTACCGGATTTTCATTTTTTTTGCCTTCTTTCTGCTCTCTTTTATAAG
 TCGTTCTT

SEQ ID NO: 9 PSSDR1

Comienzo	Fin	Característica
1	254	región no traducida 5'
255	423	exon 1
424	635	intrón 1
636	1178	exon 2
1179	1953	intrón 2
1954	2146	exon 3
2147	2236	intrón 3
2237	2378	exon 4
2379	2488	región no traducida 3'

>PSSDR1

CTAACAGGCAAAACAATAACAGGTTGCACCTACAACATTCATTTTTATTTTGGTAAATGAAGTTCAGTTGGAGAGTAACCACA
 TCTTTGTTGTGCGCATTGCCCCACAATACTGAGTGTTTTGGCTGAGTGATGCTGACTGTAGGTAAGCTACAACCTGCATGTT
 GCAGATAATAATCACTAACTGATTATTCATGCATACCTAACAGTCATATTGTTATAGTTCCCAAAAAAATTCGAACTATA
 AAGGCATGCATGGACAGAAAAATATATCAGAGAGATATCAGAAATCAAAGAGATGGAAGGAACAGGGAAGATAGTATGTGTA
 ACAGGTGGAGCTGGATACTTGGCATCTTGGCTGATCATGAGATTGCTTGAACGTGGTTACTCTGTTCCGACCCACCGTTCCGGTC
 TGACCCAAAGTACGTAATAAATTAATTTCTTGGCATCATTTCTTCAATATAAATTTCTTATTATCTAGTTCATCATTTCTTA
 TTGTTCCCAATCATGTCCCCCAAGTCTAAAAGAAAGTAGTAATCTAAAAATAGCTAATTTATGTACGAAATTTGAACAATGATC
 TCCTAGCTTATAGGCTCACCTAATTTCTGTTCTATCATTTTGTGCTTGAAGAATTTAGGGAAGATGTGAGCCACCTTAAA
 GCTCTTCTGAAGCTACAGAGAGCTTCAATTTTTGAAGCAGATCTTGAAAACCGAAGTTTCGACGATGCGATCAACGG
 TTGTGTCGGTGTCTTTCTCGTTGCTCAAGGAATGAATTTTCCGGAAGAATATACTCTGAAAAAATAATCAAAACATGCGTGG
 AAGGAATCTTAGAATTTACAGTCATGCTTGAAATCTAAACAGTGAAAAGGTTGTGTACACATCTTCTGCTGATGCAGCA
 ATGATGATAAGTAATCTCAAAGCTGTTAAAGAAATTGACGAGACAATATGGTCAGAAAGTTGACAAATTTATTAGCAAAACCGGA
 ACAAGTTATTCTGGATTGCCCTCATATGTGGTTTCAAAGGTAAGTACAGAAAGAGCTTGCCCTAAAGTTTCTGAAGAATG
 GTTTGGATGTTGTTACTATACTTCTCCGTTGGTTGTTGGACCTTTTATCACTCCCATCTCTCCAGTGATCTATAGCT
 CTTTCGATAATTTCAAGTATCTCTCCATCCGAAAAATATGCCAATTCCTAAACTTAAAGGCATATTGATATTTAATAATAC
 CTCCATACCTAAAAAAGAGTTGCTATATAACATTTTAAATTTTCCGCCATTTTAGGCCATTAATGAAAAAGTTATAATACAA
 TTTTAGGAAGGAGGAGAATGATTTTTGAGCAACCTTAGAAGTGTGGTGAGATTTGTCCGTTATCATTTGTTGGTATAACT
 GTGTATATCATGTTTTTAAAGCGCCGCTCACGCTACGCTTCGTACGGTTCGGTCTAGATTTTTTAAATTCGCTCCGAGCG
 TAGTTATGAAGCTACCATGAAGCGCCGCTCACGCTACGTTTCGTACGCTTCGCTTCAGATTTTTCAAATTCGCTCCGAGCG
 AATCTACCATGAAGTGGAGATTCTTTAATTTGATTCACTTTTTTACTTAGTCAAGTCTTTTTAGGGGGTTTCGAAAACATAA
 AGTGAACCACTGCGCTCGCTACTGTTTTGAAATTAAGTAGACTTATTTAAATGATACAATTTATATATCTTCTCTAAATA

TTAAATTATTAATAACAACTACTACTATTTATAGGAAAAAATTCGCTTCAAATATCAATCATAAAAACGACGCTTCACATTTCAACATGCGCATCGCTTCGTATAAAAAAAGCGCTTCACGCTTTCAATACCTTGGGTACATAGATTAACTTCCTCCTCTGCGCTGGTGTAAACATTTCTGTGTTTCGTTTATATATATGACCAGGTGATGTGTCGATGATGCTTGGTGTAGACTTGAAAAATGCGGTACATATAGATGATGTTGCTTTAGCACACATATTCGTTTGAATGTGAAAAAGCAAAAGGACATATTTGTTCTTCA GTTGATTTTCCAATGCATGATCTGCCTAAATTTATATCTGAGAATTATCCGGAATCAACGTACCGACTGAGTGAGTTTATCTTTCACCACTTCTTTATTATTATTCATCAAGTCACCTTTGGGTATTTAACCTTATTGTTTTACTGAATTATCATCAGTTTAC TAAAGGATATTGAGGAACAAGAACAGTTCATCTTCCCTCAGATAAGCTGTTGAGTATGGGATTTTCAGTTCAAATATGATTTT GCAGAGATTTTCGGTGATGCAATACGATGTGCCAAAGAGAAGGGTTCTTTAGAGACCAACTATAGTTTGGTTCCGAGGAGA TGTGGGAGTAGCTAGCCCAAAATGCCCTGCTCGCACTAGCTTATATTATTGTTATTGTTTTCAAATGAATAACGGGCAG

SEQ ID NO: 10 PSAT1

Comienzo	Fin	Característica
1	53	región no traducida 5'
54	1469	ORF
1470	1572	región no traducida 3'

> PSAT1

CGCATATAATCCAATTTGCATTGTTTATCGACCTTGAGGAACAATTAGGGGATATGGCAACAATGTCTAGTGCTG CTGTAGAAGTGATCTCGAAAGAAACGATTAAACCAAGAAATCCAACACCATATCAACTAGAACTACAATATGT CACTTCTCGACCAATATTCTTCTAGTTTATGTTCCGATCATTCTTTCTACCCTGCTGCCTCCGACGCTAATA GTACCGGAAGTAAGCACCATGATGATCTTCACTTGCTTAAGAGGTCTCTTTCTGAAACGCTAGTTCACTTTTATC CAATGGCTGGTAGGATGAAAGACAACATGACTGTTGACTGTAACGACGAAGGTATTGACTTTTTCGAAGTAAGAA TCAAAGGTAGAATTGTGTGACTTCATGATGAAATCAGATGCACACTTAAGTCTGCTTCTCCGTCTGAAGTCGCTT CCACGAACCTTCGTGAAGGAAGCACAGGTGATTGTTCAAGTGAACATGTTTATTGCGGTGGAAGTCCATTTGTT TCTGTATATCAAACAAGATTGCAGATGCATGCACCATGATTACCTTCATTCTGATGTTTGGCAGGCACCAACA TAGCTCGTGGTGGAGCTCTATTGCTGCACCAACCAAAATCAGAAATTTGGTTCCTTCTTCGATTCGACATCAC TCTTTCACCTAGTGAACAATTGGCATCTCAAGTTTCCTATCCTACACAGGATAGTACCAGCGTAGATAAACTTG TCAGCAAAAGATTTGTGTTTGTATGCGGCAAGATTACATCTGCACGTGAAAAATTGCAATCCTTGATGCATGATA AATACAAATGCCATAGGCCGACAAAGGTTGAGGTAGTTTCCGCTTTGATATGGAAGTCAGCAGTGAAATCTGCTC CGCCCGGTTCTATATCCACTGTAACCCATGCCATGAACCTTTAGAAAGAAAAATGGATCCACCATTACAAGATGCGT CATTCCGGAATCTTTGTGTGTTGTTACAGCAGTATTACCAGCAACAACGGCGACAACAACAATCCAGCAACCA AAAAGTTAGTAGTACGAGTAATGAAGAGCAAGTGGCACTTGATGAGTTAAGTGATTTTGTAGCCCTATTGAGGC GCGAAATAGATAAGGTAAAGGTTGATAAAGGTTGCATGGAGAAAAATCATTCAAAGTTCATCTATGGTCATGATG CTCCGTAGCGAAAGACAGTGATGTTGAAGATAAGGTGACAGCTTTGTTTATGACTAGCTGGTGCAAGTTTGGAT TCTACGAAGCTGATTTTGGTTGGGGAACGCCAGTTTGGGTAACACTGTTCCATTAAATTGAGCCAAAGTACAAGA ACATGGTTTTTCATGAACGATATGAAATGTGGTGAAGGAATTGAAGTGTGGGTGAATTTCTGGAGGATGATATGA CCAAGTTTCAACACCACCTAAGAGAGATCCTCCAAGTGTGTTTGAATTTCAACCGTTTCCCTAATAGAGGTCAATT GTCGTGTTTGTCCATCTTAACCTACCATCTTTATTCTCTTGTGTTTCATACTTGTATTGTTCTTACTCCGGTAA

SEQ ID NO: 11 PSMT1

MATNGEIFNTYGHNHQSATVTKITASNESSNGVCYLSETANLGKLI CIPMALRAAMELNVFQLISKFGTDAKVSA SEIASKMPNNAKNNPEAAMYLDRI LRLLGASSILSVSTTKKSINRGDDVVVHEKLYGLTNSSCCLVPRQEDGVSL VEELLFTSDKVVVDSFFKLKCVVEEKDSVPFEVAHGAKIFEYAATEPRMNQVFNDGMVFSIVVFEAVFRVYDGF LDMKELLDVGGGIGTSVSKIVAKYPLIRGVNFOLPHVISVAPQYPGVEHVAGDMFEVVPKGQNM LKWLHWDGDC ERVKLLKNCWNSLPVGGKVLIIIEFVLPNELGNNAESFNALIPDLLMALNPGGKERTISEYDDLGAAGFIKTI PIPISNGLHVIEFHK.

SEQ ID NO: 12 PSMT2

MEIHLESQEEMKYQSQIWNQICGTVDTSVLRCALQIGLIFDAIHNSGKPMITLTELSSIVSSPSSSSIEPCNL YR LVRYLSQMDLISIGECLNEATVSLTGTSKLLRNQEKSLIDWVLAISCEMMVVVWHELSSSVSTPADEPPIFQKV HGKNALELAGEFFEWNDLINNAMTSDTSVTKPALIQGCGKILNGVTS LIDVGGGHGATMAYIVEAFFPHKGAVID LPHVVEAAPERPGVEFISGDIFKISNADAVLLKYVLHNWEDTECVNLLKRCKEAVPADKGKVIIMDLVIDDDN SILTQAKLSLDLTMVNHGGGRERTKEDWRNLIEMSGFSRHEIIPISAMPSIIVAYP.

SEQ ID NO: 13 PSMT3

MEVVSKIDQENQAKIWKQIFGFAESLVLKCAVQLEIAETLHNNVKPMSLSELASKLPAQPVNEDRLYRILHFLVH
MKLFNKDATTQKYSLAPPAKYLLKGWEKSMVPSILSVTDKDFAPWNHLDGDLTGNCNAFEKALGKGIRVYMREN
PEKDQLFNEGMACDTRLFASALVNECKSIFSDGINTLAGVGRGTGTAVKAISKAFDICTIHDLPVTSKNSKI
PRDVFKSVPSADAI FMKSI LHEWNEDEECIQILKRCKEAI PKGGKVI IADVVIDMDSTHPYKSRLAMD LAMMLHT
GGKTERTEEDWKKLIDAAGFASCKITKLSALQSVIEAYPH.

SEQ ID NO: 14 CYP82X1

MELFIKLPFIQIPFISIILVTTVSIVLLYSVFFWVTDK KKKRKKAPNAAGAWPLIGHLRLLMNDKEPLYRALGSM
ADKYGPAPNIRLGNQEVLVSNWEMVKQCFGNQNDKLFNSRQTTLA AKYMLNQTSSGFAPYGPYWRELKIMVQ
QLLSKQSLSEWKHLKIKEMDASF SKLNELCNNNGTGTATLIRMDWFAELTFNVIARNVFGYQSGGRSTALTNGD
TESKGERYKKTLEEALHLSIFAVSDI FPSLEWVDRLRGLIRNMKRFGEDELNSIAGCLIEHRQKRLQSVSKSDK
GVGDEQDFVDVLLSVAEKSQPLGDDPDLVIKSMILEIVSGGETTSSTLTWALC LLLNHPVLKKAKEELDTHVG
KDRHVEESDTPKLVYINAI IKESMRLYPNGAMLDRLALEECEVGGFHV PAGGRLFVNVWKIQRDP SVWENPLEFK
PERWFLSNGEKMDVDYKGNHEFIPFGIGRRMCAGMLWASEVIHLVLPRLIHGFDMKAASANGKVDMAEMAGMVI
CFKKTPLEVMVNPRE.

SEQ ID NO: 15 CYP719A21

MIMSNLWILTILISTILAVFAVLIIFRRRISASTTEWPVGPKTLPIIGNLHILGGTALHVVLHKLAEVYGSVMTI
WIGSWKPVIIIVSDFDRAWEVLVNKSSDYSAREMPEITKIGTANWRTISSSDSGPFWATLRKGLQSVALSPOHLAS
QTAHQERDI IKLIK NLKDEAASGMVKPLDHLKKATVRLISRLIYGQDFDDDKYVEDMHDVIEFLIRISGYAQLAE
VFYAKYLPGHKRAVTGAEEAKRRVIALVRPFLQSNPATNTYLHFLKSQLYPEEVIIFAI FEAYLLGV DSTSST
AWALAF LIREPSVQEKLYQELKNFTANNNRMTLKVEDVNKLPLYQAVVKETMRMKPIAPLAI PHKACKDTS LMGK
KVDKGT KVMVNIHALHHTKVKWKEPYKFIPERFLQKHDKAMEQSLLPFSAGMRICAGMELGKLQFSFSLANLVNA
FKWSCVSDGVLPDMSDLLGFVLFMKTPEARIVPRL.

SEQ ID NO: 16 CYP82X2

MKSLMMNKLLFLQRITDPSPTTIISTFIVTIIISIVFLYTVLLIRTTKNKOKIAAPKASGAWPFIGHLKLFMKQDT
QFYRTLGTMSDKYGSVFTLRLGNQAILVVSNNWEMVKECFTTNDKSFNSRPSTLSTKYMLNDTNSVVFSGYTYWR
EMRKILVQKLLISNQRSEALKNLKTK EIDNSFVKLNDLCNNDOVSGGGTKVRMDEWLADMMFNI IARITFGYQSGG
GDAPGASTTSKNVERYKKTLDMEFVVLATRFVSDI FPSLEFIDRLRGLVKDMKILGDELNSIAGCFIEHRQKR
RESLSLLSLSNESVSGDEQDFIDVLLSIMDQSRPLGDDPFDI IKIMILEAFAGGTDLSATLTWVLSLLNHPNV
LKRAREEIDRHVENGKQVEVSDIPKLG YIDAI IKETMRLYPVGALSERYTTECEVGRFNV PAGTRLLVNIWKIH
RDPSPWENP SDFQPERFLCSDKVGVDLYGQNYELIPFGAGRRVC PAIVSSSLQTMHYALARLI QGYEMKSASLDGK
VNMEEMIAMSCHKMSPLEV IISPREPRS.

SEQ ID NO: 17 CYP82Y1

MAYLMIKKSIYLFEDQPTAVGTLILAFLLTSPV I IYEQKKRGLRRNR TAITTTPLPEASGAWPVI GHLLLFMN
ENDLNHVTLGHMADKYGP I FSLRFGRHRTL VVSSWEMVKECFTGTNDKLFNSRPSSSLAVKLMFYD TESYGFAPYG
KYWRELKRISTHKLSSNOQLEKFKHLRISEVDNSFKKLHLECSNNKQGGDTTYVASLVRMDDWFAYLTFNVI GRI
VSGFQSNVAVAGATNSQEKYKLAIDEVSNLMATFAVSDVVPRLGWIDRLTGLTGKMKNCGKKLD AVVGDAVEDHRQ
KKLKISRNTGALTEHEEEDFIDVCLSIMESQSI PGNHPEISVKSIALDMLSGGSDTTKLIMTWL SLLNHPDI
LDKAKEEVD TYFGKKKISDNTPVVDAADVPNLVY IQAI IKESMRLYPASTLMERMTSDOC DVGGFHV PAGTRLVV
NVWKMQRDP RVWKDPLVFLPERFLSNDKGMVDVKGQNYELIPFGTGRRICPGASFALEV LHLVLT RLILEFEMKA
PEGKIDMRARP GFFHNKVVPLDVQLTPRTLD.

SEQ ID NO: 18 PSCXE1

MADPYEFLMCIHNPEEDTLTRNFPIPATPLDQNTKDISLNPDRKTS LRIFRPPTKEPPVTKNKLLPI I IYFHGGG
FILFNADSTMNHDFCQSIATHIPALVVSVDYRLAPENRLPAAYDDAVDALNWVKDQGLGKLNSEVWLKEYGDFS
KCFIMGCSSGANVAYHASLRAIEMOLEPAKINGLILHCPFFGSLERTESDSKVINNQDPLAVRDVMWELALPLG
STRDHVYCNPNI DHDGSSSGNMVGLIERCFVVGFGYDPLIDRQIQLVKMLEEKGVKVE T WIEQGGYHGVLCFDP M
IRETFLEKLKHFILNDEFIY.

SEQ ID NO: 19 PSSDR1

MHGQKNISERYQKFKEMEGTGKIVCVTGGAGYLASWLMRLLERGYSVRTTVRSDPKFREDVSHLKALPEATEKL
QIFEADLENPESEFDDAINGCVGVFLVAQGMNFAEYTTLEKI IKTCVEGTLRILQSLKSKTVKKVVTSSADAAM
MISNLKAVKEIDETIWSEVDNFISKPEQVIPGLPSYVVSQVLTERRACKFSEEHGLDVVTILPPLVVGPFITPHF
PPSVSIALSIISGDVSMMLGVRLNVAHIDVALAHIFVFECEKAKGRHICSSVDFFPMHDLPKFISENYPEFNVP
TDLLKDIEEQEPVHLSSDKLLSMGFQFKYDFAEIFGDAIRCAKEKGFL.

SEQ ID NO: 20 PSAT1

MATMSSAAVEVISKETIKPRNPTPYQLRNYNMSLLDQYSSLVVPIILFYPAASDANSTGSKHHDDLHLLKRSLS
ETLVHFYPMAGRMKDNMTVDCNDEGIDFFEVRIKGRMCDMMKSDAHLSELLPSEVASTNFVKEAQVIVQVNMFD
CGGTAICFCISNKIADACTMITFIRSLAGTTNIARRGSSIAAPTNNQNLVPSFDSTSLFPPSEQLASQVSYPTQD
STSVDKLVSKRFVDAKITSAAREKLQSLMHDKYKCHRPTREVVVSALIWKSAVKSAPPGSISTVTHAMNFRKKM
DPPLQDASFGNLCVVVTAVLPATTATTNTPATKKVSSTSNEEQVALDELSDFVALLRREIDKVKGDGKGCMEKIIQ
KFIYGHDAVASAKDSDEDKVTALFMTSWCKFGFYEADFGWGTVPVWTTVPLIEPKYKNMVFMDMKCGEGIEVWV
NFLEDDMTKFEHHLREILQLF.

SEQ ID NO: 21 VIGS PSMT1

TGGTCATAATCATCAATCAGCCACAGTCACTAAATCACTGCTTCTAATGAAAGCAGCAATGGTGTCTGTTATCT
TTCAGAAACGGCTAACTTGGGGAAGTTAATATGCATTCCAATGGCACTAAGAGCTGCGATGGAGCTAAATGTGTT
CCAACTTATCTCAAAGTTCGGAAGTGAACGCAAAAGTTTCGGCTTCTGAAATTGCCTCTAAAATGCCAAACGCGAA
GAATAATCCTGAAGCAGCTATGTATTTGGATAGAATTCTTCGACTGCTCGGGCAAGTCTATTCTTTCTGTTTC
TACTACAAAAAATCAATCAACAGAGGAGGAGATGATGTAGTAGTACATG

SEQ ID NO: 22 VIGS PSMT2

GTGTAACCTAAGCCAGCGCTAATACAAGGATGTGGCAAAATCCTGAACGGAGTTACATCGTTAATTGATGTCGGTG
GTGGTCACGGTGCCACTATGGCTACATAGTTGAAGCTTTTCTCACATAAAAGGTGCGGTAATCGATTACCAC
ATGTTGTTGAAGCCGCTCCGGAGCGTCCAGGTGTTGAGTTCATCAGCGGTGATATATTCAAGT

SEQ ID NO: 23 VIGS CYP82X1

TTTGAGTAATGGTGAAAGATGGATGTGGATTACAAAGGTCACAATCATGAATTCATACCATTGGGATAGGTCG
GAGGATGTGCGCTGGTATGCTTTGGGCATCGGAGGTGATTCATTGGTGCTGCCCGCTCTATTTCATGGGTTGA
TATGAAAGCAGCAAGTGCCAATGGGAAAGTAGATATGGCAGAAATGCCAGGCATGGTGATTGTTTTAAGAAGAC
ACCTCTTGAAGTTATGGTCAATCCTCGAGAGTAGATGTT

SEQ ID NO: 24 VIGS CYP719A21

ATGATCATGAGTAACCTTATGGATTCTTACGCTCATTTCTACCATATTAGCAGTCTTTGCTGCTGTGTTAATCATT
TTCAGGAGAAAGATATCAGCATCCACAACGGAATGGCCTGTTGG

SEQ ID NO: 25 VIGS CYP82X2

TAGGAGGGTATGTCCGGCTATAGTTTCATCACTGCAGACGATGCATTATGCGTTGGCGCGTCTTATTCAAGGATA
TGAAATGAAATCAGCCAGCCTCGATGGGAAGGTGAATATGGAAGAAATGATAGCCATGTCGTGCCACAAGATGAG
CCCTCTTGAAGTTATTATCAGTCCTCGGGAGCCGAGGCGGAGTTAA

SEQ ID NO: 26 VIGS CYP82Y1

TCCTATATATGCTAATTAATTAGATGAATAAAATCTGTGGTCGAGTAAATCTAATTAATGCTAATGAACAAGATG
AATAAAAAATTTCTTTCTGCTTTTGGTTAGGGTTATTGACCCTCATTGGTTGTATTGTTGGCGCAC
AACTTTTGTGCTTCTTAATATAATTCCTTTTGGTGG

SEQ ID NO: 27 VIGS PSCXE1

TGGCAGATCCTTATGAATTCCTAATGTGCATTCAACAATCCTGAAGAAGATACCCTAACAAGAAATTTCCGATTCTGCTACTCCCTTAGATCAAAACACCAAAGACATTTCTTTAAATCCTGATAGGAAAACCTCACTTCGAATCTTTCGGCCACCAACCAAAGAACCCTCCTGTAACAAAGAATAAGCTGCTTCCTATCATAA

SEQ ID NO: 28 VIGS PSSDR1

GAAATTGACGAGACAATATGGTCAGAAGTTGACAATTTCAATTAGCAAACCGGAACAAGTTATTCCTGGATTGCCCTCATATGTGGTTTCAAAGGTACTGACAGAAAGAGCTTGCTAAAGTTTCTGAAGAACATGGTTTGGATGTTGTTACTATACTTCCTCCGTTGGTTGTTGGACCTTTTATCACTCCCCATCCTCCTCCAGTGTATCTATAGCTCTTTCGATAATTTCAAGGTGATGTGTCGATGATGCTTGGTGTAGACTTGAAAATGCGGTACATATAGATGATGTTGCTTTAGCACACATATTCGTTTTTGAATG

SEQ ID NO: 29 VIGS PSAT1

CCTAAGAGAGATCCTCCAAGTGTGTTTTGATTTTCAACCGTTTCCCTAATAGAGGTCAATTGTCGTGTTTGTCCATCTTAACCTACCATCTTTATTCTCTTGTGTTTCATACTTGATTTG

SEQ ID NO: 30 VIGS PSPDS

GATCATCTTCTCTTCAGCAGAAGTCCCCCTCTTAAGCGTATACGCTGACATGTCAGTGACATGCAAGGAATATTATGACCCAAACAAATCCATGCTTGAGTTGGTATTTGCACCCGCTGAGGAATGGATC