

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 743 692**

51 Int. Cl.:

C07K 14/435 (2006.01)

C12N 15/82 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **15.07.2010** **PCT/EP2010/060178**

87 Fecha y número de publicación internacional: **20.01.2011** **WO11006948**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.07.2010** **E 10732374 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **19.06.2019** **EP 2454278**

54 Título: **Nuevas desaturadas y elongadas de ácidos grasos y usos de las mismas**

30 Prioridad:

17.07.2009 US 226301 P
17.07.2009 EP 09165752

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la
traducción de la patente:
20.02.2020

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

BAUER, JÖRG;
NAPIER, JOHNATHAN, A. y
SAYANOVA, OLGA

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

Observaciones:

**Véase nota informativa (Remarks, Remarques o
Bemerkungen) en el folleto original publicado por
la Oficina Europea de Patentes**

ES 2 743 692 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

Nuevas desaturasas y elongasas de ácidos grasos y usos de las mismas

La invención en principio pertenece al campo de la fabricación recombinante de ácidos grasos. Proporciona moléculas de ácido nucleico que codifican nuevas desaturasas y elongasas de ácidos grasos. La invención también proporciona vectores de expresión recombinantes que contienen moléculas de ácido nucleico de desaturasa y elongasa, células huésped en las que se han introducido los vectores de expresión, y procedimientos para la producción a gran escala de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (LCPUFA), por ejemplo, ácido araquidónico (ARA), ácido eicosapentaenoico (EPA) o ácido docosahexaenoico (DHA).

Los ácidos grasos son ácidos carboxílicos con grupos laterales de hidrocarburos de cadena larga que tienen un papel fundamental en muchos procesos biológicos. Los ácidos grasos se encuentran raramente libres en la naturaleza sino más bien, se encuentran en forma esterificada como el componente principal de los lípidos. Como tales, los lípidos/ácidos grasos son fuentes de energía (por ejemplo, β -oxidación). Además, los lípidos/ácidos grasos son una parte integral de las membranas celulares y, por lo tanto, son indispensables para el procesamiento biológico o la información bioquímica.

Los ácidos grasos se pueden dividir en dos grupos: ácidos grasos saturados formados de enlaces de carbono sencillos y los ácidos grasos insaturados que contienen uno o más dobles enlaces de carbono en configuración *cis*. Los ácidos grasos insaturados se producen por las desaturasas terminales que pertenecen a la clase de enzimas de hierro no hemo. Cada una de estas enzimas son parte de un sistema de transporte de electrones que contiene otras dos proteínas, a saber, el citocromo b_5 y la NADH-citocromo b_5 reductasa. Específicamente, dichas enzimas catalizan la formación de enlaces dobles entre los átomos de carbono de una molécula de ácido graso, por ejemplo, catalizando la deshidrogenación de ácidos grasos dependiente de oxígeno (Sperling y col., 2003). El ser humano y otros mamíferos tienen un espectro limitado de desaturasas que son necesarias para la formación de enlaces dobles particulares en ácidos grasos insaturados y, por lo tanto, tienen una capacidad limitada para sintetizar ácidos grasos esenciales, por ejemplo, ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (LCPUFA). Por lo tanto, los seres humanos tienen que tomar algunos ácidos grasos a través de su dieta. Dichos ácidos grasos esenciales incluyen, por ejemplo, ácido linoleico (C18:2), ácido linolénico (C18:3). Por el contrario, los insectos, microorganismos y plantas son capaces de sintetizar una variedad mucho mayor de ácidos grasos insaturados y sus derivados. Además, la biosíntesis de ácidos grasos es una de las actividades principales de las plantas y microorganismos.

Los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (LCPUFA) tal como el ácido docosahexaenoico (DHA, 22:6 (4,7,10,13,16,19)) son componentes esenciales de las membranas celulares de distintos tejidos y orgánulos en mamíferos (nervios, retina, cerebro y células inmunitarias). Por ejemplo, más del 30 % de los ácidos grasos de los fosfolípidos del cerebro son 22:6 (n-3) y 20:4 (n-6) (Crawford, M.A., y col., (1997) *Am. J. Clin. Nutr.* 66:1032S-1041S). En la retina, el DHA es más del 60 % del total de ácidos grasos del segmento más externo de los bastoncillos, la parte fotosensible de las células fotorreceptoras (Giusto, N.M., y col. (2000) *Prog. Lipid Res.* 39:315-391). Los estudios clínicos han demostrado que el DHA es esencial para el crecimiento y desarrollo del cerebro de los bebés, y para el mantenimiento de la función cerebral normal en adultos (Martinetz, M. (1992) *J. Pediatr.* 120: S129-S138). El DHA también tiene efectos significativos sobre la función fotorreceptora implicada en el proceso de transducción de la señal, la activación de rodopsina y el desarrollo de conos y bastones (Giusto, N.M., y col. (2000) *Prog. Lipid Res.* 39:315-391). Además, también se han descubierto efectos positivos del DHA en enfermedades tales como la hipertensión, artritis, aterosclerosis, depresión, trombosis y cánceres (Horrocks, L.A. y Yeo, Y.K. (1999) *Pharmacol. Res.* 40:211-215). Por lo tanto, un suministro en la dieta apropiado de ácidos grasos es importante para la salud humana. Debido a que dichos ácidos grasos no son sintetizados eficazmente por los bebés, niños pequeños y personas mayores, es particularmente importante que estos individuos ingieran adecuadamente estos ácidos grasos en la dieta (Spector, A.A. (1999) *Lipids* 34: S1-S3).

Actualmente, las principales fuentes de DHA son los aceites de pescado y algas. El aceite de pescado es la fuente principal y tradicional de estos ácidos grasos, sin embargo, habitualmente está oxidado en el momento de su venta. Además, el suministro de aceite de pescado es altamente variable, particularmente debido a la reducción de las poblaciones de peces. Además, la fuente de aceite de algas es cara debido al bajo rendimiento y los altos costes de extracción.

El EPA y ARA son ambos ácidos grasos $\Delta 5$ esenciales. Forman una clase única de constituyentes de alimentos y piensos de los seres humanos y los animales. El EPA pertenece a la serie n-3 con cinco enlaces dobles en la cadena acilo. El EPA se encuentra en los alimentos de origen marino y es abundante en el aceite de pescado del Atlántico Norte. El ARA pertenece a la serie n-6 con cuatro enlaces dobles. La falta de un enlace doble en la posición ω -3 confiere al ARA diferentes propiedades de las que se encuentran en el EPA. Los eicosanoides producidos por el ARA tienen fuertes propiedades inflamatorias y de agregación plaquetaria, mientras que los derivados del EPA tienen propiedades antiinflamatorias y antiagregantes plaquetarias. El ARA se puede obtener de algunos alimentos tales como la carne, pescado y huevos, pero su concentración es baja.

El ácido gamma-linolénico (GLA) es otro ácido graso esencial que se encuentra en mamíferos. El GLA es el intermediario metabólico de muchos ácidos grasos n-6 de cadena larga y de distintas moléculas activas. En los

mamíferos, la formación de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga tiene una tasa limitada por la desaturación $\Delta 6$. Se ha demostrado que muchas situaciones fisiológicas y patológicas tales como el envejecimiento, el estrés, diabetes, eccema, y algunas infecciones deprimen la etapa de desaturación $\Delta 6$. Además, el GLA se cataboliza fácilmente por oxidación y la división celular rápida asociada a ciertos trastornos, por ejemplo, el cáncer o la inflamación. Por lo tanto, el suministro dietético de GLA puede reducir los riesgos de estos trastornos. Los estudios clínicos han demostrado que el suministro dietético con GLA es eficaz en el tratamiento de algunas afecciones patológicas tales como el eccema atópico, el síndrome premenstrual, la diabetes, hipercolesterolemia, y trastornos inflamatorios y cardiovasculares.

Se ha demostrado un gran número de efectos beneficiosos para la salud para el DHA o mezclas de EPA/DHA. El DHA es un ácido graso n-3 de cadena muy larga con seis enlaces dobles.

Aunque la biotecnología ofrece una vía atractiva para la producción de ácidos grasos especializados, las técnicas actuales fallan en proporcionar un medio eficaz para la producción a gran escala de ácidos grasos insaturados. En consecuencia, existe la necesidad de un procedimiento mejorado y eficaz de producción de ácidos grasos insaturados, tales como DHA, EPA y ARA.

Por lo tanto, la presente invención se refiere a un polinucleótido que comprende una secuencia de ácido nucleico elegida de entre el grupo que consiste en:

a) una secuencia de ácido nucleico que tiene una secuencia de nucleótidos como se muestra en SEQ ID NO: 1 o 5;

b) una secuencia de ácido nucleico que codifica un polipéptido que tiene una secuencia de aminoácidos como se muestra en SEQ ID NO: 2 o 6;

c) una secuencia de ácido nucleico que codifica un polipéptido que tiene una actividad desaturasa y que tiene una secuencia de aminoácidos que es al menos un 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2, de manera que la secuencia no consiste en SEQ ID NO. 29 que se muestra en el documento WO 2010/042510, o al menos un 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6; y

en el que dicha secuencia de ácido nucleico codifica un polipéptido que tiene una actividad desaturasa.

El término "polinucleótido" como se utiliza de acuerdo con la presente invención se refiere a un polinucleótido que comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica un polipéptido que tiene una actividad desaturasa o elongasa. Preferentemente, el polipéptido codificado por el polinucleótido de la presente invención que tiene una actividad desaturasa o elongasa cuando se expresa en una planta será capaz de aumentar la cantidad de PUFA y, en particular, de LCPUFA en, por ejemplo, los aceites de semillas o la planta entera o partes de la misma. Dicho aumento es, preferentemente, estadísticamente significativo cuando se compara con una planta de control transgénica que produce LCPUFA que expresa el conjunto de desaturasas y elongasas necesario en el estado presente de la técnica para la síntesis de LCPUFA, pero no expresa el polinucleótido de la presente invención. Se puede determinar si un aumento es significativo mediante ensayos estadísticos bien conocidos en la técnica que incluyen, por ejemplo, el ensayo t de Student. Más preferentemente, el aumento es un aumento de la cantidad de triglicéridos que contienen LCPUFA de al menos un 5 %, al menos un 10 %, al menos un 15 %, al menos un 20 % o al menos un 30 %, en comparación con dicho control. Preferentemente, se hace referencia al LCPUFA antes de que sea un ácido graso poliinsaturado que tenga un cuerpo de ácido graso C-20 o C-22, más preferentemente ARA, EPA o DHA. Los ensayos adecuados para la medición de las actividades mencionadas anteriormente se describen en los Ejemplos adjuntos.

El término "desaturasa" o "elongasa" como se utiliza en el presente documento se refiere a la actividad de una desaturasa, que introduce un enlace doble en la cadena de carbono de un ácido graso, preferentemente en ácidos grasos con 18, 20 o 22 moléculas de carbono, o una elongasa, que introduce dos moléculas de carbono en la cadena de carbonos de un ácido graso, preferentemente en ácidos grasos de 18, 20 o 22 moléculas de carbono.

Más preferentemente, los polinucleótidos que tienen una secuencia de ácido nucleico como se muestra en SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7 o 9 que codifican polipéptidos que tienen secuencias de aminoácidos como se muestran en SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8 o 10 o variantes de las mismas, preferentemente, presentan una actividad desaturasa o elongasa. Los polinucleótidos que codifican un polipéptido que tiene actividad desaturasa o elongasa como se ha especificado anteriormente se han obtenido de acuerdo con la presente invención, preferentemente, a partir de *Emiliana huxleyi*.

Sin embargo, se pueden identificar ortólogos, parálogos u otros homólogos de otras especies. Preferentemente, se obtienen de plantas tales como algas, por ejemplo, Isochrysis, Mantoniella, Ostreococcus o Cryptocodinium, algas/diatomeas tales como Phaeodactylum, Thalassiosira o Thraustochytrium, musgos tales como Physcomitrella o Ceratodon, o plantas superiores tales como Primulaceae tales como Aleuritia, Calendula stellata, Osteospermum spinescens o Osteospermum hyoseroides, microorganismos tales como hongos, tales como Aspergillus, Phytophthora, Entomophthora, Mucor o Mortierella, bacterias tales como Shewanella, levaduras o animales. Los animales preferidos son los nematodos tales como Caenorhabditis, insectos o vertebrados. Entre los vertebrados, las moléculas de ácido nucleico se pueden derivar, preferentemente, de Euteleostomi, Actinopterygii;

Neopterygii; Teleostei; Euteleostei, Protacanthopterygii, Salmoniformes; Salmonidae o Oncorhynchus, más

preferentemente del orden de los Salmoniformes, más preferentemente, la familia de los Salmonidae, tales como el género *Salmo*, por ejemplo, de los géneros y especies *Oncorhynchus mykiss*, *Trutta* o *Salmo trutta fario*. Además, las moléculas de ácido nucleico se pueden obtener de diatomeas tales como de los géneros *Thalassiosira* o *Phaeodactylum*.

Por tanto, el término "polinucleótido" como se utiliza de acuerdo con la presente invención engloba adicionalmente variantes de los polinucleótidos específicos mencionados anteriormente que representan ortólogos, parálogos u otros homólogos del polinucleótido de la presente invención. Además, las variantes de los polinucleótidos de la presente invención también incluyen muteínas generadas artificialmente. Dichas muteínas incluyen, por ejemplo, enzimas que se generan por técnicas de mutagénesis y que presentan una especificidad por el sustrato mejorada o alterada, o polinucleótidos con el codón optimizado. Las variantes de polinucleótido comprenden, preferentemente, una secuencia de ácido nucleico caracterizada porque se pueden derivar de las secuencias de ácido nucleico específicas mencionadas anteriormente que se muestran en cualquiera de las SEQ ID NO: 1 o 5 o por un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene una secuencia de aminoácidos como se muestra en una cualquiera de las SEQ ID NO: 2 o 6 mediante al menos una sustitución, adición y/o eliminación de un nucleótido, de manera que la variante de secuencia de ácido nucleico seguirá codificando un polipéptido que tenga una actividad desaturasa o elongasa como se ha especificado anteriormente. Las variantes también engloban polinucleótidos que comprenden una secuencia de ácido nucleico que es capaz de hibridarse con las secuencias de ácido nucleico específicas mencionadas anteriormente, preferentemente, en condiciones de hibridación rigurosas. Estas condiciones rigurosas son conocidas por el experto y se pueden encontrar en *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons, N. Y. (1989), 6.3.1-6.3.6. Un ejemplo preferido de condiciones de hibridación rigurosas son las condiciones de hibridación en 6x de cloruro/citrato sódico (=SSC) a aproximadamente 45 °C seguido por una o más etapas de lavado en 0,2 x SSC, un 0,1 % de SDS a 50 a 65 °C. El experto sabe que estas condiciones de hibridación se difieren dependiendo del tipo de ácido nucleico y, por ejemplo, cuando están presentes disolventes orgánicos, con respecto a la temperatura y concentración del tampón. Por ejemplo, en "condiciones de hibridación convencionales" la temperatura difiere dependiendo del tipo de ácido nucleico entre 42 °C y 58 °C en tampón acuoso con una concentración de 0,1 a 5 x SSC (pH 7,2). Si está presente un disolvente orgánico en el tampón mencionado anteriormente, por ejemplo, formamida al 50 %, la temperatura en condiciones convencionales será de aproximadamente 42 °C. Las condiciones de hibridación para el ADN: híbridos de ADN son, preferentemente, 0,1 x SSC y 20 °C a 45 °C, preferentemente entre 30 °C y 45 °C. Las condiciones para ADN: híbridos de ARN son, preferentemente, 0,1 x SSC y 30 °C a 55 °C, preferentemente entre 45 °C y 55 °C. Las temperaturas de hibridación mencionadas anteriormente se determinan, por ejemplo, para un ácido nucleico con 100 pb (=pares de bases) de longitud y un contenido en G + C del 50 % en ausencia de formamida. El experto en la técnica sabe cómo determinar las condiciones de hibridación necesarias refiriéndose a libros de texto tales como el libro de texto mencionado anteriormente o los libros de texto siguientes: Sambrook y col., "Molecular Cloning", Cold Spring Harbor Laboratory, 1989; Hames y Higgins (Ed.) 1985, "Nucleic Acids Hybridization: A Practical Approach", IRL Press at Oxford University Press, Oxford; Brown (Ed.) 1991, "Essential Molecular Biology: A Practical Approach", IRL Press at Oxford University Press, Oxford. De manera alternativa, las variantes de polinucleótidos se pueden obtener por técnicas basadas en PCR tales como amplificación de ADN basada en oligonucleótidos cebadores mezclados, es decir, utilizando cebadores degenerados contra los dominios conservados de los polipéptidos de la presente invención. Los dominios conservados del polipéptido de la presente invención se pueden identificar mediante una comparación de secuencia de las secuencias de ácido nucleico de los polinucleótidos o las secuencias de aminoácidos de los polipéptidos de la presente invención. Los oligonucleótidos adecuados como cebadores de la PCR, así como las condiciones adecuadas de la PCR se describen en los Ejemplos adjuntos. Como matriz, se puede utilizar el ADN o ADNc de bacterias, hongos, plantas o animales. Además, las variantes incluyen polinucleótidos que comprenden secuencias de ácido nucleico que son al menos un 50 %, al menos un 55 %, al menos un 60 %, al menos un 65 %, al menos un 70 %, al menos un 75 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 90 %, al menos un 95 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % idénticas a las secuencias de ácido nucleico que se muestran en una cualquiera de las SEQ ID NO: 1 o 5, preferentemente, que codifiquen polipéptidos que mantengan una actividad desaturasa o elongasa como se ha especificado anteriormente. Además, también se engloban polinucleótidos que comprenden secuencias de ácido nucleico que codifican polipéptidos que tienen secuencias de aminoácidos que son al menos un 50 %, al menos un 55 %, al menos un 60 %, al menos un 65 %, al menos un 70 %, al menos un 75 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 90 %, al menos un 95 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % idénticas a las secuencias de aminoácidos que se muestran en una cualquiera de las SEQ ID NO: 2 o 6, en las que el polipéptido, preferentemente, mantenga una actividad desaturasa o elongasa como se ha especificado anteriormente. Los valores del porcentaje de identidad, preferentemente, se calculan sobre la región completa de la secuencia de ácido nucleico o de aminoácidos. Está disponible una serie de programas basados en una variedad de algoritmos para que el experto en la técnica compare las diferentes secuencias. En una realización preferida, el porcentaje de identidad entre dos secuencias de aminoácidos se determina utilizando el algoritmo de Needleman y Wunsch (Needleman 1970, J. Mol. Biol. (48):444-453) que se han incorporado en el programa de needle en el paquete de softwares EMBOSS (EMBOSS: The European Molecular Biology Open Software Suite, Rice, P., Longden, J., y Bleasby, A, Trends in Genetics 16(6), 276-277, 2000), utilizando la matriz de valoración del BLOSUM 62 o del PAM160 para las proteínas relacionadas más cercanamente, y una penalización de apertura de hueco de 16, 14, 12, 10, 8, 6, o 4 y una penalización de apertura de hueco de 0,5, 1, 2, 3, 4, 5 o 6. Las guías para la instalación local del paquete EMBOSS así como los enlaces a los Servicios en la RED que pueden encontrarse en

<http://emboss.sourceforge.net>. Un ejemplo preferido, no limitante, de los parámetros que se van a utilizar para alinear dos secuencias de aminoácidos utilizando el programa de needle son los parámetros por defecto, incluyendo la matriz de valoración de EBLOSUM62, una penalización de apertura de un hueco de 10 y una penalización de extensión del hueco de 0,5. En otra realización preferida más, el porcentaje de identidad entre dos secuencias de nucleótidos se determina utilizando el programa needle en el paquete de software EMBOSS (EMBOSS: The European Molecular Biology Open Software Suite, Rice, P., Longden, I., y Bleasby, A, Trends in Genetics 16(6), 276-277, 2000), utilizando la matriz de valoración del EDNAFULL y una penalización de apertura de hueco de 16, 14, 12, 10, 8, 6, o 4 y una penalización de extensión de hueco de 0,5, 1, 2, 3, 4, 5 o 6. Un ejemplo preferido, no limitante, de los parámetros que se van a utilizar en conjunto para alinear dos secuencias de aminoácidos utilizando el programa de needle son los parámetros por defecto, incluyendo la matriz de valoración de EDNAFULL, una penalización de apertura de un hueco de 10 y una penalización de extensión del hueco de 0,5. Las secuencias de ácido nucleico y proteína de la presente invención se pueden utilizar adicionalmente como una "secuencia de consulta" para llevar a cabo una búsqueda contra las bases de datos públicas para, por ejemplo, identificar otros miembros de la familia o secuencias relacionadas. Dichas búsquedas se pueden llevar a cabo utilizando la serie BLAST de programas (versión 2.2) de Altschul y col. (Altschul 1990, J. Mol. Biol. 215:403-10). La ejecución de BLAST utilizando las secuencias de ácido nucleico de la aciltransferasa como secuencia de consulta se puede llevar a cabo con el programa BLASTn, BLASTx o el tBLASTx utilizando los parámetros por defecto para obtener las secuencias de nucleótidos (BLASTn, tBLASTx) o secuencias de aminoácidos (BLASTx) homólogas de las secuencias de aciltransferasa de la invención. La ejecución de BLAST utilizando las secuencias de ácido nucleico de la aciltransferasa como secuencia de consulta se puede llevar a cabo con el programa BLASTp, o el tBLASTn utilizando los parámetros por defecto para obtener las secuencias de nucleótidos (BLASTp) o secuencias de aminoácidos (tBLASTn) homólogas de las secuencias de aciltransferasa de la invención. Para obtener alineamientos con huecos con fines de alineación, se puede utilizar el BLAST con Huecos, utilizando los parámetros por defecto como se describe en Altschul y col. (Altschul 1997, Nucleic Acids Res. 25(17):3389-3402).

Tabla 1: Relación de tipos de secuencia de secuencias de consulta y coincidentes para distintos programas BLAST

Entrada de secuencia	Consulta	Algoritmo	Coincidencia	Base de datos
ADN		BLASTn		ADN
PRT		BLASTp		PRT
ADN	PRT	BLASTx		PRT
PRT		tBLASTn	PRT	ADN
ADN	PRT	tBLASTx	PRT	ADN

Un polinucleótido que comprende un fragmento de cualquiera de las secuencias de ácido nucleico mencionadas anteriormente también se engloban como un polinucleótido de la presente invención. El fragmento codificará un polipéptido que mantenga aún la actividad desaturasa y elongasa como se ha especificado anteriormente. En consecuencia, el polipéptido puede comprender o consistir en los dominios del polipéptido de la presente invención que confiere dicha actividad biológica. Un fragmento quiere decir en el presente documento, preferentemente, que comprende al menos 50, al menos 100, al menos 250, o al menos 500 nucleótidos consecutivos de una cualquiera de las secuencias de ácido nucleico mencionadas anteriormente o que codifican una secuencia de aminoácidos que comprende al menos 20, al menos 30, al menos 50, al menos 80, al menos 100 o al menos 150 aminoácidos consecutivos o una cualquiera de las secuencias de aminoácidos mencionadas anteriormente.

Las variantes de polinucleótidos o los fragmentos a los que se hace referencia anteriormente, preferentemente, codifican polipéptido que mantienen la actividad desaturasa o elongasa hasta un punto significativo, preferentemente, al menos un 10 %, al menos un 20 %, al menos un 30 %, al menos un 40 %, al menos un 50 %, al menos un 60 %, al menos un 70 %, al menos un 80 % o al menos un 90 % de la actividad desaturasa o elongasa que muestra cualquiera de los polipéptidos que se muestran en una cualquiera de SEQ ID NO: 2, o 6. La actividad se puede ensayar como se describe en los Ejemplos adjuntos.

Los polinucleótidos de la presente invención consisten esencialmente en las secuencias de ácido nucleico mencionadas anteriormente o comprenden las secuencias de ácido nucleico mencionadas anteriormente. Por lo tanto, también pueden contener secuencias de ácido nucleico adicionales. Preferentemente, el polinucleótido de la presente invención puede comprender además de una fase de lectura abierta adicionalmente una secuencia no traducida en el extremo 3' y en el extremo 5' de la región genética codificante: al menos 500, preferentemente 200, más preferentemente 100 nucleótidos de la secuencia corriente arriba del extremo 5' de la región codificante y al menos 100, preferentemente 50, más preferentemente 20 nucleótidos de la secuencia corriente abajo del extremo 3' de la región genética codificante. Además, los polinucleótidos de la presente invención pueden codificar proteínas de fusión en las que una parte de la proteína de fusión es un polipéptido que es codificado por una secuencia de ácido nucleico mencionada anteriormente. Dichas proteínas de fusión pueden comprender como parte adicional otras enzimas de los ácidos grasos o rutas de biosíntesis de PUFA, polipéptidos para monitorizar la expresión (por ejemplo, proteínas fluorescentes verde, amarilla, azul o roja, fosfatasa alcalina y similares) o los denominados "marcadores" que pueden servir como marcador detectable o como una medida auxiliar con fines de purificación. Los marcadores para los diferentes fines son bien conocidos en la técnica y comprenden marcadores FLAG, marcadores de 6-histidinas, marcadores MYC y similares.

El polinucleótido de la presente invención se proporcionará preferentemente, o como polinucleótido aislado (es decir, purificado o al menos aislado de su contexto natural tal como su locus genético natural) o en forma modificada genéticamente o manipulada exógenamente (es decir, artificialmente). Un polinucleótido aislado puede, por ejemplo, comprender menos de aproximadamente 5 kb, 4 kb, 3 kb, 2 kb, 1 kb, 0,5 kb o 0,1 kb de las secuencias de nucleótidos que flanquean naturalmente la molécula de ácido nucleico en el ADN genómico de la célula de la que se deriva el ácido nucleico. El polinucleótido, preferentemente, se proporciona en forma de molécula de cadena doble o sencilla. Se entenderá que la presente invención en referencia a cualquiera de los polinucleótidos de la invención también se refiere a cadenas complementarias o inversamente complementarias de secuencias específicas o variantes de las mismas a las que se hizo referencia anteriormente. El polinucleótido engloba polinucleótidos de ADN, incluyendo ADNc y ADN genómico, o de ARN.

Sin embargo, la presente invención también pertenece a variantes de polinucleótido que se derivan de los polinucleótidos de la presente invención y son capaces de interferir la transcripción o traducción de los polinucleótidos de la presente invención. Dichas variantes de polinucleótidos incluyen ácidos nucleicos antisentido, ribozimas, moléculas de ARNip, ácidos nucleicos morfolino (oligos morfolino fosforodiamidato), oligonucleótidos que forman una hélice triple, oligonucleótidos inhibidores, o moléculas de microARN, las cuales reconocerán específicamente el polinucleótido de la invención debido a la presencia de secuencias complementarias o sustancialmente complementarias. Estas técnicas son bien conocidas por el experto en la técnica. Las variantes de polinucleótidos adecuadas del tipo mencionado anteriormente se pueden diseñar fácilmente basándose en la estructura de los polinucleótidos de la presente invención.

Además, también están comprendidos polinucleótidos químicamente modificados incluyendo polinucleótidos modificados de origen natural tales como polinucleótidos glicosilados o metilados o los modificados artificialmente tal como los polinucleótidos biotinilados.

En los estudios subyacentes de la presente invención, ventajosamente, se identificaban los polinucleótidos que codificaban desaturasa y elongasas de *Emiliana huxleyi*. En particular, se han identificado las desaturasas de *Emiliana huxleyi* A4Des(Eh), A8Des(Eh) y A5Des(Eh) y las elongasas A9Elo(Eh) y A5Elo(Eh). Cada una de las desaturasas es capaz de introducir un enlace doble en ácidos grasos. Por ejemplo, la expresión de la A8Des(Eh) da lugar a la introducción de un doble enlace en la posición ocho de un ácido graso C20:2n-6. Los polinucleótidos de la presente invención son particularmente adecuados para la producción recombinante de LCPUFA y, en particular ARA, EPA y/o DHA.

En una realización preferida del polinucleótido de la presente invención, dicho polinucleótido comprende adicionalmente una secuencia de control unida operativamente a dicha secuencia de ácido nucleico.

La expresión "secuencia de control de la expresión" como se utiliza en el presente documento se refiere a una secuencia de ácido nucleico que es capaz de gobernar, es decir, iniciar y controlar, la transcripción de una secuencia de ácido nucleico de interés, en el presente caso las secuencias de ácido nucleico mencionadas anteriormente.

Dicha secuencia habitualmente comprende o consiste en un promotor o una combinación de un promotor y secuencias amplificadoras. La expresión de un polinucleótido comprende la transcripción de la molécula de ácido nucleico, preferentemente en un ARNm que se pueda traducir. Los elementos reguladores adicionales pueden incluir amplificadores transcripcionales, así como traduccionales. Se pueden utilizar preferentemente los siguientes promotores y secuencias de control de la expresión, en un vector de expresión de acuerdo con la presente invención. Los promotores cos, tac, trp, tet, trp-tet, lpp, lac, lpp-lac, lacIq, T7, T5, T3, gal, trc, ara, SP6, λ -PR o λ -PL, se utilizan preferentemente en bacterias Gramnegativas. Para las bacterias Grampositivas, se pueden utilizar los promotores amy y SPO2. De entre los promotores de levaduras y fúngicos se utilizan preferentemente, ADC1, AOX1r, GAL1, MFa, AC, P-60, CYC1, GAPDH, TEF, rp28, ADH. Para la expresión en células u organismos animales, se utilizan preferentemente, los promotores de CMV, SV40, el promotor de RSV(virus del sarcoma de Rous), el amplificador de CMV, el amplificador de SV40. De entre las plantas los promotores CaMV/35S (Franck 1980, Cell 21: 285-294), PRP1 (Ward 1993, Plant. Mol. Biol. 22), SSU, OCS, lib4, usp, STLS1, B33, nos o el promotor de ubiquitina o faseolina. También se prefieren en este contexto los promotores inducibles, tales como los promotores descritos en el documento EP 0 388 186 A1 (es decir, un promotor inducible por bencilsulfonamida), Gatz 1992, Plant J. 2:397-404 (es decir, un promotor inducible por tetraciclina), el documento EP 0 335 528 A1 (es decir, un promotor inducible por el ácido abscísico) o el documento WO 93/21334 (es decir, un promotor inducible por etanol o ciclohexenol). Los promotores de plantas adicionales adecuados son el promotor de la FBPasa citosólica o el promotor ST-LSI de la patata (Stockhaus 1989, EMBO J. 8, 2445), el promotor de fosforribosil-pirofosfato amidotransferasa de Glycine max (nº de acceso de Genbank U87999) o el promotor específico del nodo descrito en el documento EP 0 249 676 A1. Particularmente preferidos son los promotores que hacen posible la expresión en tejidos que están implicados en la biosíntesis de ácidos grasos. También son particularmente preferidos los promotores específicos de las semillas tales como el promotor USP de acuerdo con la práctica, pero también otros promotores tales como los promotores LeB4, DC3, faseolina o napina. Los promotores adicionales especialmente preferidos son los promotores específicos de semillas que se pueden utilizar para plantas monocotiledóneas o dicotiledóneas y que se describen en los documentos US 5.608.152 (promotor de napina de la colza oleaginosa), WO 98/45461 (promotor de oleosina de Arabidopsis, el documento US 5.504.200 (promotor de faseolina de Phaseolus vulgaris), el documento WO 91/13980 (promotor Bce4 de Brassica), por Baeumlein y col., Plant J., 2, 2, 1992:233-239 (el promotor LeB4 de una legumbre), siendo adecuados estos promotores para

dicotiledóneas. Los siguientes promotores son adecuados para monocotiledóneas: promotor lpt-2 o lpt-1 de la cebada (documentos WO 95/15389 y WO 95/23230), promotor de hordeína de la cebada y otros promotores que son adecuados y se describen en el documento WO 99/16890. En principio, es posible utilizar todos los promotores naturales junto con sus secuencias reguladoras, tales como las mencionadas anteriormente para el nuevo procedimiento. De la misma manera, es posible y ventajoso utilizar promotores sintéticos, sea adicionalmente o solos, especialmente cuando median la expresión específica de semillas, tal como, por ejemplo, como se describe en el documento WO 99/16890. En una realización particular, los promotores específicos de semillas se utilizan para aumentar la producción del PUFA o LCPUFA deseado.

La expresión "unido operativamente" como se utiliza en el presente documento significa que la secuencia de control de la expresión y el ácido nucleico de interés se unen de manera que la expresión de dicho ácido nucleico de interés puede gobernarse por dicha secuencia de control de la expresión, es decir, la secuencia de control de la expresión estará unida funcionalmente a dicha secuencia de ácido nucleico que se va a expresar. En consecuencia, la secuencia de control de la expresión y la secuencia de ácido nucleico que se va a expresar pueden estar unidas entre ellas, por ejemplo, insertando la secuencia de control de la expresión en el extremo 5' de la secuencia de ácido nucleico que se va a expresar. De manera alternativa, la secuencia de control de la expresión y el ácido nucleico que se va a expresar pueden estar simplemente en proximidad física de manera que la secuencia de control de la expresión es capaz de gobernar la expresión de al menos una secuencia de ácido nucleico de interés. La secuencia de control de la expresión y el ácido nucleico que se va a expresar están separados, preferentemente por no más de 500 pb, 300 pb, 100 pb, 80 pb, 60 pb, 40 pb, 20 pb, 10 pb o 5 pb.

En una realización preferida adicional del polinucleótido de la presente invención, dicho polinucleótido comprende adicionalmente una secuencia terminadora unida operativamente a la secuencia de ácido nucleico.

El término "terminadora" como se utiliza en el presente documento se refiere a una secuencia de ácidos nucleicos que es capaz de terminar la transcripción. Estas secuencias producirán la disociación de la maquinaria de transcripción a partir de la secuencia de ácido nucleico que se transcribía. Preferentemente, el terminador será activo en plantas y, en particular, en semillas de plantas. Los terminadores adecuados se conocen en la técnica e incluyen, preferentemente, señales de poliadenilación tales como el sitio poliA de SV40 o el sitio poliA tk o una de las señales específicas de plantas indicadas en Loke y col. (Loke 2005, Plant Physiol 138, pp. 1457-1468), corriente abajo de la secuencia de ácido nucleico que se expresaba.

La presente invención también se refiere a un vector que comprende el polinucleótido de la presente invención.

El término "vector" engloba, preferentemente, fagos, plásmidos y vectores víricos, así como cromosomas artificiales, tales como cromosomas artificiales bacterianos o de levaduras. Además, el término también se refiere a construcciones dirigidas que permiten la integración aleatoria o dirigida al sitio de la construcción de direccionamiento en el ADN genómico. Dichas construcciones diana, preferentemente, comprende ADN de longitud suficiente para la recombinación homóloga o heteróloga como se describe con detalle posteriormente. El vector que engloba el polinucleótido de la presente invención, preferentemente, comprende adicionalmente marcadores genéticos para la propagación y/o selección en un huésped. El vector se puede incorporar en una célula huésped por distintas técnicas bien conocidas en la técnica. Si se introduce en una célula huésped, el vector puede residir en el citoplasma o se puede incorporar al genoma. En el último caso, se entiende que el vector puede comprender adicionalmente secuencias de ácido nucleico que periten la recombinación homóloga o una inserción heteróloga. Los vectores se pueden introducir en células procariotas o eucariotas mediante técnicas de transformación o transfección convencionales. Los términos "transformación" y "transfección", conjugación y transducción, como se utilizan en el presente contexto, tienen la intención de comprender una multiplicidad de procedimientos de la técnica anterior para la introducción de ácido nucleico ajeno (por ejemplo ADN) en una células huésped, que incluye coprecipitación en fosfato cálcico, cloruro de rubidio o cloruro cálcico, transfección mediada por DEAE-dextrano, lipofección, competencia natural, agrupamientos basados en carbono, transferencia mediada químicamente, electroporación o bombardeo de partículas. Los procedimientos adecuados para la transformación o transfección de células huésped, incluyendo las células vegetales se pueden encontrar en Sambrook y col. (Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2ª ed., Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 1989) y otros manuales de laboratorio tales como Methods in Molecular Biology, 1995, Vol. 44, Agrobacterium protocols, Ed.: Gartland y Davey, Humana Press, Totowa, New Jersey. De manera alternativa se puede introducir un vector plásmido mediante técnicas de choque térmico o electroporación. Si el vector fuera un virus, se pueden empaquetar *in vitro* utilizando una línea celular de empaquetamiento antes de la aplicación a las células huésped.

Preferentemente, el vector al que se hace referencia en el presente documento es adecuado como vector de clonación, es decir, se puede replicar en sistemas microbianos. Dichos vectores aseguran una clonación eficaz en bacterias, preferentemente levaduras u hongos y hace posible la transformación estable de las plantas. Las que se deben mencionar son, en particular, distintos sistemas de vector binarios y co-integrados que sean adecuados para la transformación mediada por T-ADN. Dichos sistemas de vector se caracterizan, como regla, porque contienen al menos los genes *vir*, que son necesarios para la transformación mediada por *Agrobacterium*, y las secuencias que delimitan el T-ADN (frontera de T-ADN). Estos sistemas de vectores, preferentemente, también comprenden regiones reguladoras *cis* adicionales tales como promotores y terminadores y/o marcadores genéticos que se

pueden identificar con células huésped u organismos transformados adecuados. Aunque los sistemas de vectores co-integrados tienen los genes vir y secuencias T-ADN dispuestas en el mismo vector, los sistemas binarios se basan en al menos dos vectores, uno de los cuales alberga los genes vir, pero no el T-ADN, mientras que el segundo alberga el T-ADN, pero no el gen vir. Como consecuencia, los últimos vectores mencionados son relativamente pequeños, fáciles de manipular y se pueden replicar tanto en *E. coli* como en *Agrobacterium*. Estos vectores binarios incluyen vectores de las series pBIB-HYG, pPZP, pBecks, pGreen. Preferentemente, de acuerdo con la invención se utilizan Bin19, pBI101, pBinAR, pGPTV y pCAMBIA. Una revisión de los vectores binarios y su uso se puede encontrar en Hellens y col, Trends in Plant Science (2000) 5, 446-451. Además, utilizando los vectores de clonación apropiados, los polinucleótidos se pueden introducir en células huésped u organismos tales como plantas o animales y, por lo tanto, se utilizan en la transformación de plantas, tales como las que se han publicado y citado en: Plant Molecular Biology and Biotechnology (CRC Press, Boca Raton, Florida), capítulo 6/7, pp. 71-119 (1993); F.F. White, Vectors for Gene Transfer in Higher Plants; in: Transgenic Plants, vol. 1, Engineering and Utilization, Ed.: Kung y R. Wu, Academic Press, 1993, 15-38; B. Jené y col., Techniques for Gene Transfer, in: Transgenic Plants, vol. 1, Engineering and Utilization, Ed.: Kung y R. Wu, Academic Press (1993), 128-143; Potrykus 1991, Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Molec. Biol. 42, 205-225.

Más preferentemente, el vector de la presente invención es un vector de expresión. En dicho vector de expresión, es decir, un vector que comprende el polinucleótido de la invención que tiene la secuencia de ácido nucleico unido operativamente a una secuencia de control de la expresión (también llamada "casete de expresión") permitiendo la expresión en células eucariotas y procariotas o fracciones aisladas de las mismas. Los vectores de expresión adecuados se conocen en la técnica tales como el vector de expresión de ADNc de Okayama-Berg pcDV1 (Pharmacia), pCDM8, pRc/CMV, pcDNA1, pcDNA3 (Invitrogen) o pSPORT1 (GIBCO BRL). Ejemplos adicionales de fusiones de vectores de expresión típicos son pGEX (Pharmacia Biotech Inc; Smith 1988, Gene 67:31-40), pMAL (New England Biolabs, Beverly, MA) y pRIT5 (Pharmacia, Piscataway, NJ), donde se fusionan la glutatión S-transferasa (GST), proteína de unión a la maltosa E y proteína A, respectivamente, con la proteína diana recombinante. Ejemplos de vectores de expresión en *E. coli* no de fusión inducibles adecuados son, *inter alia*, pTrc (Amann 1988, Gene 69:301-315) y pET 11d (Studier 1990, Methods in Enzymology 185, 60-89). La expresión del gen diana del vector pTrc se basa en la transcripción de un promotor de fusión híbrido trp-lac por una ARN polimerasa del huésped. La expresión del gen diana a partir del vector pET 11d se basa en la transcripción de un promotor de fusión T7-gn10-lac, que está mediado por una ARN polimerasa vírica coexpresada (T7 gn1). Esta polimerasa vírica la proporcionan las cepas huésped BL21 (DE3) o HMS174 (DE3) a partir de un λ -profago que alberga un gen T7 gn1 bajo el control transcripcional del promotor lacUv 5. El experto está familiarizado con otros vectores que serán adecuados en organismos procariotas; estos vectores son, por ejemplo, en *E. coli*, LG338, pACYC184, la serie pBR tales como pBR322, la serie pUC tales como pUC18 o pUC19, la serie M113mp, pKC30, pRep4, pHS1, pHS2, pPLC236, pMBL24, pLG200, pUR290, pIN-III1113-B1, λ gt11 o pBdCl, en *Streptomyces* pIJ101, pIJ364, pIJ702 o pIJ361, en *Bacillus* pUB110, pC194 o pBD214, en *Corynebacterium* pSA77 o pAJ667. Ejemplos de vectores para la expresión en la levadura *S. cerevisiae* comprenden pYep Sec1 (Baldari 1987, Embo J. 6:229-234), pMFa (Kurjan 1982, Cell 30:933-943), pJRY88 (Schultz 1987, Gene 54:113-123) y pYES2 (Invitrogen Corporation, San Diego, CA). Los vectores y procedimientos para la construcción de vectores que son adecuados para su uso en otros hongos, tales como los hongos filamentosos, comprenden los que se describen con más detalle en: van den Hondel, C.A.M.J.J., & Punt, P.J. (1991) "Gene transfer systems y vector development for filamentous fungi, en: Applied Molecular Genetics of fungi, J.F. Peberdy y col., Ed., pp. 1-28, Cambridge University Press: Cambridge, o en: More Gene Manipulations in Fungi (J.W. Bennett & L.L. Lasure, Ed., pp. 396-428: Academic Press: San Diego). Vectores de levaduras adecuados adicionales son, por ejemplo, pAG-1, YE6p, YE13 o pEMBLye23. Como alternativa, los polinucleótidos de la presente invención se pueden expresar también en células de insecto utilizando vectores de expresión baculovíricos. Los vectores baculovíricos que están disponibles para la expresión de proteínas en células de insecto cultivadas (por ejemplo, las células Sf9) comprenden la serie pAc (Smith 1983, Mol. Cell Biol. 3:2156-2165) y la serie pVL (Lucklow 1989, Virology 170:31-39).

El polinucleótido de la presente invención se puede expresar en células de plantas unicelulares (tales como algas), véase Falciatore 1999, Marine Biotechnology 1 (3):239-251 y las referencias citadas en este, y células vegetales de plantas superiores (por ejemplo, Espermatofitas, tales como los cultivos arables) utilizando los vectores de expresión en plantas. Ejemplos de vectores de expresión en plantas comprenden los que se describen con más detalle en: Becker 1992, Plant Mol. Biol. 20:1195-1197; Bevan 1984, Nucl. Acids Res. 12:8711-8721; Vectors for Gene Transfer in Higher Plants; en: Transgenic Plants, vol. 1, Engineering and Utilization, Ed.: Kung y R. Wu, Academic Press, 1993, p. 15-38. Un casete de expresión en plantas comprende, preferentemente, secuencias reguladoras que sean capaces de controlar la expresión genética en células vegetales y que están unidas funcionalmente de manera que cada secuencia puede cumplir su función, tal como la terminación transcripcional, por ejemplo, señales de poliadenilación. Las señales de poliadenilación preferidas son las que se derivan de T-ADN de *Agrobacterium tumefaciens*, tales como el gen 3 del plásmido Ti, pTiACH5, que se conoce como octopina sintasa (Gielen 1984, EMBO J. 3, 835) o equivalentes funcionales de estos, pero todos los demás terminadores que sean funcionalmente activos en plantas también son adecuados. Como la expresión genética en plantas a menudo no está limitada a los niveles transcripcionales, un casete de expresión en plantas comprende preferentemente otras secuencias funcionalmente unidas tal como amplificadores de la traducción, por ejemplo, la secuencia hiperdirectora, que comprende la secuencia no traducida 5' líder del virus del mosaico del tabaco, que aumenta la relación proteína/ARN (Gallie 1987, Nucl. Acids Research 15:8693-8711). Como se ha descrito anteriormente, la expresión genética en

plantas debe estar unida funcionalmente a un promotor adecuado que lleve a cabo la expresión del gen de una manera oportuna, específica de la célula o específica del tejido. Los promotores que se pueden utilizar son los promotores constitutivos (Benfey 1989, EMBO J. 8:2195-2202) tal como los que se derivan de virus de plantas tales como 35S CAMV (Franck 1980, Cell 21:285-294), 19S CaMV (véase los documentos US 5.352.605 y WO 84/02913) o promotores de plantas tales como el promotor de la subunidad pequeña Rubisco, que se describe en el documento US 4.962.028. Otras secuencias preferidas para el uso en unión funcional en los casetes de expresión genética en plantas son secuencias de direccionamiento que son necesarias para dirigir el producto genético en su compartimento celular relevante (para una revisión, véase Kermode 1996, Crit. Rev. Plant Sci. 15,4: 285-423 y las referencias citadas en este), por ejemplo, en la vacuola, el núcleo, todos los tipos de plastos, tales como amiloplastos, cloroplastos, cromoplastos, el espacio extracelular, la mitocondria, el retículo endoplásmico, cuerpos oleosos, peroxisomas y otros compartimentos de las células vegetales. Como se ha descrito anteriormente, la expresión genética en plantas también se puede facilitar mediante un promotor inducible químicamente (para una revisión, véase Gatz 1997, Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol., 48:89-108). Los promotores inducibles químicamente son particularmente adecuados si se desea que los genes se expresen de una manera específica del tiempo. Ejemplos de dichos promotores son un promotor inducible por ácido salicílico (documento WO 95/19443), un promotor inducible por tetraciclina (Gatz 1992, Plant J. 2, 397-404) y un promotor inducible por etanol. Los promotores que responden a las condiciones de estrés biótico o abiótico también son promotores adecuados, por ejemplo, el promotor del gen PRP1 inducido por patógenos (Ward 1993, Plant Mol. Biol. 22:361-366), el promotor hsp80 inducible por calor del tomate (documento US 5.187.267), el promotor alfa-amilasa inducible por frío de la patata (documento WO 96/12814) o el promotor pinII inducible por heridas (documento EP 0 375 091 A). Los promotores que son especialmente preferidos son los que producen la expresión de genes en tejidos y órganos en los que tiene lugar la biosíntesis de ácido grasos, lípidos y aceite, en células seminales tales como las células del endospermo y del embrión en desarrollo. Los promotores adecuados son el promotor del gen de napina de la colza oleaginosa (documento US 5.608.152), el promotor USP de Vicia faba (Baeumlein 1991, Mol. Gen. Genet. 225 (3):459-67), el promotor oleosina de Arabidopsis (documento WO 98/45461), el promotor faseolina de Phaseolus vulgaris (US 5.504.200), el promotor Bce4 de Brassica (documento WO 91/13980) o el promotor legumina B4 (LeBr; Baeumlein 1992, Plant Journal, 2 (2):233-9), y promotores que producen la expresión específica de semillas en plantas monocotiledóneas tales como el maíz, cebada, trigo, centeno, arroz y similar. Los promotores adecuados para tenerse en consideración son el promotor ipt2 o lpt1 de la cebada (documentos WO 95/15389 y WO 95/23230) o los que se describen en el documento WO 99/16890 (promotores del gen hordeína de la cebada, el gen glutelina del arroz, el gen orizina del arroz, el gen prolamina de arroz, el gen gliadina del trigo, el gen glutelina del trigo, el gen zeína del maíz, el gen glutelina de avena, el gen kasirina del sorgo, el gen secalina del centeno). De la misma manera, son especialmente adecuados los promotores que producen la expresión específica de plasto ya que los pastos son el compartimento en el que se sintetizan los precursores y algunos productos finales de la biosíntesis de lípidos. Los promotores tal como el promotor vírico de ARN polimerasa, se describen en los documentos WO 95/16783 y WO 97/06250, y el promotor clpP de Arabidopsis descrito en el documento WO 99/46394.

Los vectores mencionados anteriormente son solo una pequeña revisión de vectores que se utilizan de acuerdo con la presente invención. Los vectores adicionales son conocidos por el experto y se describen por ejemplo en: Cloning Vectors (Ed., Pouwels, P.H., y col., Elsevier, Amsterdam-New York-Oxford, 1985, ISBN 0 444 904018). Para los sistemas de expresión adecuados adicionales para células procariotas y eucariotas véase los capítulos 16 y 17 de Sambrook, loc cit.

Siguiendo con lo anterior, preferentemente, dicho vector es un vector de expresión. Más preferentemente, dicho polinucleótido de la presente invención está bajo el control de un promotor específico de semillas en el vector de la presente invención. Un promotor específico de semillas adecuado como se quiere decir en el presente documento se selecciona de entre el grupo que consiste en Conlinina 1, Conlinina 2, napina, LuFad3, USP, LeB4, Arc, Fae, ACP, LuPXR, y SBP. Para más detalles, véase, por ejemplo, el documento US 2003-0159174.

Además, la presente invención se refiere a una célula huésped que comprende el polinucleótido o el vector de la presente invención.

Preferentemente, dicha célula huésped es una célula vegetal y, más preferentemente, una célula vegetal obtenido de un cultivo oleaginoso. Más preferentemente, dicho cultivo oleaginoso se selecciona de entre el grupo que consiste en lino (*Linum sp.*), colza (*Brassica sp.*), soja (*Glycine sp.*), girasol (*Helianthus sp.*), algodón (*Gossypium sp.*), maíz (*Zea mays*), olivo (*Olea sp.*), cártamo (*Carthamus sp.*), coco (*Theobroma cacao*), maní (*Arachis sp.*), cáñamo, camelina, crambe, palma aceitera, cocos, cacahuete, sésamo, ricino, lesquerella, árbol de sebo, nueces, nueces tung, fruta de ceiba, semilla de adormidera, semillas de jojoba y perilla.

También preferentemente, dicha células huésped es un microorganismo. Más preferentemente, dicho microorganismo es una bacteria, un hongo o alga. Más preferentemente, se selecciona de entre el grupo que consiste en *Candida*, *Cryptococcus*, *Lipomyces*, *Rhodospiridium*, *Yarrowia* y *Schizochytrium*.

Además, una célula huésped de acuerdo con la presente invención también puede ser una célula animal. Preferentemente, dicha células huésped animal es una célula huésped de un pez o una línea celular obtenida de estos. Más preferentemente, la célula huésped de pez es de arenque, salmón, sardina, gallineta nórdica, anguila, carpa, trucha, bacalao, caballa, lucioperca o atún.

En general, las etapas de control de la producción de LCPUFA, es decir, la ruta biosintética de los ácidos grasos insaturados de cadena larga se cataliza por desaturasa y elongasas de ácidos grasos asociados a la membrana. Las plantas y la mayoría de otros organismos eucariotas tienen sistemas de desaturasa y elongasa para la producción de dobles enlaces y la extensión de ácidos grasos más allá de C18 átomos. Las reacciones de elongasa tienen varias características importantes en común con el complejo sintasa de ácidos grasos (FAS). Sin embargo, el complejo elongasa es diferente del complejo FAS ya que el complejo se localiza en el citosol y unido a la membrana, ACP no está implicado y la elongasa 3-ceto-acil-CoA-sintasa cataliza la condensación de malonil-CoA con un cebador acilo. El complejo elongasa consiste en cuatro componentes con diferentes funciones catalíticas, la ceto-acil-sintasa (reacción de condensación de malonil-CoA a acil-CoA, creación de un ácido graso ceto-acil-CoA 2 átomos de C más largo), la ceto-acil-reductasa (reducción del grupo 3-ceto a grupo 3-hidroxi), la deshidratasa (la deshidratación resulta en un ácido graso 3-enoil-acil-CoA) y el enoil-CoA reductasa (reducción del doble enlace en la posición 3, liberación del complejo). Para la producción de LCPUFA que incluyen ARA, EPA y/o DHA las reacciones de elongación, además de las reacciones de desaturación son esenciales. Las plantas superiores no tienen el conjunto de enzimas necesario para producir LCPUFA (4 o más enlaces dobles, 20 o más átomos de C). Por lo tanto, las actividades catalíticas se tienen que conferir a las plantas o células vegetales. Los polinucleótidos de la presente invención catalizan las actividades de desaturación y elongación necesarias para la formación de ARA, EPA y/o DHA. Suministrando las nuevas desaturasas y elongasas se producía el aumento de los niveles de PUFA y LCPUFA.

Sin embargo, el experto en la técnica sabe que dependiendo de la célula huésped, adicionalmente se pueden conferir las actividades enzimáticas a las células huésped, por ejemplo, por tecnologías recombinantes. En consecuencia, la presente invención, preferentemente, concibe una célula huésped que además del polinucleótido de la presente invención comprende polinucleótidos que codifican dichas desaturasas y/o elongasas según se necesite dependiendo de la célula huésped. Las desaturasas y/o elongasas preferidas que estarán presentes en la célula huésped son al menos una enzima seleccionada de entre el grupo que consiste en: Δ -4-desaturasa, Δ -5-desaturasa, Δ -5-elongasa, Δ -6-desaturasa, Δ 12-desaturasa, Δ 15-desaturasa, ω 3-desaturasa y Δ -6-elongasa. Especialmente preferidas son las desaturasas d12d15, d12d15Des(Ac) de *Acanthamoeba castellanii* (documento WO2007042510), d12d15Des(Cp) de *Claviceps purpurea* (documento WO2008006202) y d12d15Des(Lg)1 de *Lottia gigantea* (documento WO2009016202), las desaturasas d12, d12Des(Co) de *Calendula officinalis* (documento WO200185968), d12Des(Lb) de *Laccaria bicolor* (documento WO2009016202), d12Des(Mb) de *Monosiga brevicollis* (documento WO2009016202), d12Des(Mg) de *Mycosphaerella graminicola* (documento WO2009016202), d12Des(Nh) de *Nectria haematococca* (documento WO2009016202), d12Des(Ol) de *Ostreococcus lucimarinus* (documento WO2008040787), d12Des(Pb) de *Phycomyces blakesleeanus* (documento WO2009016202), d12Des(Ps) de *Phytophthora sojae* (documento WO2006100241) y d12Des(Tp) de *Thalassiosira pseudonana* (documento WO2006069710), las desaturasas d15, d15Des(Hr) de *Helobdella robusta* (documento WO2009016202), d15Des(Mc) de *Microcoleus chthonoplastes* (documento WO2009016202), d15Des(Mf) de *Mycosphaerella fijiensis* (documento WO2009016202), d15Des(Mg) de *Mycosphaerella graminicola* (documento WO2009016202) y d15Des(Nh)2 de *Nectria haematococca* (documento WO2009016202), las desaturasas d4, d4Des(Eg) de *Euglena gracilis* (documento WO2004090123), d4Des(Tc) de *Thraustochytrium* sp. (documento WO2002026946) y d4Des(Tp) de *Thalassiosira pseudonana* (documento WO2006069710), las desaturasas d5, d5Des(Ol)2 de *Ostreococcus lucimarinus* (documento WO2008040787), d5Des(Pp) de *Physcomitrella patens* (documento WO2004057001), d5Des(Pt) de *Phaeodactylum tricornutum* (documento WO200257465), d5Des(Tc) de *Thraustochytrium* sp. (documento WO2002026946), d5Des(Tp) de *Thalassiosira pseudonana* (documento WO2006069710) y las desaturasas d6, d6Des(Cp) de *Ceratodon purpureus* (documento WO2000075341), d6Des(Ol) de *Ostreococcus lucimarinus* (documento WO2008040787), d6Des(Ot) de *Ostreococcus tauri* (documento WO2006069710), d6Des(Pf) de *Primula farinosa* (documento WO2003072784), d6Des(Pir)_BO de *Pythium irregulare* (documento WO2002026946), d6Des(Pir) de *Pythium irregulare* (documento WO2002026946), d6Des(Plu) de *Primula luteola* (documento WO2003072784), d6Des(Pp) de *Physcomitrella patens* (documento WO200102591), d6Des(Pt) de *Phaeodactylum tricornutum* (documento WO2002057465), d6Des(Pv) de *Primula vialii* (documento WO2003072784) y d6Des(Tp) de *Thalassiosira pseudonana* (documento WO2006069710), las desaturasas d8, d8Des(Ac) de *Acanthamoeba castellanii* (EP1790731), d8Des(Eg) de *Euglena gracilis* (documento WO200034439) y d8Des(Pm) de *Perkinsus marinus* (documento WO2007093776), las desaturasas o3, o3Des(Pi) de *Phytophthora infestans* (documento WO2005083053), o3Des(Pir) de *Pythium irregulare* (documento WO2008022963), o3Des(Pir)2 de *Pythium irregulare* (documento WO2008022963) y o3Des(Ps) de *Phytophthora sojae* (documento WO2006100241), las elongasas d5d6 bifuncionales, d5d6Elo(Om)2 de *Oncorhynchus mykiss* (documento WO2005012316), d5d6Elo(Ta) de *Thraustochytrium aureum* (documento WO2005012316) y d5d6Elo(Tc) de *Thraustochytrium* sp. (documento WO2005012316), las elongasas d5, d5Elo(At) de *Arabidopsis thaliana* (documento WO2005012316), d5Elo(At)2 de *Arabidopsis thaliana* (documento WO2005012316), d5Elo(Ci) de *Ciona intestinalis* (documento WO2005012316), d5Elo(Ol) de *Ostreococcus lucimarinus* (documento WO2008040787), d5Elo(Ot) de *Ostreococcus tauri* (documento WO2005012316), d5Elo(Tp) de *Thalassiosira pseudonana* (documento WO2005012316) y d5Elo(Xl) de *Xenopus laevis* (documento WO2005012316), las elongasas d6, d6Elo(Ol) de *Ostreococcus lucimarinus* (documento WO2008040787), d6Elo(Ot) de *Ostreococcus tauri* (documento WO2005012316), d6Elo(Pi) de *Phytophthora infestans* (documento WO2003064638), d6Elo(Pir) de *Pythium irregulare* (documento WO2009016208), d6Elo(Pp) de *Physcomitrella patens* (documento WO2001059128), d6Elo(Ps) de *Phytophthora sojae* (documento WO2006100241), d6Elo(Ps)2 de *Phytophthora sojae* (documento WO2006100241), d6Elo(Ps)3 de *Phytophthora sojae* (documento WO2006100241), d6Elo(Pt) de *Phaeodactylum*

5 tricornutum (documento WO2005012316), d6Elo(Tc) de *Thraustochytrium* sp. (documento WO2005012316) y d6Elo(Tp) de *Thalassiosira pseudonana* (documento WO2005012316), las elongasas d9, d9Elo(Ig) de *Isochrysis galbana* (documento WO 2002/077213), d9Elo(Pm) de *Perkinsus marinus* (documento WO2007093776) y d9Elo(Ro) de *Rhizopus oryzae* (WO2009016208). Particularmente, si se planea la fabricación de ARA en plantas superiores, se pueden combinar las enzimas mencionadas en la Tabla 3, posterior (es decir, adicionalmente una d6-desaturasa, d6-elongasa, d5-elongasa, d5-desaturasa, d12-desaturasa, y d6-elongasa) o enzimas que tienen esencialmente la misma actividad en una célula huésped. Si se planea la fabricación de EPA en plantas superiores, se pueden combinar las enzimas mencionadas en la Tabla 4, posterior (es decir, adicionalmente una d6-desaturasa, d6-elongasa, d5-desaturasa, d12-desaturasa, d6-elongasa, omega 3-desaturasa y d15-desaturasa) o enzimas que tienen esencialmente la misma actividad en una célula huésped. Si se planea la fabricación de DHA en plantas superiores, se pueden combinar las enzimas mencionadas en la Tabla 5, posterior (es decir, adicionalmente una d6-desaturasa, d6-elongasa, d5-desaturasa, d12-desaturasa, d6-elongasa, omega 3-desaturasa, d15-desaturasa, d5-elongasa, y d4-desaturasa) o enzimas que tienen esencialmente la misma actividad en una célula huésped.

15 La presente invención también se refiere a una célula, preferentemente una célula huésped como se ha especificado anteriormente o una célula de un organismo no humano especificado en cualquier lugar del presente documento, comprendiendo dicha célula un polinucleótido que se obtiene del polinucleótido de la presente invención mediante una mutación puntual, truncado, inversión, eliminación, adición, sustitución y recombinación homóloga. El cómo llevar a cabo dichas modificaciones en un polinucleótido es bien conocido por el experto en la técnica y se ha descrito en otro sitio de la presente memoria descriptiva con detalle.

20 La presente invención, pertenece además a un procedimiento para la fabricación de un polipéptido codificado por un polinucleótido de cualquiera de la presente invención que comprende

- a) el cultivo de la célula huésped de la invención en condiciones que permiten la producción de dicho polipéptido; y
- b) la obtención del polipéptido de la célula huésped de la etapa a).

25 Las condiciones adecuadas que permiten la expresión del polinucleótido de la invención comprendido en la célula huésped depende de la célula huésped, así como la secuencia de control de la expresión que se utilice para gobernar la expresión de dicho polinucleótido. Estas condiciones y cómo seleccionarlas son muy bien conocidas por los expertos en la técnica. El polipéptido expresado se puede obtener, por ejemplo, mediante todas las técnicas de purificación convencionales incluyendo cromatografía de afinidad, cromatografía de exclusión por tamaño, cromatografía líquida a altas presiones (HPLC) y técnicas de precipitación incluyendo precipitación por anticuerpos. Se tiene que entender que el procedimiento puede no dar lugar necesariamente -aunque se prefiere- a una preparación esencialmente pura del polipéptido. Se tiene que entender que dependiendo de la célula huésped que se utilice para el procedimiento mencionado anteriormente, los polipéptidos producidos de esta manera pueden haber sido modificados post traduccionalmente o procesados de otra manera.

35 La presente invención también engloba un polipéptido codificado por el polinucleótido de la presente invención o que se puede obtener por el procedimiento mencionado anteriormente.

El término "polipéptido" como se utiliza en el presente documento engloba esencialmente polipéptidos purificados o preparaciones de polipéptidos que comprenden además otras proteínas. Además, el término también se refiere a las proteínas de fusión o fragmentos de polipéptido que son codificados al menos parcialmente por el polinucleótido de la presente invención al que se ha hecho referencia anteriormente. Además, incluye polipéptidos modificados químicamente. Dichas modificaciones pueden ser modificaciones artificiales o modificaciones de origen natural tales como la fosforilación, glicosilación, miristilación y similares (revisado en Mann 2003, Nat. Biotechnol. 21, 255-261, revisión enfocándose en las plantas en Huber 2004, Curr. Opin. Plant Biol. 7, 318-322). Actualmente, se conocen más de 300 modificaciones post traduccionales (véase, la lista de pesos Delta ABFRC completa en <http://www.abrf.org/index.cfm/dm.home>). Los polipéptidos de la presente invención presentarán la actividad desaturasa o elongasa a la que se ha hecho referencia anteriormente.

Se engloba en la presente invención, además, un anticuerpo o fragmentos del mismo que reconoce específicamente el polipéptido de SEQ ID NO: 2 o 6 o un polipéptido codificado por un polinucleótido como se muestra en las SEQ ID NO: 1 o 5 o un 90 % idéntico a estos y que tenga actividad desaturasa.

50 Los anticuerpos contra los polipéptidos de la invención se pueden preparar por procedimientos bien conocidos utilizando un polipéptido purificado de acuerdo con la invención o un fragmento adecuado derivado del mismo como antígeno. Un fragmento que sea adecuado como antígeno se puede identificar mediante algoritmos determinantes de antigenicidad bien conocidos en la técnica. Dichos fragmentos se pueden obtener del polipéptido de la invención por digestión proteolítica o puede ser un péptido sintético. Preferentemente, el anticuerpo de la presente invención es un anticuerpo monoclonal, un anticuerpo policlonal, un anticuerpo de cadena sencilla, un anticuerpo quimérico, o un fragmento de cualquiera de estos anticuerpos, tales como fragmentos Fab, Fv, o scFv, etc. También están comprendidos como anticuerpos de la presente invención los anticuerpos biespecíficos, anticuerpos sintéticos o derivados modificados químicamente de cualquiera de los anticuerpos mencionados anteriormente. El anticuerpo de la presente invención se unirá específicamente (es decir, no reaccionará de manera cruzada significativamente con

otros polipéptidos o péptidos) con el polipéptido de la invención. La unión específica se puede ensayar por distintas técnicas bien conocidas. Los anticuerpos o fragmentos de los mismos se pueden obtener utilizando procedimientos que se describen, por ejemplo, en Harlow y Lane "Antibodies, A Laboratory Manual", CSH Press, Cold Spring Harbor, 1988. Los anticuerpos monoclonales se pueden preparar por técnicas descritas originalmente en Köhler 1975, Nature 256, 495, y Galfre 1981, Meth. Enzymol. 73, 3, que comprenden la fusión de células de mieloma de 5 ratón con células esplénicas derivadas de mamíferos inmunizados. Los anticuerpos se pueden utilizar, por ejemplo, para la inmunoprecipitación, inmunolocalización o la purificación (por ejemplo, por cromatografía de afinidad) de los polipéptidos de la invención, así como para la monitorización de la presencia de dichas variantes de polipéptidos, por 10 ejemplo, en organismos recombinantes, y para la identificación de proteínas o compuestos que interactúan con las proteínas de acuerdo con la invención.

Además, la presente invención contempla un organismo transgénico no humano que comprende el polinucleótido o el vector de la presente invención.

Preferentemente, el organismo transgénico no humano es una planta, una parte de una planta o una semilla de la planta. Las plantas preferidas que se van a utilizar para la introducción del polinucleótido o el vector de la invención 15 son plantas que son capaces de sintetizar ácidos grasos, tales como todas las plantas dicotiledóneas, monocotiledóneas, algas y musgos. Se tiene que entender que las células huésped derivadas de una planta también se pueden utilizar para producir una planta de acuerdo con la presente invención. Las plantas preferidas se seleccionan de entre el grupo de familias de plantas Adolotheciaceae, Anacardiaceae, Asteraceae, Apiaceae, Betulaceae, Boraginaceae, Brassicaceae, Bromeliaceae, Caricaceae, Cannabaceae, Convolvulaceae, 20 Chenopodiaceae, Crypthecodiniaceae, Cu-curbitaceae, Ditrichaceae, Elaeagnaceae, Ericaceae, Euphorbiaceae, Fabaceae, Geraniaceae, Gramineae, Juglandaceae, Lauraceae, Leguminosae, Linaceae, Prasinophyceae o verduras o plantas ornamentales tales como los Tagetes. Los ejemplos que se pueden mencionar son las siguientes plantas seleccionadas de entre el grupo que consiste en: Adolotheciaceae tal como los géneros Physcomitrella, tal como el género y especie Physcomitrella patens, Anacardiaceae tal como los géneros Pistacia, Mangifera, 25 Anacardium, por ejemplo el género y especie Pistacia vera [pistacho], Mangifera indica [mango] o Anacardium occidentale [anacardo], Asteraceae, tal como los géneros Calendula, Carthamus, Centaurea, Cichorium, Cynara, Helianthus, Lactuca, Locusta, Tagetes, Valeriana, por ejemplo el género y especie Calendula officinalis [caléndula común], Carthamus tinctorius [cártamo], Centaurea cyanus [aciano], Cichorium intybus [achicoria], Cynara scolymus [alcachofa], Helianthus annuus [girasol], Lactuca sativa, Lactuca crisper, Lactuca esculenta, Lactuca scariola L. spp. 30 sativa, Lactuca scariola L. var. integrata, Lactuca scariola L. var. integrifolia, Lactuca sativa subesp. romana, Locusta communis, Valeriana locusta [verduras de ensalada], Tagetes lucida, Tagetes erecta o Tagetes tenuifolia [caléndula africana o francesa], Apiaceae, tal como el género Daucus, por ejemplo el género y especie Daucus carota [zanahoria], Betulaceae, tal como el género Corylus, por ejemplo los géneros y especies Corylus avellana o Corylus 35 columna [avellana], Boraginaceae, tal como el género Borago, por ejemplo el género y especie Borago officinalis [borraja], Brassicaceae, tal como los géneros Brassica, Melanosinapis, Sinapis, Arabidopsis, por ejemplo los géneros y especies Brassica napus, Brassica rapa spp. [Colza oleaginosa], Sinapis arvensis Brassica juncea, Brassica juncea var. juncea, Brassica juncea var. crispifolia, Brassica juncea var. foliosa, Brassica nigra, Brassica sinapioides, Melanosinapis communis [mostaza], Brassica oleracea [remolacha forrajera] o Arabidopsis thaliana, Bromeliaceae, 40 tal como los géneros Anana, Bromelia (piña), por ejemplo los géneros y especies Anana comosus, Ananas o Bromelia comosa [piña], Caricaceae, tal como el género Carica, tal como el género y especie Carica papaya [papaya], Cannabaceae, tal como el género Cannabis, tal como el género y especie Cannabis sativa [marihuana], Convolvulaceae, tal como los géneros Ipomea, Convolvulus, por ejemplo los géneros y especies Ipomoea batatas, 45 Ipomoea pandurata, Convolvulus batatas, Convolvulus tiliaceus, Ipomoea fastigiata, Ipomoea tiliacea, Ipomoea triloba o Convolvulus panduratus [patata dulce, batata], Chenopodiaceae, tal como el género Beta, tal como los géneros y especies Beta vulgaris, Beta vulgaris var. altissima, Beta vulgaris var. Vulgaris, Beta maritima, Beta vulgaris var. perennis, Beta vulgaris var. conditiva o Beta vulgaris var. esculenta [remolacha azucarera], Crypthecodiniaceae, tal como el género Crypthecodinium, por ejemplo el género y especie Crypthecodinium cohnii, 50 Cucurbitaceae, tal como el género Cucurbita, por ejemplo los géneros y especies Cucurbita maxima, Cucurbita mixta, Cucurbita pepo o Cucurbita moschata [calabaza/calabacín], Cymbellaceae tal como los géneros Amphora, Cymbella, Okedenia, Phaeodactylum, Reimeria, por ejemplo el género y especie Phaeodactylum tricornutum, Ditrichaceae tal como los géneros Ditrichaceae, Astomiopsis, Ceratodon, Chrysoblastella, Ditrichum, Distichium, Eccremidium, Lophidion, Philibertiella, Pleuridium, Saelania, Trichodon, Skottsbergia, por ejemplo los géneros y 55 especies Ceratodon antarcticus, Ceratodon columbiae, Ceratodon heterophyllus, Ceratodon purpureus, Ceratodon purpureus, Ceratodon purpureus spp. convolutus, Ceratodon, purpureus spp. stenocarpus, Ceratodon purpureus var. rotundifolius, Ceratodon ratodon, Ceratodon stenocarpus, Chrysoblastella chilensis, Ditrichum ambiguum, Ditrichum brevisetum, Ditrichum crispatisimum, Ditrichum difficile, Ditrichum falcifolium, Ditrichum flexicaule, Ditrichum giganteum, Ditrichum heteromallum, Ditrichum lineare, Ditrichum lineare, Ditrichum montanum, Ditrichum montanum, 60 Ditrichum pallidum, Ditrichum punctulatum, Ditrichum pusillum, Ditrichum pusillum var. tortile, Ditrichum rhynchostegium, Ditrichum schimperii, Ditrichum tortile, Distichium capillaceum, Distichium hagenii, Distichium inclinatum, Distichium macounii, Eccremidium floridanum, Eccremidium whiteleggei, Lophidion strictus, Pleuridium acuminatum, Pleuridium alternifolium, Pleuridium holdridgei, Pleuridium mexicanum, Pleuridium ravenelii, Pleuridium subulatum, Saelania glaucescens, Tri-chodon borealis, Trichodon cylindricus o Trichodon cylindricus var. oblongus, Elaeagnaceae tal como el género Elaeagnus, por ejemplo el género y especie Olea europaea [olivo], Ericaceae tal como el género Kalmia, por ejemplo los géneros y especies Kalmia latifolia, Kalmia angustifolia, Kalmia microphylla,

Kalmia polifolia, Kalmia occidentalis, Cistus chamaerhodendros o Kalmia lucida [laurel de montaña], Euphorbiaceae tal como los géneros Manihot, Janipha, Jatropha, Ricinus, por ejemplo los géneros y especies Manihot utilissima, Janipha manihot, Jatropha manihot, Manihot aipil, Manihot dulcis, Manihot, Manihot melanobasis, Manihot esculenta [mandioca] o Ricinus communis [ricino], Fabaceae tal como los géneros Pisum, Albizia, Cathormion, Feuillea, Inga, Pithecolobium, Acacia, Mimosa, Medicago, Glycine, Dolichos, Phaseolus, Soja, por ejemplo los géneros y especies Pisum sativum, Pisum arvense, Pisum humile [guisante], Albizia berteriana, Albizia julibrissin, Albizia lebbeck, Acacia berteriana, Acacia littoralis, Albizia berteriana, Albizzia berteriana, Cathormion berteriana, Feuillea berteriana, Inga fragrans, Pithecellobium berterianum, Pithecellobium fragrans, Pithecolobium berterianum, Pseudalbizzia berteriana, Acacia julibrissin, Acacia nemu, Albizia nemu, Feuillea julibrissin, Mimosa julibrissin, Mimosa speciosa, Sericanrda julibrissin, Acacia lebbeck, Acacia macrophylla, Albizia lebbeck, Feuillea lebbeck, Mimosa lebbeck, Mimosa speciosa [arbol de seda], Medicago sativa, Medicago falcata, Medicago varia [alfalfa], Glycine max Dolichos soja, Glycine gracilis, Glycine hispida, Phaseolus max, Soja hispida o Soja max [soja], Funariaceae tal como los géneros Aphanorrhagma, Entosthodon, Funaria, Physcomitrella, Physcomitrium, por ejemplo los géneros y especies Aphanorrhagma serratum, Entosthodon attenuatus, Entosthodon bolanderi, Entosthodon bonplandii, Entosthodon californicus, Entosthodon drummondii, Entosthodon jamesonii, Entosthodon leibergii, Entosthodon neoscoticus, Entosthodon rubrissetus, Entosthodon spathulifolius, Entosthodon tucsoni, Funaria americana, Funaria bolanderi, Funaria calcarea, Funaria californica, Funaria calvescens, Funaria convoluta, Funaria flavicans, Funaria groutiana, Funaria hygrometrica, Funaria hygrometrica var. arctica, Funaria hygrometrica var. calvescens, Funaria hygrometrica var. convoluta, Funaria hygrometrica var. muralis, Funaria hygrometrica var. utahensis, Funaria microstoma, Funaria microstoma var. obtusifolia, Funaria muhlenbergii, Funaria orcuttii, Funaria planoconvexa, Funaria polaris, Funaria ravenelii, Funaria rubriseta, Funaria serrata, Funaria sonora, Funaria sublimbatus, Funaria tucsoni, Physcomitrella californica, Physcomitrella patens, Physcomitrella readeri, Physcomitrium australe, Physcomitrium californicum, Physcomitrium collenchymatum, Physcomitrium coloradense, Physcomitrium cupuliferum, Physcomitrium drummondii, Physcomitrium eurytomum, Physcomitrium flexifolium, Physcomitrium hookeri, Physcomitrium hookeri var. serratum, Physcomitrium immersum, Physcomitrium kellermanii, Physcomitrium megalocarpum, Physcomitrium pyriforme, Physcomitrium pyriforme var. serratum, Physcomitrium rufipes, Physcomitrium sandbergii, Physcomitrium subsphaericum, Physcomitrium washingtoniense, Geraniaceae, tal como los géneros Pelargonium, Cocos, Oleum, por ejemplo los géneros y especies Cocos nucifera, Pelargonium grossularioides o Oleum cocois [coco], Gramineae, tal como el género Saccharum, por ejemplo el género y especie Saccharum officinarum, Juglandaceae, tal como los géneros Juglans, Wallia, por ejemplo los géneros y especies Juglans regia, Juglans ailanthifolia, Juglans sieboldiana, Juglans cinerea, Wallia cinerea, Juglans bixbyi, Juglans californica, Juglans hindsii, Juglans intermedia, Juglans jamaicensis, Juglans major, Juglans microcarpa, Juglans nigra o Wallia nigra [nuez], Lauraceae, tal como los géneros Persea, Laurus, por ejemplo los géneros y especies Laurus nobilis [laurel], Persea americana, Persea gratissima o Persea persea [aguacate], Leguminosae, tal como el género Arachis, por ejemplo el género y especie Arachis hypogaea [maní], Linaceae, tal como los géneros Linum, Adenolinum, por ejemplo los géneros y especies Linum usitatissimum, Linum humile, Linum austriacum, Linum bienne, Linum angustifolium, Linum catharticum, Linum flavum, Linum grandiflorum, Adenolinum grandiflorum, Linum lewisii, Linum narbonne, Linum perenne, Linum perenne var. lewisii, Linum pratense o Linum trigynum [lino], Lythraeae, tal como el género Punica, por ejemplo el género y especie Punica granatum [granada], Malvaceae, tal como el género Gossypium, por ejemplo los géneros y especies Gossypium hirsutum, Gossypium arboreum, Gossypium barbadense, Gossypium herbaceum o Gossypium thurberi [algodón], Marchantiaceae, tal como el género Marchantia, por ejemplo los géneros y especies Marchantia berteriana, Marchantia foliacea, Marchantia macropora, Musaceae, tal como el género Musa, por ejemplo los géneros y especies Musa nana, Musa acuminata, Musa paradisiaca, Musa spp. [banana], Onagraceae, tal como los géneros Camissonia, Oenothera, por ejemplo los géneros y especies Oenothera biennis o Camissonia brevipes [prímula vespertina], Palmae, tal como el género Elaeis, por ejemplo el género y especie Elaeis guineensis [palma oleaginosa], Papaveraceae, tal como el género Papaver, por ejemplo los géneros y especies Papaver orientale, Papaver rhoeas, Papaver dubium [amapola], Pedaliaceae, tal como el género Sesamum, por ejemplo el género y especie Sesamum indicum [sésamo], Piperaceae, tal como los géneros Piper, Artanthe, Peperomia, Steffensia, por ejemplo los géneros y especies Piper aduncum, Piper amalago, Piper angustifolium, Piper auritum, Piper betel, Piper cubeba, Piper longum, Piper nigrum, Piper retrofractum, Artanthe adunca, Artanthe elongata, Peperomia elongata, Piper elongatum, Steffensia elongata [pimienta cayena], Poaceae, tal como los géneros Hordeum, Secale, Avena, Sorghum, Andropogon, Holcus, Panicum, Oryza, Zea (maíz), Triticum, por ejemplo los géneros y especies Hordeum vulgare, Hordeum jubatum, Hordeum murinum, Hordeum secalinum, Hordeum distichon, Hordeum aegiceras, Hordeum hexastichon, Hordeum hexastichum, Hordeum irregulare, Hordeum sativum, Hordeum secalinum [cebada], Secale cereale [centeno], Avena sativa, Avena fatua, Avena byzantina, Avena fatua var. sativa, Avena hybrida [avena], Sorghum bicolor, Sorghum halepense, Sorghum saccharatum, Sorghum vulgare, Andropogon drummondii, Holcus bicolor, Holcus sorghum, Sorghum aethiopicum, Sorghum arundinaceum, Sorghum cafferum, Sorghum cernuum, Sorghum dochna, Sorghum drummondii, Sorghum durra, Sorghum guineense, Sorghum lanceolatum, Sorghum nervosum, Sorghum saccharatum, Sorghum subglabrescens, Sorghum verticilliflorum, Sorghum vulgare, Holcus halepensis, Sorghum miliaceum, Panicum militaceum [mijo], Oryza sativa, Oryza latifolia [arroz], Zea mays [maíz], Triticum aestivum, Triticum durum, Triticum turgidum, Triticum hybernum, Triticum macha, Triticum sativum o Triticum vulgare [trigo], Porphyridiaceae, tal como los géneros Chrootheca, Flintiella, Petrovannella, Porphyridium, Rhodella, Rhodosorus, Vanhoefenia, por ejemplo el género y especie Porphyridium cruentum, Proteaceae, tal como el género Macadamia, por ejemplo el género y especie Macadamia integrifolia [macadamia], Prasinophyceae tal como los géneros Nephroselmis, Prasinococcus, Scherffelia, Tetraselmis, Mantoniella, Ostreococcus, por ejemplo los géneros y especies Nephroselmis olivacea, Prasinococcus

capsulatus, *Scherffelia dubia*, *Tetraselmis chui*, *Tetraselmis suecica*, *Mantoniella squamata*, *Ostreococcus tauri*, Rubiaceae tal como el género *Coffea*, por ejemplo los géneros y especies *Coffea* spp., *Coffea arabica*, *Coffea canephora* o *Coffea liberica* [café], Scrophulariaceae tal como el género *Verbascum*, por ejemplo los géneros y especies *Verbascum blattaria*, *Verbascum chaixii*, *Verbascum densiflorum*, *Verbascum lagurus*, *Verbascum longifolium*, *Verbascum lychnitis*, *Verbascum nigrum*, *Verbascum olympicum*, *Verbascum phlo-moides*, *Verbascum phoenicum*, *Verbascum pulverulentum* o *Verbascum thapsus* [gordolobo], Solanaceae tal como los géneros *Capsicum*, *Nicotiana*, *Solanum*, *Lycopersicon*, por ejemplo los géneros y especies *Capsicum annuum*, *Capsicum annuum* var. *glabriusculum*, *Capsicum frutescens* [pimienta], *Capsicum annuum* [pimentón], *Nicotiana tabacum*, *Nicotiana alata*, *Nicotiana attenuata*, *Nicotiana glauca*, *Nicotiana langsdorffii*, *Nicotiana obtusifolia*, *Nicotiana quadrivalvis*, *Nicotiana repanda*, *Nicotiana rustica*, *Nicotiana sylvestris* [tabaco], *Solanum tuberosum* [patata], *Solanum melongena* [berenjena], *Lycopersicon esculentum*, *Lycopersicon lycopersicum*, *Lycopersicon pyriforme*, *Solanum integrifolium* o *Solanum lycopersicum* [tomate], Sterculiaceae, tal como el género *Theobroma*, por ejemplo el género y especie *Theobroma cacao* [cacao] o Theaceae, tal como el género *Camellia*, por ejemplo el género y especie *Camellia sinensis* [té]. En particular, las plantas preferidas que se van a utilizar como plantas transgénicas de acuerdo con la presente invención son cultivos de frutos oleaginosos que comprenden grandes cantidades de compuestos lipídicos tales como maní, colza oleaginosa, canola, girasol, cártamo, amapola, mostaza, adormidera, ricino, olivo, sésamo, caléndula, Púnica, prímula vespertina, gordolobo, cardo, rosas silvestres, avellana, almendra, macadamia, aguacate, laurel, calabaza, calabacín, lino, soja, pistacho, borraja, árboles (palma oleaginosa, coco, nogal) o cultivos tales como el maíz, trigo, centeno, avena, triticale, arroz, cebada, algodón, mandioca, pimienta, tagetes, plantas solanáceas tales como la patata, tabaco, berenjena y tomate, especies de Vicia, guisantes, alfalfa o plantas arbustivas (café, cacao, té), especies de *Salix*, y hierbas perennes y cultivos forrajeros. Las plantas preferidas de acuerdo con la invención son cultivos de plantas oleaginosas tales como el maní, colza oleaginosa, canola, girasol, cártamo, amapola, mostaza, marihuana, ricino, olivo, Caléndula, Púnica, prímula vespertina, calabaza/calabacín, lino, soja, borraja, árboles (palma oleaginosa, coco). Especialmente preferidas son el girasol, cártamo, tabaco, gordolobo, sésamo, algodón, calabaza/calabacín, amapola, prímula vespertina, nogal, lino, marihuana, cardo o cártamo. Las plantas preferidas muy especialmente son plantas tales como el cártamo, girasol, amapola, prímula vespertina, nogal, lino o marihuana.

Los musgos preferidos son *Physcomitrella* o *Ceratodon*. Las algas preferidas son *Isochrysis*, *Mantoniella*, *Ostreococcus* o *Cryptocodinium*, y algas/diatomeas tales como *Phaeodactylum* o *Thraustochytrium*. Más preferentemente, dichas algas o musgos se seleccionan de entre el grupo que consiste en: *Emiliana*, *Shewanella*, *Physcomitrella*, *Thraustochytrium*, *Fusarium*, *Phytophthora*, *Ceratodon*, *Isochrysis*, *Aleurita*, *Muscarioides*, *Mortierella*, *Phaeodactylum*, *Cryptocodinium*, específicamente de los géneros y especies *Thallasiosira pseudonona*, *Euglena gracilis*, *Physcomitrella patens*, *Phytophthora infestans*, *Fusarium gramineum*, *Cryptocodinium cohnii*, *Ceratodon purpureus*, *Isochrysis galbana*, *Aleurita farinosa*, *Thraustochytrium* sp., *Muscarioides viallii*, *Mortierella alpina*, *Phaeodactylum tricornutum* o *Caenorhabditis elegans* o especialmente de manera ventajosa *Phytophthora infestans*, *Thallasiosira pseudonona* y *Cryptocodinium cohnii*.

Las plantas transgénicas se pueden obtener mediante técnicas de transformación como en cualquier sitio de la presente memoria descriptiva. Preferentemente, las plantas transgénicas se pueden obtener mediante transformación mediada por T-ADN. Dichos sistemas de vector se caracterizan, como regla, porque contienen al menos los genes *vir*, que son necesarios para la transformación mediada por *Agrobacterium*, y las secuencias que delimitan el T-ADN (frontera de T-ADN). Los vectores se han descrito en detalle en otro sitio de la memoria descriptiva.

También se engloban animales transgénicos no humanos que comprenden el vector o el polinucleótido de la presente invención. Los animales transgénicos no humanos concebidos en la presente invención son peces, tales como arenque, salmón, sardina, gallineta nórdica, anguila, carpa, trucha, bacalao, caballa, lucioperca o atún.

Sin embargo, se entenderá que, dependiendo del organismo transgénico no humano especificado anteriormente, adicionalmente, se pueden conferir actividades enzimáticas a dicho organismo, por ejemplo, mediante tecnologías recombinantes. En consecuencia, la presente invención, preferentemente, concibe un organismo transgénico no humano especificado anteriormente que además del polinucleótido de la presente invención comprende polinucleótidos que codifican dichas desaturasas y/o elongasas según se necesite dependiendo de la célula huésped. Las desaturasas y/o elongasas que estarán presentes en el organismo son al menos una enzima seleccionada de entre el grupo de desaturasas y/o elongasas o las combinaciones mencionadas específicamente en otro sitio de la presente memoria descriptiva (véase anteriormente y las Tablas 3, 4 y 5).

Además, la presente invención engloba un procedimiento para la fabricación de ácidos grasos poliinsaturados que comprende:

- a) el cultivo de la célula huésped de la invención en condiciones que permitan la producción de ácidos grasos poliinsaturados en dicha célula huésped;
- b) la obtención de dichos ácidos grasos poliinsaturados de dicha célula huésped.

La expresión "ácidos grasos poliinsaturados (PUFA)" como se utiliza en el presente documento se refiere a ácidos grasos que comprenden al menos dos, preferentemente, tres, cuatro, cinco o seis dobles enlaces. Además, se tiene

- que entender que dichos ácidos grasos comprenden, preferentemente, de 18 a 24 átomos de carbono en la cadena de ácido graso. Más preferentemente, la expresión se refiere a PUFA de cadena larga (LCPUFA) que tiene desde 20 a 24 átomos de carbono en la cadena de ácido graso. Los ácidos grasos insaturados preferidos en el sentido de la presente invención se seleccionan de entre el grupo que consiste en DGLA 20:3 (8,11,14), ARA 20:4 (5,8,11,14), iARA 20:4(8,11,14,17), EPA 20:5 (5,8,11,14,17), DPA 22:5 (4,7,10,13,16), DHA 22:6 (4,7,10,13,16,19), 20:4 (8,11,14,17), más preferentemente, ácido araquidónico (ARA) 20:4 (5,8,11,14), ácido eicosapentaenoico (EPA) 20:5 (5,8,11,14,17), y ácido docosahexaenoico (DHA) 22:6 (4,7,10,13,16,19). Por lo tanto, se entenderá que más preferentemente, los procedimientos proporcionados por la presente invención pertenecen a la fabricación de ARA, EPA o DHA. Además, también se engloban los intermediarios de LCPUFA que se producen durante la síntesis.
- Dichos intermediarios se forman, preferentemente, a partir de sustratos mediante la actividad de la desaturasa o elongasa de los polipéptidos de la presente invención. Preferentemente, los sustratos engloban LA 18:2 (9,12), ALA 18:3(9,12,15), ácido Eicosadienoico 20:2 (11,14), ácido Eicosatrienoico 20:3 (11,14,17)), DGLA 20:3 (8,11,14), ARA 20:4 (5,8,11,14), ácido eicosatetraenoico 20:4 (8,11,14,17), ácido Eicosapentaenoico 20:5 (5,8,11,14,17), ácido Docosahexapentaenoico 22:5 (7,10,13,16,19).
- El término "cultivar" como se utiliza en el presente documento se refiere a mantener y cultivar las células huésped en condiciones de cultivo que permitan a las células producir dichos ácidos grasos poliinsaturados, es decir, los PUFA y/o LCPUFA a los que se hace referencia anteriormente. Esto implica que el polinucleótido de la presente invención se exprese en la célula huésped de manera que la actividad de la desaturasa y/o elongasa esté presente. Las condiciones de cultivo adecuadas para el cultivo de la célula huésped se describen con más detalla posteriormente.
- El término "obtención" como se utiliza en el presente documento engloba la provisión del cultivo celular que incluye las células huésped y el medio de cultivo, así como la provisión de preparaciones purificadas o parcialmente purificadas del mismo que comprende los ácidos grasos poliinsaturados, preferentemente ARA, EPA, DHA, en forma libre o unidos a la CoA, como fosfolípidos de membrana o como ésteres triacilglicéridos. Más preferentemente, el PUFA y LCPUFA se van a obtener como ésteres triglicéridos, por ejemplo, en forma de aceite. Más detalles de las técnicas de purificación se pueden encontrar en otra parte del presente documento posteriormente.

Las células huésped que se van a utilizar en el procedimiento de la invención se cultivan o son cultivadas de una manera con la que está familiarizado el experto, dependiendo del organismo huésped. Habitualmente, las células huésped se cultivan en un medio líquido que comprende una fuente de carbono, habitualmente en forma de azúcares, una fuente de nitrógeno, habitualmente en forma de fuentes de nitrógeno orgánico tales como extractos de levadura o sales tales como el sulfato amónico, elementos traza tales como sales de hierro, manganeso y magnesio y, si es apropiado, vitaminas, a temperaturas de entre 0 °C y 100 °C, preferentemente entre 10 °C y 60 °C en atmósfera de oxígeno o anaeróbica dependiendo del tipo de organismo. El pH del medio líquido se puede mantener constante, esto quiere decir regulado durante el periodo de cultivo, o no. Los cultivos se pueden cultivar de manera discontinua, semicontinua o continua. Los nutrientes se pueden proporcionar al principio de la fermentación o se administran de manera semicontinua o continua: El PUFA o LCPUFA se puede aislar de las células huésped como se ha descrito anteriormente mediante procedimientos conocidos por el experto, por ejemplo, por extracción, destilación, cristalización, si fuera apropiado con precipitación con sales, y/o cromatografía. Puede ser necesario destruir las células huésped antes de la purificación. En este extremo, las células huésped se pueden destruir con anterioridad. El medio de cultivo que se va a utilizar cumple adecuadamente con las necesidades de las células huésped en cuestión. Las descripciones de los medios de cultivo para los distintos microorganismos que se pueden utilizar como células huésped de acuerdo con la presente invención se pueden encontrar en el libro de texto "Manual of Methods for General Bacteriology" of the American Society for Bacteriology (Washington D.C., USA, 1981). Los medios de cultivo se pueden obtener también a partir de distintos proveedores comerciales. Todos los componentes de los medios se esterilizan por calor o por esterilización mediante un filtro. Todos los componentes de los medios pueden estar presentes al inicio del cultivo o añadirse continuamente o de manera discontinua, según se desee. Si el polinucleótido o el vector de la invención que se ha introducido en la célula huésped comprende adicionalmente un marcador genético que se puede expresar, tal como un gen de resistencia a antibióticos, puede ser necesario añadir un agente de selección al cultivo, tal como un antibiótico con el fin de mantener la estabilidad del polinucleótido introducido. El cultivo se continúa hasta la que formación del producto deseado esté al máximo. Esto se consigue normalmente dentro de 10 a 160 horas. Los caldos de fermentación se pueden utilizar directamente o se pueden procesar adicionalmente. La biomasa puede retirarse completa o parcialmente, según las necesidades, del caldo de fermentación mediante procedimientos de separación tales como, por ejemplo, centrifugación, filtración, decantación o una combinación de estos procedimientos, y se dejan completamente en dicho caldo. Las preparaciones de ácidos grasos obtenidas por el procedimiento de la invención, por ejemplo, aceites, que comprenden los PUFA o LCPUFA deseados como ésteres triglicéridos también son adecuados como material de partida para la síntesis química de productos de interés adicionales. Por ejemplo, se pueden utilizar en combinación entre ellos o solos para la preparación de composiciones farmacéuticas o cosméticas, alimentos o piensos para animales. Los triglicéridos químicamente puros que comprenden los PUFA o LCPUFA deseados también se pueden fabricar por los procedimientos descritos anteriormente. En este extremo, las preparaciones de ácidos grasos se purifican adicionalmente mediante extracción, destilación, cristalización, cromatografía o combinaciones de estos procedimientos. Con el fin de liberar los restos de ácidos grasos de los triglicéridos puede ser también necesaria una hidrólisis. Dichos triglicéridos químicamente puros o ácidos grasos libres son, en particular, adecuados para aplicaciones en la industria alimentaria o para composiciones cosméticas y farmacológicas.

Además, la presente invención se refiere a un procedimiento para la fabricación de ácidos grasos poliinsaturados que comprende:

- a) el cultivo del organismo transgénico no humano de la invención en condiciones que permitan la producción de ácidos grasos poliinsaturados en dicho organismo transgénico no humano; y
- b) la obtención de dichos ácidos grasos poliinsaturados de dicho organismo transgénico no humano.

Adicionalmente, continuando con lo anterior, también se concibe un procedimiento para la fabricación de un aceite, lípido o composición de ácidos grasos por la presente invención que comprende las etapas de cada uno de los procedimientos mencionados anteriormente y la etapa adicional de la formulación del PUFA o LCPUFA como un aceite, o composición de ácidos grasos. Preferentemente, dicho aceite, lípido o composición de ácidos grasos se va a utilizar para un pienso, un alimento cosméticos o medicamentos. En consecuencia, la formulación del PUFA o LCPUFA se llevará a cabo de acuerdo con las convenciones GMP para los productos individuales que se conciben. Por ejemplo, un aceite se puede obtener de semillas de plantas mediante un molino de aceite. Sin embargo, por razones de seguridad del producto, se puede necesitar una esterilización según la convención GMP aplicable. Se aplicarán convenciones similares para los lípidos o composiciones de ácidos grasos que se apliquen en composiciones cosméticas o farmacéuticas. Todas estas medidas para la formulación del aceite, lípido o composiciones de ácidos grasos como productos están comprendidas por la fabricación mencionada anteriormente.

El término "aceite" se refiere a una mezcla de ácidos grasos que comprende ácidos grasos insaturados y/o saturados que se esterifican en triglicéridos. Preferentemente, los triglicéridos del aceite de la invención comprenden PUFA o LCPUFA como se ha hecho referencia anteriormente. La cantidad de PUFA y/o LCPUFA esterificados es, preferentemente, aproximadamente un 30 %, se prefiere más un contenido del 50 %, es incluso más preferido un contenido del 60 %, 70 %, 80 % o más. El aceite puede comprender adicionalmente ácidos grasos libres, preferentemente, el PUFA y LCPUFA a los que se hace referencia anteriormente. Para el análisis, el contenido de ácidos grasos se puede determinar, por ejemplo, mediante análisis GC después de convertir los ácidos grasos en metil ésteres mediante transesterificación. El contenido de los distintos ácidos grasos en el aceite o grasa puede variar, en particular dependiendo de la fuente. El aceite, sin embargo, tendrá una composición que no es de origen natural con respecto a la composición y contenido del PUFA y/o LCPUFA. Se entenderá que dicha composición de aceite única y el patrón de esterificación único de PUFA y LCPUFA en los triglicéridos del aceite solo se podrá obtener aplicando los procedimientos de la presente invención que se han especificado anteriormente. Además, el aceite de la invención puede comprender otras especies moleculares también. Específicamente, puede comprender impurezas menores del polinucleótido o el vector de la invención. Dichas impurezas, sin embargo, se pueden detectar solamente por técnicas altamente sensibles tales como la PCR.

Los contenidos de todas las referencias citadas a lo largo de la presente solicitud se incorporan con el presente documento por referencia en general y con respecto a su contenido específico de la divulgación al que se hace referencia anteriormente.

Figuras

La Figura 1 muestra una figura esquemática de las diferentes actividades enzimáticas que dan lugar a la producción de ARA, EPA y DHA.

La Figura 2 muestra un experimento de expresión en levaduras con alimentación de 22:5n-3 en presencia (A) y ausencia (B) de d4Des(Eh)

La Figura 3 muestra un experimento de expresión en levaduras con alimentación de 20:3n-3 en presencia (A) y ausencia (B) de d8Des(Eh)

La Figura 4 muestra un experimento de expresión en levaduras con alimentación de 18:3n-3 en presencia (A) y ausencia (B) de d9Elo(Eh)

La Figura 5 muestra un experimento de expresión en levaduras con alimentación de 18:3n-6 (GLA) y 18:4n-3 (SDA) en presencia (A) y ausencia (B) de d5Elo(Eh)

La Figura 6 muestra un experimento de expresión en levaduras con alimentación de 20:4n-6 (ARA) y 20:5n-3 (EPA) en presencia (A) y ausencia (B) de d5Elo(Eh)

La Figura 7 muestra la expresión de d9Elo(Eh) en semillas de dos casos de *Arabidopsis*. Como semillas de control se muestra la no expresión de d9Elo(Eh) (WT).

La Figura 8 muestra el análisis de Acil-CoA de semillas de *Arabidopsis* maduras de ambos eventos que expresan la d9Elo(Eh) en comparación con semillas que no expresan la d9Elo(Eh) (Col0)).

La Figura 9 muestra la expresión de d9Elo(Eh), d8Des(Eh) y d5Des(Eh) en semillas de distintos casos de *Arabidopsis*.

La Figura 10 muestra el análisis cromatográfico de gases de semillas maduras de *Arabidopsis* transformadas con

la construcción 0stEL05EmD4. Los picos se cuantificaron y se enumeraron en la tabla inferior. Los productos de la actividad de d5Elo(Ot) y d4Des(Eh) son 22:6n-3 (DHA).

La Figura 11 es una comparación entre dos d4-desaturasas (Tc y Eh) que muestran que d4Des(Eh) es diferente de las d4-desaturasas conocidas ya que produce una alta relación de DHA:DPA.

5 La Figura 12 muestra la expresión de d5Elo(Eh) en semillas de distintos casos de *Arabidopsis*.

La Figuras 13 es una comparación entre tres d6-desaturasas diferentes y la especificidad de sustrato de d5Des(Eh).

10 La presente invención se ilustra adicionalmente mediante los siguientes ejemplos que no se deberían considerar como limitantes. Los contenidos de todas las referencias, patentes y solicitudes de patentes publicadas que se citan a lo largo de la presente solicitud, así como las figuras, se incorporan en el presente documento por referencia.

Ejemplos

Ejemplo 1: Organismos y condiciones de cultivo

Se cultivó la *Emiliana huxleyi* como describen Sciandra y col. (2003) Marine Ecology Progress Series 261:111-122 con las siguientes condiciones:

15 Cultivo en matraces cónicos de 50 ml utilizando medio K/2 (Keller y col. (1987) Journal of Phycology 23:633-638). Los matraces se colocaron en una cámara de cultivo a una temperatura de $17 \pm 0,1$ °C con una radiación de 14L:10D. Se proporcionó luz mediante lámparas fluorescentes dando una densidad flux fotónica (400 a 700 nm) de 170 mmol fotón m⁻² s⁻¹.

Ejemplo 2: Clonación de nuevas secuencias de desaturasa y elongasa

20 Se extrajo el ARN de las células cultivadas como se describe en el Ejemplo 1 utilizando el kit de extracción de ARN de Qiagen, se generó una biblioteca RACE utilizando el kit RACE de Clontech. De las secuencias de la biblioteca RACE para desaturasas y elongasas se amplificaron por PCR utilizando los siguientes pares de cebadores y condiciones de la PCR.

Reacción de PCR (50 µl):

25 5,00 µl de ADNc matriz
5,00 µl de 10x Tampón (Advantage-Polymerase) + 25 mM de MgCl₂
5,00 µl de dNTP 2 mM
1,25 µl de cebador je (10 pmol/µl)
0,50 µl de Advantage-Polymerase

30 Se utilizó la mezcla Advantage-Polymerase de Clontech.

Condiciones de reacción de la PCR:

Hibridación: 1 min 55 °C
Desnaturalización: 1 min 94 °C
Prolongación: 2 min 72 °C
35 Ciclos: 35

Pares de cebadores utilizados en la PCR:

Nombre	Par de cebadores (orientación 5')	SEQ ID NO.
Eh4ff	CCATGGGAGGCGCCGGCGCGAG	11
Eh4rv	CTAGTCCGCCTTGAGGTTCTC	12
Eh5ff	ACCATGTGCAAGGCGAGCGGCCT	13
Eh5rv	TCACCAATCATGAGGAAGGT	14
Eh8ff	CCATGGGCAAGGGCGGCAACGC	15
Eh8rv	GGGCAGAGATGCCGCACTAG	16
Eh9ff	ACCATGCTCGATCGCGCCTCGTC	17
Eh9rv	TCACAGCGCCTTGCGGGTAGC	18

Las reacciones de la PCR dieron como resultado las siguientes secuencias de polinucleótidos:

Gen	Actividad	Longitud en	SEQ ID NO.
D4Des(Eh)	D4-desaturasa	1280	5
D8Des(Eh)	D8-desaturasa	1256	1
D9Elo(Eh)	D9-elongasa	804	3
D5Elo(Eh)	Multi-elongasa	921	7

Se muestra en la Tabla 1 una lista de secuencias codificantes de longitud completa identificadas.

Tabla 1: Lista de secuencias codificantes de longitud completa y secuencias de aminoácidos deducidas

SEQ ID NO:	Gen	Secuencia codificante	Secuencia de
1	D8Des(Eh)	1254	417
3	D9Elo(Eh)	801	266
5	D4Des(Eh)	1278	425
7	D5Elo(Eh)	918	305

Las fases de lectura abierta que se muestran en la Tabla 1 se clonaron en el vector pESC(Leu) de Stratagene de acuerdo con las condiciones de reacción de los fabricantes. Las reacciones se transformaron en *E. coli* DH5 α y se aisló el ADN plasmídico. Se utilizaron entonces los plásmidos pESC-d4Des(Eh), pESC-d8Des(Eh), pESC-d9Elo(Eh), pESC-d5Elo(Eh) para la transformación de levaduras.

Ejemplo 3: Transformación de levaduras y condiciones de cultivo

Se transformó la cepa INVSC de *S. cerevisiae* de Invitrogen con las construcciones pESC-d4Des(Eh), pESC-d8Des(Eh), pESC-d9Elo(Eh), pESC-d5Elo(Eh) y pESC utilizando el kit de transformación *S. C.* EasyComp (Invitrogen, Carlsbad, California) con selección en medio deficiente en leucina.

Las levaduras se cultivaron tras la transformación en medio completo que contenía todos los aminoácidos y nucleótidos. Entonces se colocaron las levaduras en una placa sobre diferentes medios que contenía o el medio completo (SD) o el medio completo carente de leucina (SD-Leu). Solamente las levaduras que contenían el vector pESC-d4Des(Eh), pESC-d8Des(Eh), pESC-d9Elo(Eh), pESC-d5Elo(Eh) o pESC podían crecer en este medio.

Ejemplo 4: Expresión funcional de desaturasas y elongasas en levaduras y análisis de cromatografía de gases.

Las levaduras que contenían los respectivos plásmidos pESC como se prepararon anteriormente se incubaron 12 h en medio DOB-U líquido a 28 °C, 200 rpm y después 12 h adicionales en medio de inducción (DOB-U+2 % (p/v) galactosa + 2 % (p/v) rafinosa). Al medio de inducción se añadieron 250 mM de los respectivos ácidos grasos para comprobar la actividad y especificidad de la enzima.

Las células de levadura se analizaron de la siguiente manera:

Las células de levaduras se recolectaron del medio de inducción mediante centrifugación (100 x g, 5 min, 20 °C) y se lavaron con 100 mM de NaHCO₃, pH 8,0, para retirar los ácidos grasos residuales. Del aglomerado de levaduras se generó un extracto total de metilésteres de ácidos grasos (FAME) añadiendo 2 ml 1 N de ácidos sulfúrico metanólico y un 2 % (v/v) de dimetoxipropano durante 1 h a 80 °C. Se extrajeron los FAME dos veces con éter de gasolina (PE). Los ácidos grasos no derivados se retiraron lavando con 2 ml de NaHCO₃ 100 mM, pH 8,0 y 2 ml de agua destilada. Las fases de PE se secaron con Na₂SO₄ y se eluyeron en 100 ml de PE. Las muestras se separaron entonces con una columna DB-23 (30 m, 0,25 mm, 0,25 μ m, Agilent) en una máquina Hewlett-Packard 6850 con FID utilizando las condiciones siguientes: temperatura del horno 50 °C a 250 °C con una velocidad de 5 °C/min y finalmente 10 min a 250 °C.

La identificación de los ácidos grasos se hizo utilizando los tiempos de retención de referencias de ácidos grasos conocidos (Sigma). El procedimiento se describe, por ejemplo, en Napier y Michaelson, 2001, *Lipids*. 36(8):761-766; Sayanova et al., 2001, *Journal of Experimental Botany*. 52(360):1581-1585, Sperling y col., 2001, *Arch. Biochem. Biophys.* 388(2):293-298 y Michaelson y col., 1998, *FEBS Letters*. 439(3):215-218.

Ejemplo 5: Caracterización funcional de d4Des(Eh).

Como se ha descrito anteriormente se caracterizó funcionalmente la d4Des(Eh) en levaduras. El resultado del análisis se muestra en la Figura 2. Las levaduras transformadas con pESC-d4Des(Eh) se compararon con las levaduras transformadas con pESC (control) mientras se alimentaba a las células de levadura con el ácido graso DPA 22:5n-3. Basándose en esta comparación pESC-d4Des(Eh) presentaba una actividad d4-desaturasa como se observaba en el control n° 22:6. Por lo tanto, d4Des(Eh) es una d4-desaturasa funcional.

Ejemplo 6: Caracterización funcional de d8Des(Eh).

Como se ha descrito anteriormente se caracterizó funcionalmente la d8Des(Eh) en levaduras. El resultado del análisis se muestra en la Figura 3. Las levaduras transformadas con pESC-d8Des(Eh) se compararon con las levaduras transformadas con pESC (control) mientras se alimentaba con el ácido graso 20:3n-3. Basándose en esta comparación, se formó un nuevo ácido graso en comparación con el control, que es el 20:4n-3. La formación de este ácido graso prueba que d8Des(Eh) se expresaba funcionalmente y tenía actividad d8-desaturasa. La velocidad de conversión 20:3n-3 a 20:4n-3 era del 5 %.

Ejemplo 7: Caracterización funcional de d9Elo(Eh).

Como se ha descrito anteriormente se caracterizó funcionalmente la d9Elo(Eh) en levaduras. El resultado del análisis se muestra en la Figura 4. Las levaduras transformadas con pESC-d9Elo(Eh) se compararon con las levaduras transformadas con pESC (control) mientras se alimentaba con los ácidos grasos 18:3n-3 (ALA) o 18:2 (LA). Basándose en esta comparación, se formó un nuevo ácido graso en comparación con el control, que es el 20:3n-3 o 20:2n-6, respectivamente. La formación de estos ácidos grasos prueba que d9Elo(Eh) se expresaba funcionalmente y tenía actividad d9-elongasa. La velocidad de conversión 18:3n-3 a 20:3n-3 era del 17 %, la velocidad de conversión 18:2n-6 a 20:2n-6 era del 49 %.

Ejemplo 8: Caracterización funcional de d5Elo(Eh).

Como se ha descrito anteriormente se caracterizó funcionalmente la d5Elo(Eh) en levaduras. El resultado del análisis se muestra en las Figuras 5 y 6. Las levaduras transformadas con pESC-d5Elo(Eh) se compararon con las levaduras transformadas con pESC (control) mientras se alimentaba con los ácidos grasos 18:3n-6 (GLA), 18:4 (SDA) o 20:4n-6 (ARA), 20:5n-3 (EPA), respectivamente. Basándose en esta comparación se observó la formación de nuevos ácidos grasos cuando se comparaba con el control que eran 20:3n-6 o 20:4n-3 cuando se alimentaban con GLA o SDA y 22:4n-6 o 22:5n-3 cuando se alimentaban con ARA o EPA, respectivamente. La formación de estos ácidos grasos prueba que d5Elo(Eh) se expresaba funcionalmente y tenía actividad d5-elongasa. La velocidad de conversión de GLA era del 13 %, la velocidad de conversión de 18:4n-3 era del 30 %, la velocidad de conversión de ARA era del 38 % y la velocidad de conversión de EPA era del 30 %. Sorprendentemente, la elongasa utilizaba una amplia variedad de sustratos de prolongación. La especificación indica una actividad de elongasa multifuncional con especificidades más altas para los ácidos grasos omega 3.

Ejemplo 9: Expresión de nuevas elongasas de *Emiliana huxleyi* en plantas.

Las nuevas desaturasas y elongasas se clonaron en un vector de transformación de plantas como se describe en los documentos WO 2003/093482, WO 2005/083093 o WO 2007/093776. Las combinaciones ejemplares adecuadas de los genes se describen en las Tablas 2, 3 y 4.

Tabla 2: Combinaciones genéticas para producción de ARA.

Gen	Actividad	SEQ ID NO:
D6Des(Ot)	Δ 6-Desaturasa	19
D6Elo(Pp)	Δ 6-Elongasa	21
D5Des(Eh)	Δ 5-Desaturasa	9
D12Des(Ps)	Δ 12-Desaturasa	23
D6Elo(Tp)	Δ 6-Elongasa	25
D8Des(Eh)	Δ 8-Desaturasa	1
D9Elo(Eh)	Δ 9-Elongasa	3

Tabla 3: Combinaciones genéticas para producción de EPA.

Gen	Actividad	SEQ ID NO:
D6Des(Ot)	Δ 6-Desaturasa	19
D5Elo(Eh)	Δ 5-Elongasa	7
D5Des(Eh)	Δ 5-Desaturasa	9
D12Des(Ps)	Δ 12-Desaturasa	23
D6Elo(Tp)	Δ 6-Elongasa	25
ω 3-Des(Pi)	Omega 3-Desaturasa	27
D15Des(Cp)	Δ 15-Desaturasa	29
D8Des(Eh)	Δ 8-Desaturasa	1
D9Elo(Eh)	Δ 9-Elongasa	3

Tabla 4: Combinaciones genéticas para producción de DHA.

Gen	Actividad	SEQ ID NO:
D6Des(Ot)	Δ 6-Desaturasa	19

(continuación)

Gen	Actividad	SEQ ID NO:
D5Elo(Eh)	$\Delta 5$ -Elongasa	7
D5Des(Eh)	$\Delta 5$ -Desaturasa	9
D12Des(Ps)	$\Delta 12$ -Desaturasa	23
D6Elo(Tp)	$\Delta 6$ -Elongasa	25
co3-Des(Pi)	Omega 3-Desaturasa	27
D15Des(Cp)	$\Delta 15$ -Desaturasa	29
D5Elo(Ot)	$\Delta 5$ -elongasa	31
D4Des(Eh)	$\Delta 4$ -desaturasa	5
D8Des(Eh)	$\Delta 8$ -Desaturasa	1
D9Elo(Eh)	$\Delta 9$ -Elongasa	3

Basándose en las combinaciones de genes que se describen en la Tabla 2, Tabla 3 o Tabla 4 se diseñaron las siguientes combinaciones

- AP2: LuCnl-d5Des(Eh)_LuCnl-d8Des8Eh)_Napin-o3Des(Pi)_Napin-d12Des(Ps)_LuCnl-d9Elo(Eh)
- 5 • OstELO5EmD4: VfUSP-d6Elo(Pp)_LuCnl-d5Des8Tc)_VfSBP-d6Des(Ot)_Napin-o3Des(Pi)_Napin-d12Des(Ps)_LuCnl-d5Elo(Ot)_LuCnl-d4Des(Eh)
- OstELO5TcD4: VfUSP-d6Elo(Pp)_LuCnl-d5Des8Tc)_VfSBP-d6Des(Ot)_Napin-o3Des(Pi)_Napin-d12Des(Ps)_LuCnl-d5Elo(Ot)_LuCnl-d4Des(Tc)

10 Se generaron líneas de colza transgénica como se describe en Deblaere y col, 1984, Nucl. Acids. Res. 13, 4777-4788 y se analizaron las semillas de las plantas de colza transgénica como se describe en Qiu y col. 2001, J. Biol. Chem. 276, 31561-31566.

15 Se generaron plantas de *Arabidopsis* transgénicas como se describe en Bechtholdt y col. 1993 C.R. Acad. Sci. Ser. III Sci. Vie., 316, 1194-1199. Se analizaron las semillas de plantas de *Arabidopsis* transgénica que expresan d9Elo(Eh) utilizando el promotor de la soja, Glicinina, específico de semillas (Lelievre y col. (1992) Plant Physiol 98:387-391) por cromatografía de gases (Figura 7). En comparación con las plantas no transgénicas de control (WT) había cambios en el perfil de ácidos grasos, probando que la d9Elo(Eh) se expresaba funcionalmente en semillas. Los mayores cambios del perfil de ácidos grasos se referían a un aumento de 10 veces de los ácidos grasos 20:2n-6 y 20:3n-3 (Figura 7). Por lo tanto, la d9Elo(Eh) presenta una actividad $\Delta 9$ -elongasa, que es consistente con la caracterización en levaduras. Además, los niveles de 18:2 y ALA en los eventos transgénicos que expresaban d9Elo(Eh) estaban disminuidos en comparación con WT, ya que estos ácidos grasos son sustratos directos de la d9Elo(Eh). Además, el sistema de prolongación endógeno en la planta no cambia ya que los niveles de 20:1 y 22:1 son similares entre las plantas transgénicas en la expresión de d9Elo(Eh) y de control WT. Esto indica que la expresión de d9Elo(Eh) no altera el proceso de prolongación endógeno, sino que aporta una actividad adicional.

25 Para probar adicionalmente la actividad de d9Elo(Eh) expresada en las semillas de *Arabidopsis thaliana* se hicieron mediciones de AcilCoA. Los sustratos y productos de la reacción de prolongación por d9Elo(Eh) son AcilCoA-ésteres, que se incorporan adicionalmente en los triglicéridos (aceite). El análisis del agrupamiento de acil-CoA revela formación y flujo de la reacción de prolongación. La Figura 8 resume las mediciones de AcilCoA para el evento de *Arabidopsis* que expresa d9Elo(Eh) en comparación con los controles que no expresan d9Elo(Eh) (Col0). El cambio del cromatograma se indica con un asterisco. En esta posición, se detecta una cantidad masiva de 20:2n-6, que es mucho menor en el control. Las condiciones de separación de los ésteres de ácidos grasos CoA no permite la detección de 20:3n-3 ya que este éster CoA no se separa del 18:3CoA. La existencia masiva de 20:2n-6-CoA prueba la expresión de d9Elo(Eh) ya que este es el producto directo de su actividad enzimática.

35 Además, se habían generado líneas transgénicas de *Arabidopsis* para validar la actividad de d8Des(Eh) y d5Des(Eh). Se construyó el vector AP2 de acuerdo con las etapas de biología molecular convencionales como se describe en los documentos WO 2003/093482, WO 2005/083093, WO 2007/093776 o WO 2009/016202 y se transformaron en *Arabidopsis thaliana* como se ha descrito anteriormente. El análisis de las semillas transgénicas se muestra en la Fig. 9. Los productos de d9Elo(Eh) son 20:2 y 20:3n-3.

40 Además, se habían generado líneas transgénicas de *Arabidopsis* para validar la actividad de d4Des(Eh). La construcción OstELO5EmD4 se transformó en *Arabidopsis* como se ha descrito anteriormente y las semillas de varias líneas individuales se analizaron por cromatografía de gases (Fig. 10). La actividad de d4Des(Eh) se demuestra por la formación de DHA 22:6 (última columna). Todas las líneas mostraban la producción de DHA con niveles de hasta un 4,7 %. De especial interés es la relación de DHA respecto a DPA. Sorprendentemente, la relación de d4Des(Eh) es mucho más alta que en las d4-desaturasas conocidas en la técnica. Se muestra una comparación contra la d4-desaturasa de *Thraustochytrium* spp del documento WO 2002/026946 en la Fig. 11. La enzima de *Thraustochytrium* spp presentaba hasta ahora los niveles de DHA más altos (documento WO 2005/083093), pero con una relación desfavorable de DPA respecto a DHA. Una relación alta de DHA:DPA tiene

importancia para el uso comercial de dichos aceites.

Además, se habían generado líneas transgénicas de *Arabidopsis* para validar la actividad de d5Elo(Eh). La construcción EmELO5TcD4 se transformó en *Arabidopsis* como se ha descrito anteriormente y las semillas de varias líneas individuales se analizaron por cromatografía de gases (Fig. 12). La actividad de d5Elo(Eh) se demuestra por la formación de DHA 22:5 y DHA 22:6. La mayoría de las líneas muestran la producción de estos dos ácidos grasos, probando que d5Elo(Em) se expresa funcionalmente en las semillas.

Además, se habían generado líneas transgénicas de *Arabidopsis* para validar la actividad y especificidad de sustrato de d5Des(Eh). Para este fin se seleccionaron dos $\Delta 6$ -desaturasas basándose en su diferente especificidad de sustrato. Se espera que la $\Delta 6$ de borraja utilice la fosfatidilcolina-18:2 como sustrato (documento WO 96/21022), mientras que la $\Delta 6$ de *Ostreococcus* (Ostr $\Delta 6$) utiliza el Acil-CoA éster (documento WO 2005/012316). En combinación con la d6-elongasa de *Physcomitrella patens* (documento WO 2001/059128) ambas d6-desaturasas producen DGLA o 20:4n-3, respectivamente. La relación ARA respecto a EPA es para la borraja $\Delta 6$ 2,9, para la Ostr $\Delta 6$ 2,3. Se señala que el uso de Ostr $\Delta 6$ da como resultado niveles 3-4 veces más altos de productos en comparación con la Borraja $\Delta 6$. La combinación adicional de la d5Des(Eh) daba como resultado la producción de ARA y EPA, demostrando la funcionalidad de la d5Des(Eh). La conversión de d5Des(Eh) de DGLA a ARA es del 29 % (borraja $\Delta 6$) o del 47 % (Ostr $\Delta 6$). Para 20:4n-3 a EPA es del 33 % (borraja $\Delta 6$) o del 26 % (Ostr $\Delta 6$).

Basándose en estos resultados se concluye que para los sustratos de Acil-CoA la d5Des(Eh) es específica para el ácido graso omega 6 DGLA. Esta nueva especificidad de sustrato no se observaba en el estado de la técnica con las d5-desaturasas.

Listado de referencias

- Arondel,V., Lemieux,B., Hwang,I., Gibson,S., Goodman,H.M., y Somerville,C.R. (1992). Map-based cloning of a gene controlling omega-3 fatty acid desaturation in *Arabidopsis*. *Science* 258, 1353-1355.
- Broadwater,J.A., Whittle,E., y Shanklin,J. (2002). Desaturation and hydroxylation. Residues 148 and 324 of *Arabidopsis* FAD2, in addition to substrate chain length, exert a major influence in partitioning of catalytic specificity. *J. Biol. Chem.* 277, 15613-15620.
- Broun,P., Shanklin,J., Whittle,E., y Somerville,C. (1998b). Catalytic plasticity of fatty acid modification enzymes underlying chemical diversity of plant lipids. *Science* 282, 1315-1317.
- Calvo,A.M., Gardner,H.W., y Keller,N.P. (2001). Genetic connection between fatty acid metabolism and sporulation in *Aspergillus nidulans*. *J. Biol. Chem.* 276, 25766-25774.
- Knutzon,D.S., Thurmond,J.M., Huang,Y.S., Chaudhary,S., Bobik,E.G., Jr., Chan,G.M., Kirchner,S.J., y Mukerji,P. (1998). Identification of Delta5-dehydratase from *Mortierella alpina* by heterologous expression in Baker's yeast and canola. *J. Biol. Chem.* 273, 29360-29366.
- Mantle,P.G. y Nisbet,L.J. (1976). Differentiation of *Claviceps purpurea* in axenic culture. *J. Gen. Microbiol.* 93, 321-334.
- Mey,G., Oeser,B., Lebrun,M.H., y Tudzynski,P. (2002). The biotrophic, non-appressorium-forming grass pathogen *Claviceps purpurea* needs a Fus3/Pmk1 homologous mitogen-activated protein kinase for colonization of rye ovarian tissue. *Mol. Plant Microbe Interact.* 15, 303-312.
- Okuley,J., Lightner,J., Feldmann,K., Yadav,N., Lark,E., y Browse,J. (1994). *Arabidopsis* FAD2 gene encodes the enzyme that is essential for polyunsaturated lipid synthesis. *Plant Cell* 6, 147-158.
- Qi,B., Fraser,T., Mugford,S., Dobson,G., Sayanova,O., Butler,J., Napier,J.A., Stobart,A.K., y Lazarus,C.M. (2004). Production of very long chain polyunsaturated omega-3 and omega-6 fatty acids in plants. *Nat. Biotechnol.* 22, 739-745.
- Qiu,X., Hong,H., y McKenzie, S.L. (2001) Identification of a Delta 4 fatty acid desaturase from *Thraustochytrium* sp. involved in the biosynthesis of docosahexanoic acid by heterologous expression in *Saccharomyces cerevisiae* and *Brassica juncea*. *J Biol Chem* 276, 31561-6.
- Shanklin,J. y Cahoon,E.B. (1998). DESATURATION AND RELATED MODIFICATIONS OF FATTY ACIDS1. *Annu. Rev. Plant Physiol Plant Mol. J. Biol.* 49, 611-641.
- Tudzynski,P., Correia,T., y Keller,U. (2001). Biotechnology and genetics of ergot alkaloids. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 57, 593-605.

Todas las referencias citadas en la presente memoria descriptiva se incorporan con el presente documento por referencia con respecto a su contenido completo de la divulgación y el contenido de la divulgación mencionado específicamente en la presente memoria descriptiva.

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> BASF Plant Science Company GmbH

<120> NUEVAS DESATURASAS Y ELONGASAS DE ÁCIDOS GRASOS Y USOS DE LAS MISMAS

<130> PF62383

<150> 61/226301

<151> 17-07-2009

<150> 09165752.8

<151> 17-07-2009

<160> 32

5 <170> PatentIn versión 3.5

<210> 1

<211> 1256

<212> ADN

<213> *Emiliana huxleyi*

10 <400> 1

```
ccatgggcaa gggcggaac gcgaacccgc gggagctcaa aggcggcaag gccgagcagc      60
tgacagtcta cctgtatggc aaggctgtcg acgtctcgaa gttcggaag ctgcacccgg      120
gaggcgccaa ggcgtgcgc atcttcaaca accgcgacgc caccgagcag ttcgagatgt      180
accactcgcc cgccgccac aagatgatgc gtgcgatgtc gaagagcgcg ccggaggccc      240
cgagggagag cgaggtcgcg acgtcggtcg ttgggacgga cttcgccaag ctgacgcaga      300
cgctgcacga cgtcggatgc ttcgacccgc actacctga cgaggccttc aagctcgccc      360
tcacgctgct gcccggttc ctcggttct acctgctgcg gagcggcatg ccggcgctcg      420
gatccttct gatcgcttc tctactaca tctgggggtg gacctccac gattacttgc      480
accacggctg cctcaagggc ggccaaaagc agctggtgca ctggaacaac gccgtcggt      540
acgcaatcgg cgcttggcag ggctacgcgg tcggctggtg gcgagcgcg cacaacacgc      600
accacctcgt cactaacgaa gaaggcaacg accccgacat catgaccgcg cccgtgctca      660
tcttcgtgcg caacagcccg gtgatcgccg ctgccctcaa cgcggcgag cggtggcagc      720
agtactacta cgtgcccgcg atgagcctca tggacatgta ctggcgcttc gagtcgatgc      780
agtacctggc cgcgcgacc ttcaacaagg tctgggcctc gtgggcgctc ctgcgctgc      840
actactcctt tctcggtac atgttcacg gacagtacca gtggctgctg ctgacgatgc      900
tggtgcgagg ctccctcacg ggcacgtcg tcttctcgac gcattatggc gaggaggtca      960
tcccgggcga ccacggcatg aactcgtcg agcagacggc gctcacctct cgcaacatca     1020
ccggcgggta cctcgtcaac ctgctcacgg gctacatctc gctgcagacg gagcaccacc     1080
tctggcgat gatgccacc gcgcgcctcg agggggcgca gccctacgcg cgcgccttct     1140
tcaagaagca cggcttcgtc taccgcgagt ogaacctcgt cgagtgcgtc aagtacaaca     1200

tcgcgcctc cgacatccgc acgcgcaacg gcgagtgggc agagatgccg cactag          1256
```

<210> 2

<211> 417

<212> PRT

<213> *Emiliana huxleyi*

15 <400> 2

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

ES 2 743 692 T3

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

His

<210> 3
 <211> 804
 <212> ADN
 <213> *Emiliana huxleyi*
 <400> 3


```

accatgctcg atcgcgcttc gtcgacgcg gccatctggt ctgcggtgtc cgatccggaa      60

atcctgatcg gcactttctc ctacctgctg ctcaagccgc tgctacgcaa ctcaagggtc      120
gtggacgagc ggaaaggcgc ctaccggacc tcgatgatct ggtacaacgt ggtgctcgcg      180
ctcttctccg cgacgagctt ctacgtgact gcgaccgcgc togggtggga caagggcacc      240
ggcgagtggc tccgcagtct cacgggcgac agcccgcagc agctgtggca atgcccgctc      300
agggatatggg actccaagct gttcctgtgg acggccaagg ccttctacta ctcaaagtac      360
gtggagtacc tcgacacggc gtggctcgtc ctcaagggga agaagggtctc cttcctgcag      420
ggcttcacc actttggcgc gccgtgggac gtgtacctgg gcattcggct gaagaacgag      480
ggcgtgtgga tcttcatgtt cttcaactcg ttcattccaca cggtcattga cacgtactac      540
ggcctcaccg ccgcgggcta caagatccgc ggcaagccga tcatcaccgc gatgcaaata      600
agccagttcg toggcgggctt tgtcctagtg tgggactaca tcaacgtgcc gtgcttccac      660
gccgacgccg ggcaggtctt cagctgggtc tttaactatg cttacgtcgg ctccgtcttt      720
ctgctctttt gccacttctt ctacatggac aacatcgcca aggccaaggc caagaaggcc      780
gtcgctaccc gcaaggcgct gtga                                             804

```

<210> 4
 <211> 266
 <212> PRT
 <213> *Emiliana huxleyi*

5

<400> 4

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

ES 2 743 692 T3

115		120		125
Val Leu Lys Gly Lys Lys Val Ser Phe Leu Gln Gly Phe His His Phe				
130		135		140
Gly Ala Pro Trp Asp Val Tyr Leu Gly Ile Arg Leu Lys Asn Glu Gly				
145		150		155
Val Trp Ile Phe Met Phe Phe Asn Ser Phe Ile His Thr Val Met Tyr				
	165		170	175
Thr Tyr Tyr Gly Leu Thr Ala Ala Gly Tyr Lys Ile Arg Gly Lys Pro				
	180		185	190
Ile Ile Thr Ala Met Gln Ile Ser Gln Phe Val Gly Gly Phe Val Leu				
	195		200	205
Val Trp Asp Tyr Ile Asn Val Pro Cys Phe His Ala Asp Ala Gly Gln				
210		215		220
Val Phe Ser Trp Val Phe Asn Tyr Ala Tyr Val Gly Ser Val Phe Leu				
225		230		235
Leu Phe Cys His Phe Phe Tyr Met Asp Asn Ile Ala Lys Ala Lys Ala				
	245		250	255
Lys Lys Ala Val Ala Thr Arg Lys Ala Leu				
	260		265	

<210> 5
 <211> 1280
 <212> ADN
 <213> *Emiliana huxleyi*
 <400> 5

ccatgggagg cgccggcgcg agcgaggctg aacggcccaa gtggaccacg atccacgggc	60
ggcacgtcga tgtgtcaaag ttccgccacc cgggtgggaa catcatcgag ctcttttatg	120
gcatggactc gacgagcgcg ttcgagcagt tccacggcca ccacaagggc gcgtggaaga	180
tgctcaaggc gctgccgacc aaggaggctg accccgccga cgtgccgcag cagccgcagg	240
agcacgttgc cgagatgacg cggctgatga cgtcgtggcg cgagcgcggc ctctttaagc	300
cgcgccccgt cgcctcgggc atctacggtc tggcgtcgt cgtgccatc gtgcgtgca	360
tcgcctgcgc gccgcacgcg ccggtgctga ggggatcgg gctcggcagc tgctgggcgc	420
agtgcggctt cctgcagcac atgggcgggc accgcgagtg gggggtgcgg tactccttcc	480
tcctgcagca ctcttcgag ggctcctca agggcgggtc cgcctcgtgg tggcgcaacc	540
gccacaacaa gcatacgcga aagactaacg tgctcggcga ggacggcgac ctgcggacga	600
ctcccttctt cgcctgggac ccgacgctcg ccaagaaggc tccagactgg tcgctcaaga	660
cgcaggcctt cacttcctc cccgccctcg gagcgtagct ctttgtcttt gccttcacga	720
tccgcaagta tgccgtcgtc aagaagctct ggacagagct cgcactcatg atcgcgcact	780
acgcgatgtt ctactacgcg ctgcagctcg ccggtgcgtc gctcggcagc ggcctcgctt	840
tttactgcac cggctacgcc tggcaaggca totacctcg cttcttcttc ggcctgtccc	900
acttcgcggc cgagcgagtc cctccaccg ccacctggct cgagtcgtcc atgatcggca	960
ccgtcgactg gggaggctcc tccgcctttt gcggctacgt ctccggcttc ctcaacatcc	1020
agatcgagca ccacatggcg ccgcagatgc cgatggagaa cctgcgccag atccgcgccg	1080
actgcaaggc gagcgcgag aagctcgggc ttccctatcg cgagctctcc ttgcgcggcg	1140
cggtaagct gatgatggtc ggctctggc gcacggggag ggacgagctg cagctgcgct	1200
ccgacaggcg caagtactcg cgcacccagg cctacatggc ggccgcctcg gcggtggtgg	1260
agaacctcaa ggcggactag	1280

<210> 6

<211> 425

<212> PRT

<213> *Emiliana huxleyi*

<400> 6

ES 2 743 692 T3

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

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

Gly Leu Pro Tyr Arg Glu Leu Ser Phe Ala Gly Ala Val Lys Leu Met
370 375 380

Met Val Gly Leu Trp Arg Thr Gly Arg Asp Glu Leu Gln Leu Arg Ser
385 390 395 400

Asp Arg Arg Lys Tyr Ser Arg Thr Gln Ala Tyr Met Ala Ala Ala Ser
405 410 415

Ala Val Val Glu Asn Leu Lys Ala Asp
420 425

<210> 7
<211> 921
<212> ADN
<213> *Emiliana huxleyi*

5

<400> 7
accatgtgta aggccttctgg tcttgcttca ggtgctaaac ctgctgctgc ttcaactatt 60
gatcagtctg ctggacttgg aagagttgct gttattgttg gatctttcac tgctgctatg 120
tgttatgctc ttcaacctct tgattcacct ggtactatct atcatgattc agctgttatg 180
ggtgctcttt tgtcttggcc aatggtttac attgctcttc ttgcttacgt ttgtgctgtt 240
atggctggat gtagacttat gtcacaaaga gcttctatta agccattttt gaaacaatac 300
gttcagcctg tttacaatgt tttccaaatt gttatgtgtt cttacatggg ttgggggttg 360
gctcctaaag ttgatgttct tggacttaac cctttcgcta tgaatacaga aagagataaa 420
aagactgagt ggtttatgtt cgttcattac ctttctaaat tcgttgattg gacagatact 480
ttcttgatga ttggatctaa atcttttaga caggtttcat tcttgcaagt tttcatcat 540
gctacagttg gtatgatttg ggggtgcttg ttgagaaagg gatgggggtg aggtacttgt 600
gtttggggag cttttattaa ctctgttaca catgtttotta tgtatacaca ttacttggtt 660
acatctcttg gtcttcataa cctctttaag tctcaactta ctaattttca acttgctcaa 720
ttcgcttcat gtgttttgca tgctgcttg gtttttgctt cagagacagt tcttctgct 780
agacttgctt atattcaatt ggtttaccat cctactcttt tgtttctttt cggttttcag 840
atgaagtggg ttccttcttg gatcactgga caaacaatca ctggtagaga gtcagaggct 900
cctgaaaaga aagttgcttg a 921

<210> 8
<211> 305
<212> PRT
<213> *Emiliana huxleyi*

10

<400> 8
Met Cys Lys Ala Ser Gly Leu Ala Ser Gly Ala Lys Pro Ala Ala Ala

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

ES 2 743 692 T3

Leu Pro Ala Arg Leu Ala Tyr Ile Gln Leu Val Tyr His Pro Thr Leu
260 265 270

Leu Phe Leu Phe Gly Phe Gln Met Lys Trp Val Pro Ser Trp Ile Thr
275 280 285

Gly Gln Thr Ile Thr Gly Arg Glu Ser Glu Ala Pro Glu Lys Lys Val
290 295 300

Ala
305

<210> 9

<211> 1368

<212> ADN

5 <213> *Emiliana huxleyi*

<400> 9

atgtcattgg ctgctaaaga tgcagcctcg gccactcat ccgtcttggg ccctaagtat	60
cacggagcta caaataagtc aagaactgat gcagcagacc ttacagttag ttctatcgac	120
acttctaagg agatgatcat aaggggtcgt gtgtatgatg tctctgattt tattaaaagg	180
cacccgggag gaagcattat taaactctcc ttaggttctg atgcaacaga cgcttataac	240
aacttcata ttaggtctaa aaaagcggat aaaatgttga gagctttgcc aagtaggcca	300
gtagcggatg gattcgctag agacgctttg tctgcagact tcgaggccct gagagcccaa	360
ctcgaggccg aaggttactt cgaaccgaat ctgtggcatg tagcttatcg agttgcggaa	420
gtcgttgcta tgtactgggc gggattaga cttatctggg cgggttattg gtttttagga	480
gccattgtag caggaatagc tcaggggaga tgcgggttggc ttcagcatga ggggtggcat	540
tattcgctca caggtaatat taaacttgat cgacacatgc aaatgattat ctatggatta	600
ggttgcggaa tgtccggttg ttattggaga aaccaacata acaagcacca tgcgacaccg	660
caaaagttgg gtgcagatcc agaccttcaa acaatgcctc tggttgcgtt ccatggactc	720
atcggtgcta aggctagggg agcaggaaag tctgtggctag catggcaagc tccacttttc	780
tttgaggcg ttatcacaac cctggtatct tttggttggc agttcgtcca acatccaaag	840
cacgcattga gagtaggaaa ccaactcgaa ttaggctata tggctttacg atatgcttta	900
tggtagcag cattcggtca tcttgggctt ggtgggtgctt tcagattgta cgctttttat	960
gtggcagtcg gaggtacata tatcttcacg aactttgocg tgtctcacac acataaggat	1020
gttgttcac acgataagca tatttcttgg accttgtatt ctgcaaacca taccactaat	1080
caatctaaca cacctctagt caattggtgg atggcctatc tgaattttca aattgaacat	1140
caccttttcc ctagcatgoc acaatataac catcctaaaa tctgcggaag agtgaacaa	1200
ttgtttgaaa aacatggcgt agagtacgat gtcagaactt acgcgaagtc aatgcgtgat	1260
acatacgtga atctcttggc tgtgggaaat gcactctatt cccttcatca gagaaacgag	1320
ggattaacga ctaggagtc tgcggctgtt agagttacag gtcattga	1368

<210> 10

<211> 455

<212> PRT

<213> *Emiliana huxleyi*

<400> 10

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

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

	<210> 11 <211> 22 <212> ADN <213> sintético	
5	<400> 11 ccatgggagg cgccggcgcg ag	22
	<210> 12 <211> 21 <212> ADN <213> sintético	
10	<400> 12 ctagtcgcc ttgaggtct c	21
	<210> 13 <211> 23 <212> ADN <213> sintético	
15	<400> 13 accatgtgca aggcgagcgg cct	23
	<210> 14 <211> 20 <212> ADN <213> sintético	
20	<400> 14 tcaccaatca tgaggaaggt	20
	<210> 15 <211> 22 <212> ADN <213> sintético	
25	<400> 15 ccatgggcaa gggcggcaac gc	22
	<210> 16 <211> 20 <212> ADN <213> sintético	
30	<400> 16 gggcagagat gccgcactag	20
	<210> 17 <211> 23 <212> ADN <213> sintético	
35	<400> 17 accatgctcg atcgcgcctc gtc	23
	<210> 18 <211> 21 <212> ADN <213> sintético	
40	<400> 18 tcacagcgcc ttgcgggtag c	21
	<210> 19 <211> 1371 <212> ADN <213> <i>Ostreococcus tauri</i>	
45		
50		

<400> 19

atgtgtgttg agaccgagaa caacgatgga atccctactg tggagatcgc tttcgatgga	60
gagagagaaa gagctgaggc taacgtgaag ttgtctgctg agaagatgga acctgctgct	120
ttggctaaga ccttcgctag aagatacgtg gttatcgagg gagttgagta cgatgtgacc	180
gatttcaaac atcctggagg aaccgtgatt ttctacgctc tctctaacac tggagctgat	240
gctactgagg ctttcaagga gttccaccac agatctagaa aggctaggaa ggctttggct	300
gctttgcctt ctagacctgc taagaccgct aaagtggatg atgctgagat gctccaggat	360
ttcgctaagt ggagaaagga gttggagagg gacggattct tcaagccttc tcctgctcat	420
gttgcttaca gattcgctga gttggctgct atgtacgctt tgggaacctt cttgatgtac	480
gctagatacg ttgtgtctc tgtgttggtt taogcttgct tcttcggagc tagatgtgga	540
tgggttcaac atgagggagg acattcttct ttgaccgaa acatctggtg ggataagaga	600
atccaagctt tcaactgctg attcggattg gctggatctg gagatatgtg gaactccatg	660
cacaacaagc accatgctac tcctcaaaaa gtgaggcacg atatggattt ggataccact	720
cctgctgttg ctttcttcaa caccgctgtg gaggataata gacctagggg attctctaag	780
tactggctca gattgcaagc ttggaccttc attcctgtga cttctggatt ggtgttgctc	840
ttctggatgt tcttctcca tccttctaag gctttgaagg gaggaaagta cgaggagctt	900
gtgtggatgt tggctgctca tgtgattaga acctggacca ttaaggctgt tactggattc	960
accgctatgc aatcctacgg actcttcttg gctacttctt gggtttccgg atgctacttg	1020
ttcgctcaact tctctacttc tcacacccat ttggatgttg ttctgctga tgagcatttg	1080
tcttgggtta ggtacgctgt ggatcacacc attgatatcg atccttctca gggatgggtt	1140
aactggttga tgggatactt gaactgccaa gtgattcatc acctcttccc ttctatgcct	1200
caattcagac aacctgaggt gtccagaaga ttcggtgctt tcgctaagaa gtggaacctc	1260
aactacaagg tgatgactta tgctggagct tggaaggcta ctttgggaaa cctcgataat	1320
gtgggaaagc actactacgt gcacggacaa cattctggaa agaccgcttg a	1371

<210> 20

<211> 456

<212> PRT

<213> *Ostreococcus tauri*

<400> 20

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

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

<210> 21
 <211> 873
 <212> ADN

<213> *Physcomitrella patens*

<400> 21

```

atggaagttg ttgagaggtt ctacggagag ttggatggaa aggtttccca aggagtgaac      60
gctttgttgg gatctttcgg agttgagttg actgataccc caactactaa gggattgcca      120
ctcgttgatt ctccaactoc aattgtgttg ggagtgcttg tttacttgac catcgtgatc      180
ggaggattgc tttggatcaa ggctagagat ctcaagocaa gagcttctga gccattottg      240
ttgcaagctt tgggtgttgg gcacaacttg ttctgcttcg ctttgtctct ttacatgtgc      300
gtgggtatcg cttaccaagc tatcacctgg agatattcct tgtggggaaa cgcttataac      360
ccaaagcaca aggagatggc taccctcgtt tacctcttct acatgtccaa gtacgtggag      420
ttcatggata ccgtgatcat gatcctcaag agatocacca gacagatttc tttcctocac      480
gtgtaaccac attcttttat ctcccttata tgggtgggcta ttgctcatca tgctocagga      540
ggagaggctt attggagtgc tgctctcaac tctggagtgc atgtgttgat gtacgcttac      600
tacttcttgg ctgcttgctt gagatcttcc ccaaagctca agaacaagta cctcttctgg      660
ggaagatacc tcaccaat ccagatgttc cagttcatgc tcaacttggg gcaagcttac      720
tacgatatga aaaccaacgc tccatatcca caatggctca tcaagatcct cttctactac      780
atgatctccc tcttgttcct cttoggaaac ttctacgtgc aaaagtacat caagocatoc      840
gatggaaagc aaaagggagc taagaccgag tga                                     873

```

<210> 22

<211> 290

<212> PRT

<213> *Physcomitrella patens*

<400> 22

```

Met Glu Val Val Glu Arg Phe Tyr Gly Glu Leu Asp Gly Lys Val Ser
 1                               5                               10                               15

Gln Gly Val Asn Ala Leu Leu Gly Ser Phe Gly Val Glu Leu Thr Asp
                20                               25                               30

Thr Pro Thr Thr Lys Gly Leu Pro Leu Val Asp Ser Pro Thr Pro Ile
          35                               40                               45

Val Leu Gly Val Ser Val Tyr Leu Thr Ile Val Ile Gly Gly Leu Leu
          50                               55                               60

Trp Ile Lys Ala Arg Asp Leu Lys Pro Arg Ala Ser Glu Pro Phe Leu
65                               70                               75                               80

```

5

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

<210> 23
 <211> 1197
 <212> ADN
 <213> *Phytophthora sojae*
 <400> 23

atggctatatt tgaaccctga ggctgattct gctgctaacc tcgctactga ttctgagget 60

aagcaaagac aattggctga ggctggatac actcatgttg aggggtgetcc tgctcctttg 120

cctttggagt tgccctcattt ctctctcaga gatctcagag ctgctattcc taagcactgc 180

ttcgagagat ctttcgtgac ctccacctac tacatgatca agaacgtgtt gacttgcgct 240

gctttgttct acgctgctac cttcattgat agagctggag ctgctgctta tgttttgtgg 300

cctgtgtact gggtcttcca gggatcttac ttgactggag tgtgggttat cgctcatgag 360

tgtggacatc aggccttattg ctctctctgag gtgggtgaaca acttgattgg actcgtgttg 420

cattctgctt tgttggtgcc ttaccactct tggagaatct ctcacagaaa gcaccattcc 480

aacactggat cttgcgagaa cgatgaggtt ttcgttcctg tgaccagatc tgtgttggt 540

tcttcttggg acgagacctt ggaggattct cctctctacc aactctaccg tatcgtgtac 600

atgttggttg ttggatggat gcctggatac ctcttcttca acgctactgg acctactaag 660

tactggggaa agtctaggtc tcacttcaac cctactccg ctatctatgc tgatagggag 720

agatggatga tcgtgctctc cgatattttc ttggtggcta tgttggtgtt tttggtgct 780

ttggtgcaca ctttctcctt caacaccatg gtgaagttct acgtggtgcc ttacttcatt 840

gtgaacgctt acttggtgtt gattacctac ctccaacaca ccgataccta catccctcat 900

ttcagagagg gagagtggaa ttggttgaga ggagctttgt gcactgtgga tagatcattt 960

gggtccattcc tcgattctgt ggtgcataga atcgtggata cccatgtttg ccaccacatc 1020

ttctccaaga tgcctttcta tcattgcgag gaggtacca acgctattaa gcctctcctc 1080

ggaaagtctt acttgaagga taccactcct gttcctgttg ctctctggag atcttacacc 1140

cattgcaagt tcgttgagga tgatggaaag gtgggtgttct acaagaacaa gctctag 1197

<210> 24

<211> 398

<212> PRT

<213> *Phytophthora sojae*

5

<400> 24

Met Ala Ile Leu Asn Pro Glu Ala Asp Ser Ala Ala Asn Leu Ala Thr
1 5 10 15

Asp Ser Glu Ala Lys Gln Arg Gln Leu Ala Glu Ala Gly Tyr Thr His
20 25 30

Val Glu Gly Ala Pro Ala Pro Leu Pro Leu Glu Leu Pro His Phe Ser
35 40 45

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

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

Gly Pro Phe Leu Asp Ser Val Val His Arg Ile Val Asp Thr His Val
325 330 335

Cys His His Ile Phe Ser Lys Met Pro Phe Tyr His Cys Glu Glu Ala
340 345 350

Thr Asn Ala Ile Lys Pro Leu Leu Gly Lys Phe Tyr Leu Lys Asp Thr
355 360 365

Thr Pro Val Pro Val Ala Leu Trp Arg Ser Tyr Thr His Cys Lys Phe
370 375 380

Val Glu Asp Asp Gly Lys Val Val Phe Tyr Lys Asn Lys Leu
385 390 395

<210> 25
<211> 819
<212> ADN
<213> *Thalassiosira pseudonana*

5

<400> 25
atggatgctt ataacgctgc tatggataag attggagctg ctatcatcga ttggagtgat 60
ccagatggaa agttcagagc tgatagggag gattggtggt tgtgcgattt cagatccgct 120
atcaccattg ctctcatcta catcgctttc gtgatcttgg gatctgctgt gatgcaatct 180
ctccagcta tggaccata cctatcaag ttctctaca acgtgtctca aatcttctc 240
tgcgcttaca tgactgttga ggctggattc ctogcttata ggaacggata caccgttatg 300
ccatgcaacc acttcaacgt gaacgatcca ccagttgcta acttgctctg gctcttctac 360
atctccaaag tgtgggattt ctgggatacc atcttcattg tgctcggaaa gaagtggaga 420
caactctctt tcttgacagt gtaccatcat accaccatct tctcttcta ctggttgaac 480
gctaacgtgc tctacgatgg agatatcttc ttgaaccatoc tctcaacgg attcattcac 540
accgtgatgt acacctacta cttcatctgc atgcacacca aggattctaa gaccggaaag 600
tctttgccaa tctggtggaa gtcattcttg accgctttcc aactcttgca attcaccatc 660
atgatgtccc aagctaccta cttggttttc cacggatgag ataaggtttc cctcagaatc 720
accatcgtgt acttcgtgta cattctctcc cttttcttcc tcttgcgtca gttcttcgtg 780
caatctaca tggctccaaa gaagaagaag tccgcttga 819

<210> 26
<211> 272
<212> PRT
<213> *Thalassiosira pseudonana*

10

<400> 26

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

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

<210> 27
<211> 1086
<212> ADN
<213> *Phytophthora infestans*

<400> 27
atggcgacga aggaggcgta tgtgttcccc actctgacgg agatcaagcg gtcgctaacct 60
aaagactgtt tcgaggcttc ggtgcctctg tcgctctact acaccgtgcg ttgtctgggtg 120
atcgcggttg ctctaaccctt cggctctcaac tacgctcgcg ctctgcccgga ggctcgagagc 180
ttctgggctc tggacgccgc actctgcacg ggctacatct tgctgcaggg catcgtgttc 240
tggggcttct tcacggtggg ccacgatgcc ggccacggcg ccttctcgcg ctaccacctg 300
cttaacttgc tgggtgggac tttcatgcac togtcatcc tcacgccctt cgagtctggg 360
aagctcacgc accgtcacca ccacaagaac acgggcaaca ttgaccgtga cgaggctctc 420
taccgcgaac gcaaggccga cgaccaccgc ctgtctcgca acctgattct ggcgctcggg 480
gcagcgtggc tcgcctatct ggtcgagggc ttccctctct gtaagggtcaa ccacttcaac 540
ccgttcgagc ctctgttcgt gcgtcagggtg tcagctgtgg taatctctct tctcgccac 600
ttcttcgtgg ccggactctc catctatctg agcctccagc tgggccttaa gacgatggca 660
atctactact atggacctgt ttttgtgttc ggcagcatgc tggtcattac caccttccta 720
caccacaatg atgaggagac cccatggtac gccgactcgg agtggacgta cgtcaagggc 780
aacctctcgt ccgtggaccg atcgtaacggc gcgtcattg acaacctgag ccacaacatc 840
ggcacgcacc agatccacca ctttttcctt atcattccgc actacaaact caagaaagcc 900
actgcggcct tccaccaggc ttccctgag ctcgtgcgca agagcgacga gcccaattatc 960
aaggctttct tccgggttgg acgtctctac gcaaactacg gcgttgtgga ccaggaggcg 1020
aagctcttca cgctaaagga agccaaggcg gcgaccgagg cggcggccaa gaccaagtcc 1080
acgtaa 1086

<210> 28
<211> 361
<212> PRT
<213> *Phytophthora infestans*

<400> 28
Met Ala Thr Lys Glu Ala Tyr Val Phe Pro Thr Leu Thr Glu Ile Lys
1 5 10 15
Arg Ser Leu Pro Lys Asp Cys Phe Glu Ala Ser Val Pro Leu Ser Leu
20 25 30

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

ES 2 743 692 T3

275

280

285

Phe Pro Ile Ile Pro His Tyr Lys Leu Lys Lys Ala Thr Ala Ala Phe
290 295 300

His Gln Ala Phe Pro Glu Leu Val Arg Lys Ser Asp Glu Pro Ile Ile
305 310 315 320

Lys Ala Phe Phe Arg Val Gly Arg Leu Tyr Ala Asn Tyr Gly Val Val
325 330 335

Asp Gln Glu Ala Lys Leu Phe Thr Leu Lys Glu Ala Lys Ala Ala Thr
340 345 350

Glu Ala Ala Ala Lys Thr Lys Ser Thr
355 360

<210> 29

<211> 1434

<212> ADN

5 <213> *Claviceps purpurea*

<400> 29

atggctgcta ctacctctgc tatgagcaag gatgctgttc ttagaagaac tgctgctgct	60
actactgcta tcgatcacga aagctctacc tctgcttctc cagctgattc tcttagactc	120
tctgcttctt ctacctctct ctcttctctc agctctctcg acgctaagga taaggatgat	180
gagtacgctg gacttcttga tacttacgga aacgctttca cccctcctga ttctactatc	240
aaggatatca gagatgctat ccctaagcac tgcttcgagc gttctgctat caagggatac	300
gcttatatcc tcagagatgt ggcttgccct tctaccactt tctacctctt ccacaacttc	360
gttacccttg agaacgttcc ttacaccctt cttagagttt tctctgggg agtttacact	420
gctcttcagg gacttttcgg aactggactc tggattatcg ctacagagtg tggacacggt	480
gctttctctc cttctaccct cactaacgat cttactggat gggttctcca ctctgctctt	540
ctcgtgcctt acttctcttg gaagttctct cactctgctc accacaaggg aacoggaaat	600
atggaaaggg atatggcttt cctccctaga actagggctc aatacgctac cagattcgga	660
agagctatgg atcagcttgg agatctttgc gaggaacccc ctatctacac tgctggattc	720
cttgttttcc agcagcttct tggatggcct tcttacttga tcgctaacgt tactggacac	780
gatcttcacg agagacagag agaggggaaga ggaaagggaa agaagaacgg attcggagga	840
actgttaacc acttcgaccc tcgttctcct atcttcgatg acaagcacgc taagtttatc	900
gttctcagcg atatcggaact tggacttgct atcgtgctc ttgtttacct cggaaacaga	960
ttcggatggg ctaacgttgc tgtttggtac ttcgttctct acctctgggt taaccactgg	1020
atcgttgcta tcactttcct tcagcacact gatcctactc ttctcacta cactgctgag	1080
gaatggaact tcgttcgtgg agctgctgct acaatcgata gagagatggg atttatcggg	1140
agacacctct tcacggaat cgcttgagact cacgtgcttc accactacgt ttcttcaatc	1200
cctttctaca acgctgatga ggcttctgag gctatcaagc ctgttatggg aaagcactac	1260
cgttctgaga ctaaggatgg acctatgggt tttatcaggg ctttgtggaa aactgctaga	1320
tgggtgtcaat gggttgagcc ttctgctgat gctcaagggt ctggtgaagg tgttctcttc	1380
ttcaggaaca gaaacggact tggaactaag cctatctcta tgaggacca gtga	1434

<210> 30

<211> 477

<212> PRT

<213> *Claviceps purpurea*

<400> 30

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

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

ES 2 743 692 T3

Gly Lys His Tyr Arg Ser Glu Thr Lys Asp Gly Pro Met Gly Phe Ile
420 425 430

Arg Ala Leu Trp Lys Thr Ala Arg Trp Cys Gln Trp Val Glu Pro Ser
435 440 445

Ala Asp Ala Gln Gly Ala Gly Glu Gly Val Leu Phe Phe Arg Asn Arg
450 455 460

Asn Gly Leu Gly Thr Lys Pro Ile Ser Met Arg Thr Gln
465 470 475

<210> 31
<211> 903
<212> ADN
<213> *Ostreococcus tauri*
<400> 31

5

```
atgtctgctt ctggagcttt gttgcctgct attgctttcg ctgcttacgc ttacgctacc      60
tacgcttatg ctttcgagtg gtctcatgct aacggaatcg ataacgtgga tgctagagag      120
tggtattggag ctttgtcttt gagactocct gcaattgcta ccaccatgta cctottgttc      180
tgcccttgagg gacctagatt gatggctaag agggaggctt ttgatcctaa gggattcatg      240
ctcgtttaca acgcttacca aaccgctttc aacgttgagg tgctcggaat gttcgtctaga      300
gagatctctg gattgggaca acctgtttgg ggatctacta tgccttgagg cgataggaag      360
tccttcaaga ttttggtggg agtgtggctc cattacaaca ataagtacct cgagttgttg      420
gatactgtgt tcatggtggc taggaaaaag accaagcagc tctctttctt gcatgtgtac      480
catcatgctt tggtgatttg ggcttggtgg cttgtttgtc atctcatggc taccaacgat      540
tgcacgatg cttatttcgg agctgcttgc aactctttca tccacatcgt gatgtactcc      600
tactacctca tgtctgcttt gggaattaga tgcccttgga agagatatat caccaggct      660
cagatgttgc aattcgtgat cgtgttcgct catgctgttt tcgtgctcag acaaaagcac      720
tgccctgtta ctttgccctg ggcacaaatg ttcgtgatga caaatatgtt ggtgctcttc      780
ggaaacttct acctcaaggc ttactctaac aagtctaggg gagatggagc ttctttctgt      840
aagcctgctg agactactag agcaccttct gtgagaagaa ccagggtccag gaagatcgat      900
tga                                                                           903
```

<210> 32
<211> 300
<212> PRT
<213> *Ostreococcus tauri*
<400> 32

10

Met Ser Ala Ser Gly Ala Leu Leu Pro Ala Ile Ala Phe Ala Ala Tyr

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

Leu Val Leu Phe Gly Asn Phe Tyr Leu Lys Ala Tyr Ser Asn Lys Ser
 260 265 270

Arg Gly Asp Gly Ala Ser Ser Val Lys Pro Ala Glu Thr Thr Arg Ala
 275 280 285

Pro Ser Val Arg Arg Thr Arg Ser Arg Lys Ile Asp
 290 295 300

REIVINDICACIONES

1. Un polinucleótido que comprende una secuencia de ácido nucleico elegida de entre el grupo que consiste en:
 - a) una secuencia de ácido nucleico que tiene una secuencia de nucleótidos como se muestra en SEQ ID NO: 1 o 5;
 - b) una secuencia de ácido nucleico que codifica un polipéptido que tiene una secuencia de aminoácidos como se muestra en SEQ ID NO: 2 o 6;
 - c) una secuencia de ácido nucleico que codifica un polipéptido que tiene actividad desaturasa y que tiene una secuencia de aminoácidos que es al menos un 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2, de manera que la secuencia no consiste en SEQ ID NO. 29 que se muestra en el documento WO 2010/042510, o al menos un 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6; y
 en el que dicha secuencia de ácido nucleico codifica un polipéptido que tiene actividad desaturasa.
2. El polinucleótido de la reivindicación 1, en el que dicho polinucleótido comprende adicionalmente una secuencia de control de la expresión unida operativamente a dicha secuencia de ácido nucleico.
3. El polinucleótido de la reivindicación 1 o 2, en el que dicho polinucleótido comprende adicionalmente una secuencia terminadora unida operativamente a la secuencia de ácido nucleico.
4. Un vector que comprende el polinucleótido de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3.
5. Una célula huésped que comprende el polinucleótido de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 o el vector de la reivindicación 4.
6. Un procedimiento de fabricación de un polipéptido codificado por un polinucleótido de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 que comprende
 - a) el cultivo de la célula huésped de la reivindicación 5 en condiciones que permitan la producción de dicho polipéptido; y
 - b) la obtención del polipéptido de la célula huésped de la etapa a).
7. Un polipéptido codificado por el polinucleótido de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 o que se puede obtener por el procedimiento de la reivindicación 6.
8. Un organismo transgénico no humano que comprende el polinucleótido de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 o el vector de la reivindicación 4.
9. El organismo transgénico no humano de la reivindicación 8, que es una planta, una parte de la planta o una semilla de la planta.
10. Un procedimiento de fabricación de ácidos grasos poliinsaturados que comprende:
 - a) el cultivo de la célula huésped de la reivindicación 5 en condiciones que permitan la producción de ácidos grasos poliinsaturados en dicha célula huésped; y
 - b) la obtención de dichos ácidos grasos poliinsaturados de dicha célula huésped.
11. Un procedimiento de fabricación de ácidos grasos poliinsaturados que comprende:
 - a) el cultivo del organismo transgénico no humano de la reivindicación 8 o 9 en condiciones que permitan la producción de ácidos grasos poliinsaturados en dicho organismo transgénico no humano; y
 - b) la obtención de dichos ácidos grasos poliinsaturados de dicho organismo transgénico no humano.
12. El procedimiento de la reivindicación 10 u 11, en el que dicho ácido graso poliinsaturado es ácido araquidónico (ARA), ácido eicosapentaenoico (EPA) o ácido docosahexaenoico (DHA).
13. Un procedimiento de fabricación de un aceite, lípido o composición de ácidos grasos que comprende las etapas del procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 10 a 12 y la etapa adicional de formulación del ácido graso poliinsaturado como un aceite, un lípido o una composición de ácidos grasos.
14. El procedimiento de la reivindicación 13, en el que dicho aceite, lípido o composición de ácidos grasos se va a utilizar para un pienso, un alimento, cosméticos o medicamentos.
15. Un anticuerpo o un fragmento del mismo que reconoce específicamente el polipéptido de SEQ ID NO: 2 o 6, o un polipéptido codificado por un polinucleótido como se muestra en la SEQ ID NO: 1 o 5 o un 90 % idéntico a este y que tiene actividad desaturasa.

Figura 1 de 13: Figura esquemática de las diferentes actividades enzimáticas que dan lugar a la producción de ARA, EPA y DHA

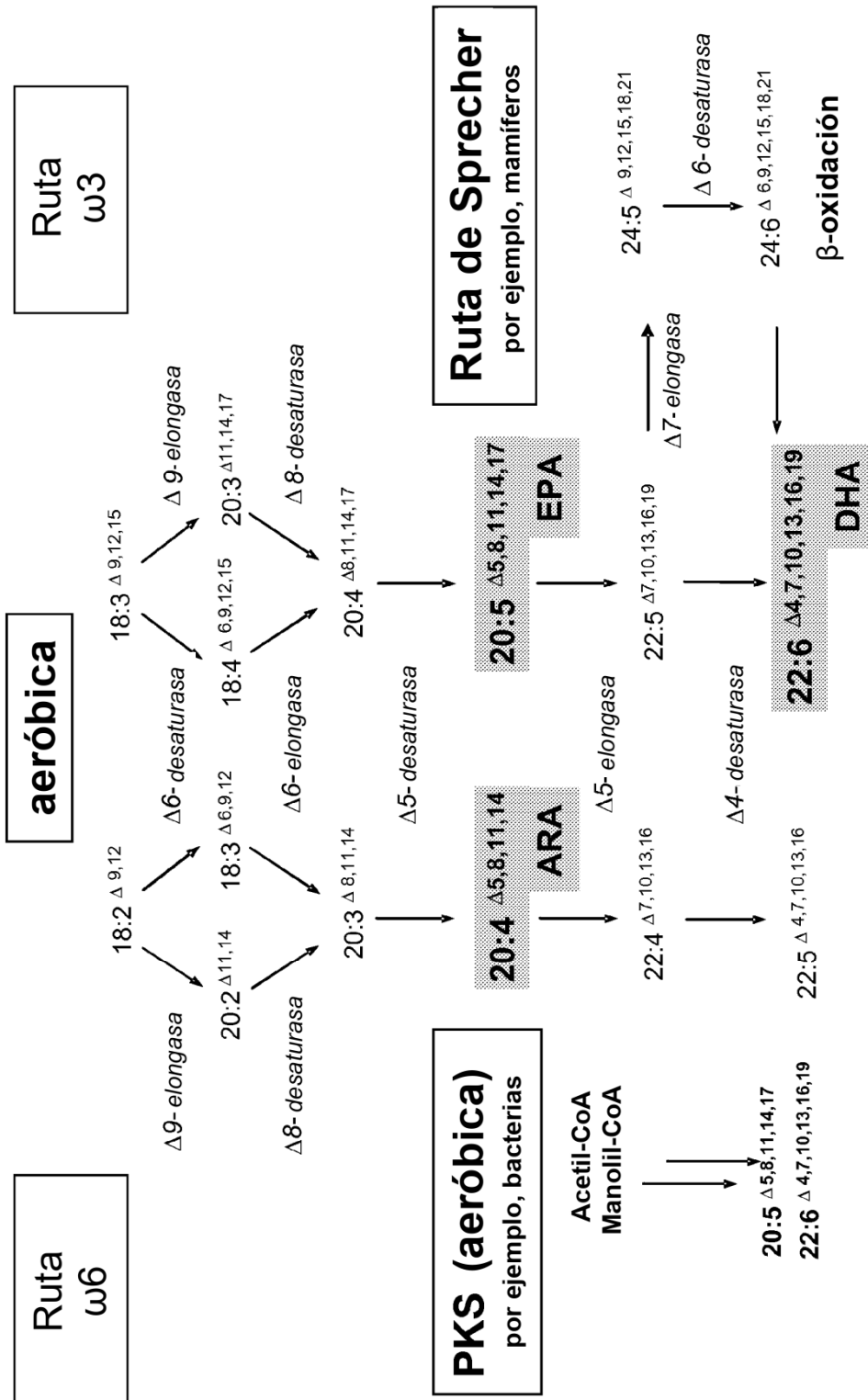


Figura 2 de 13: Cromatografía de gases del experimento de expresión en levaduras con la alimentación de 22:5n-3 en presencia (A) y ausencia (B) de d4Des(Eh). La flecha indica la formación de 22:6, el producto de la actividad de d4Des(Eh).

Expresión en levaduras

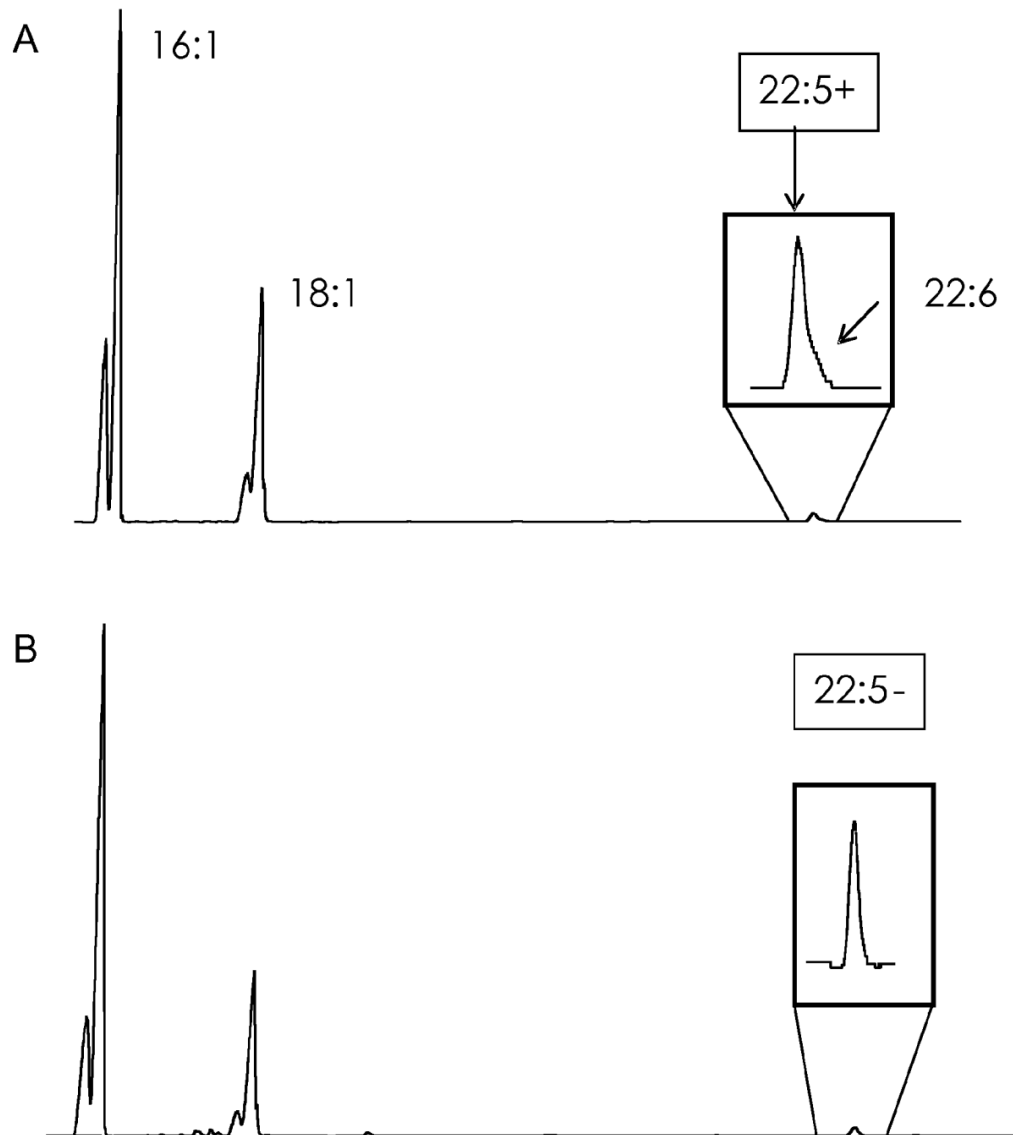


Figura 3 de 13: Cromatografía de gases del experimento de expresión en levaduras con la alimentación de 20:3n-3 en presencia (A) y ausencia (B) de d8Des(Eh). La flecha indica la formación de 20:4, el producto de la actividad de d8Des(Eh).

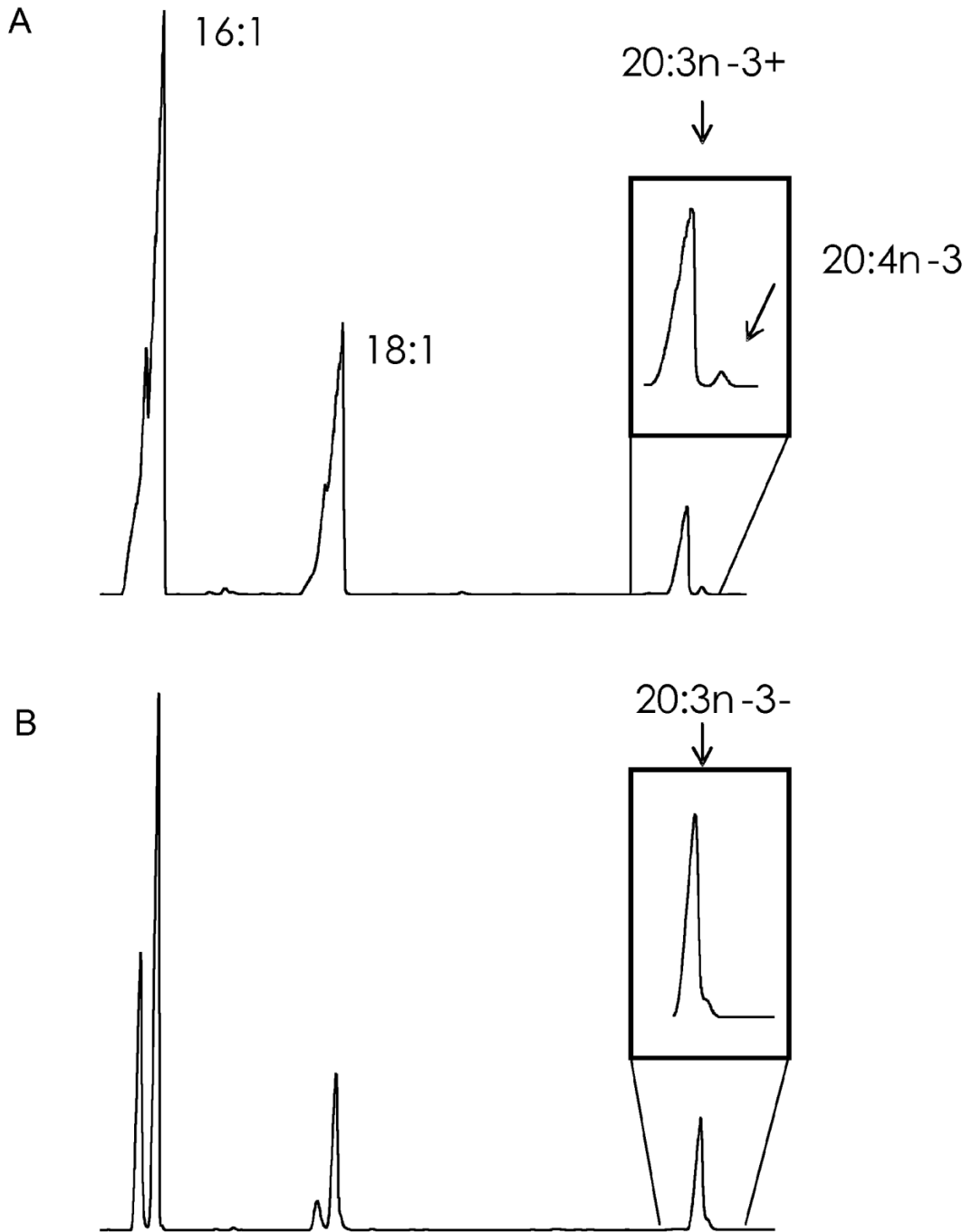


Figura 4 de 13: Cromatografía de gases del experimento de expresión en levaduras con la alimentación de 18:3n-3 (ALA) en presencia (A) y ausencia (B) de d9Elo(Eh). La flecha indica la formación de 20:3n-3, el producto de la actividad de d9Elo(Eh).

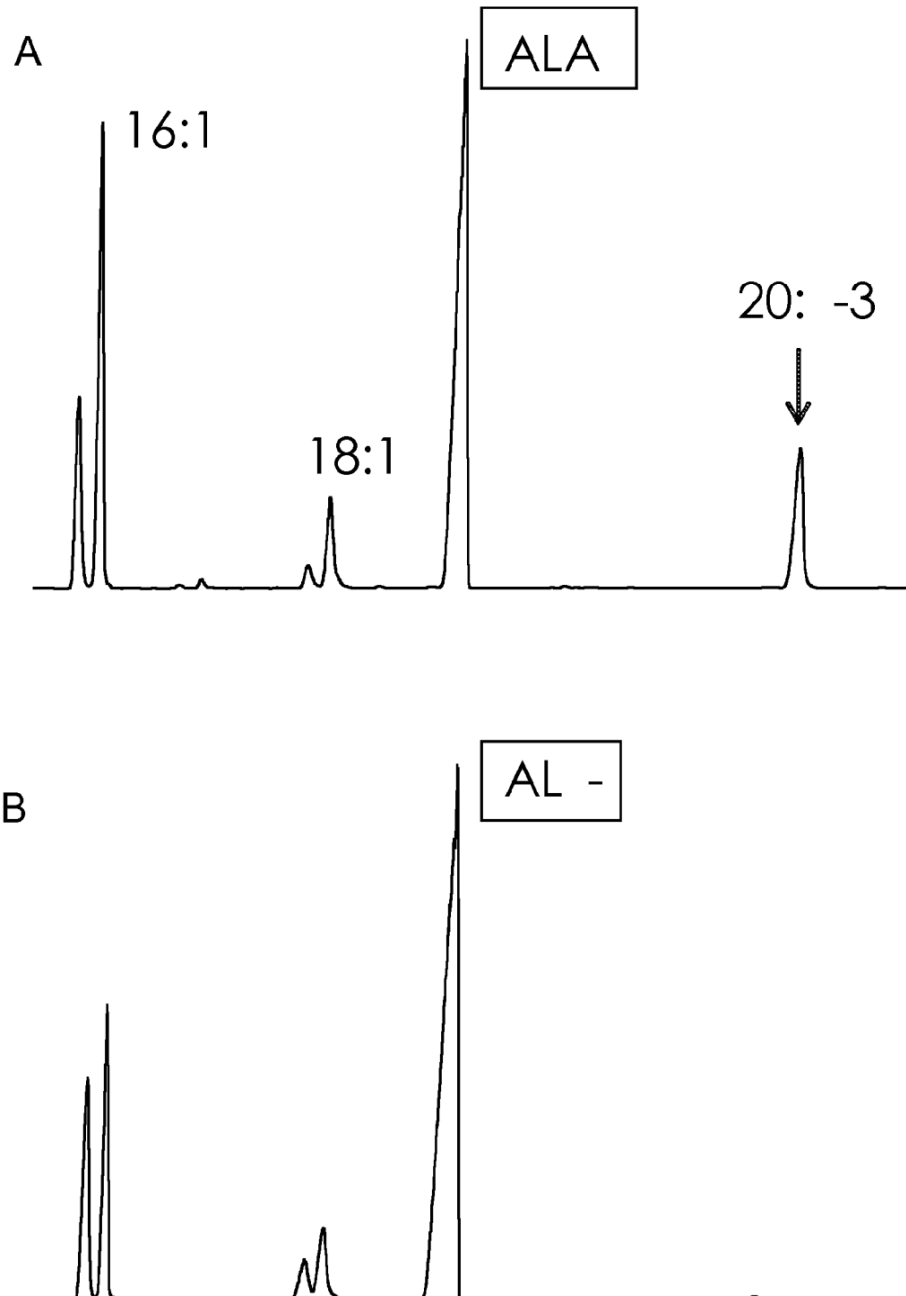


Figura 5 de 13: Cromatografía de gases del experimento de expresión en levaduras con alimentación de 18:3n-6 (GLA) y 18:4n-3 (SDA) en presencia (A) y ausencia (B) de d5Elo(Eh). La flecha indica la formación de 20:3n-6 o 20:4n-3, respectivamente, los productos de la actividad de d5Elo(Eh)

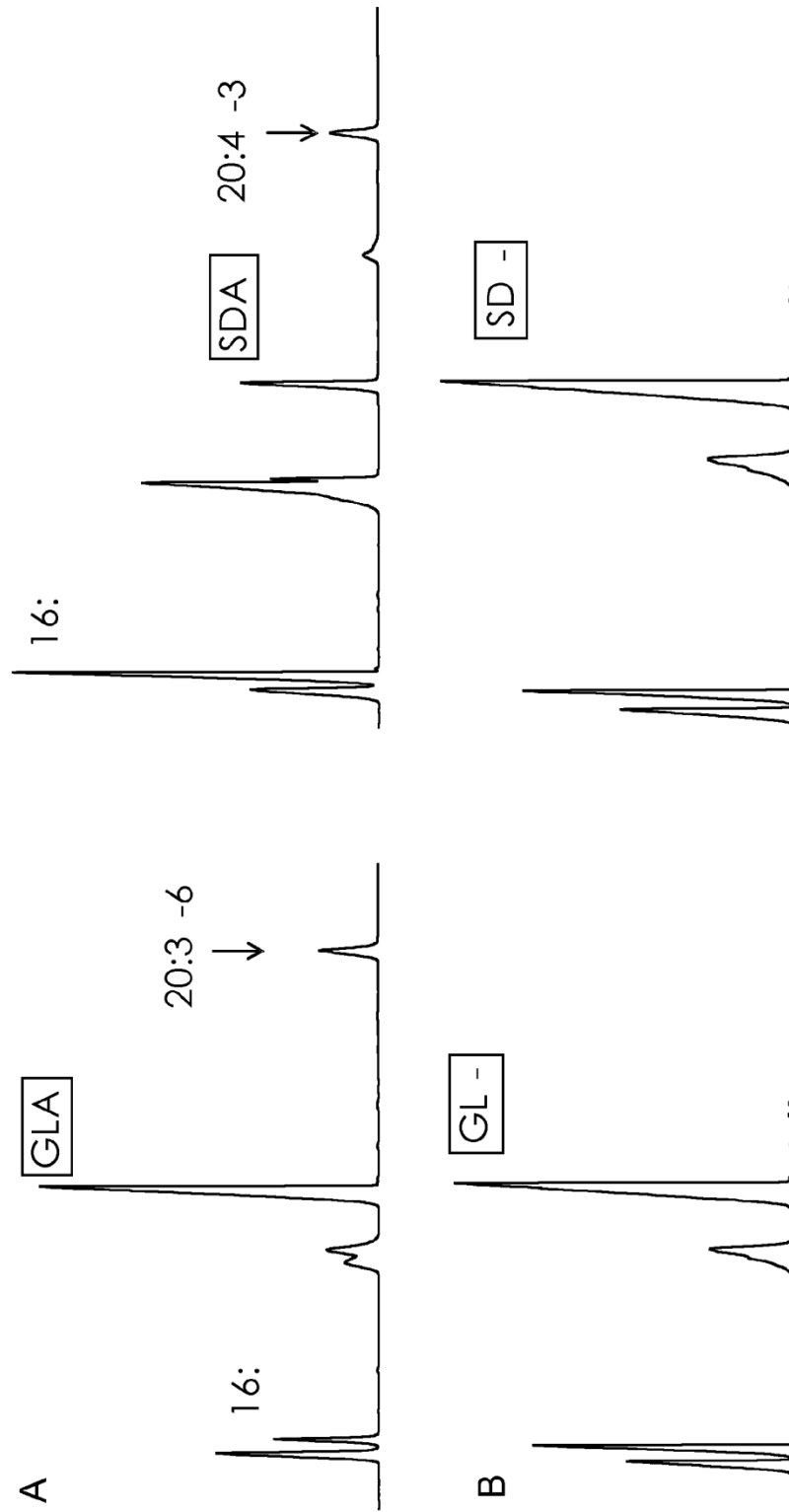


Figura 6 de 13: Cromatografía de gases del experimento de expresión en levaduras con alimentación de 20:4n-6 (ARA) y 20:5n-3 (EPA) en presencia (A) y ausencia (B) de d5Elo(Eh). La flecha indica la formación de 22:4n-6 o 22:5n-3, respectivamente, los productos de la actividad de d5Elo(Eh)

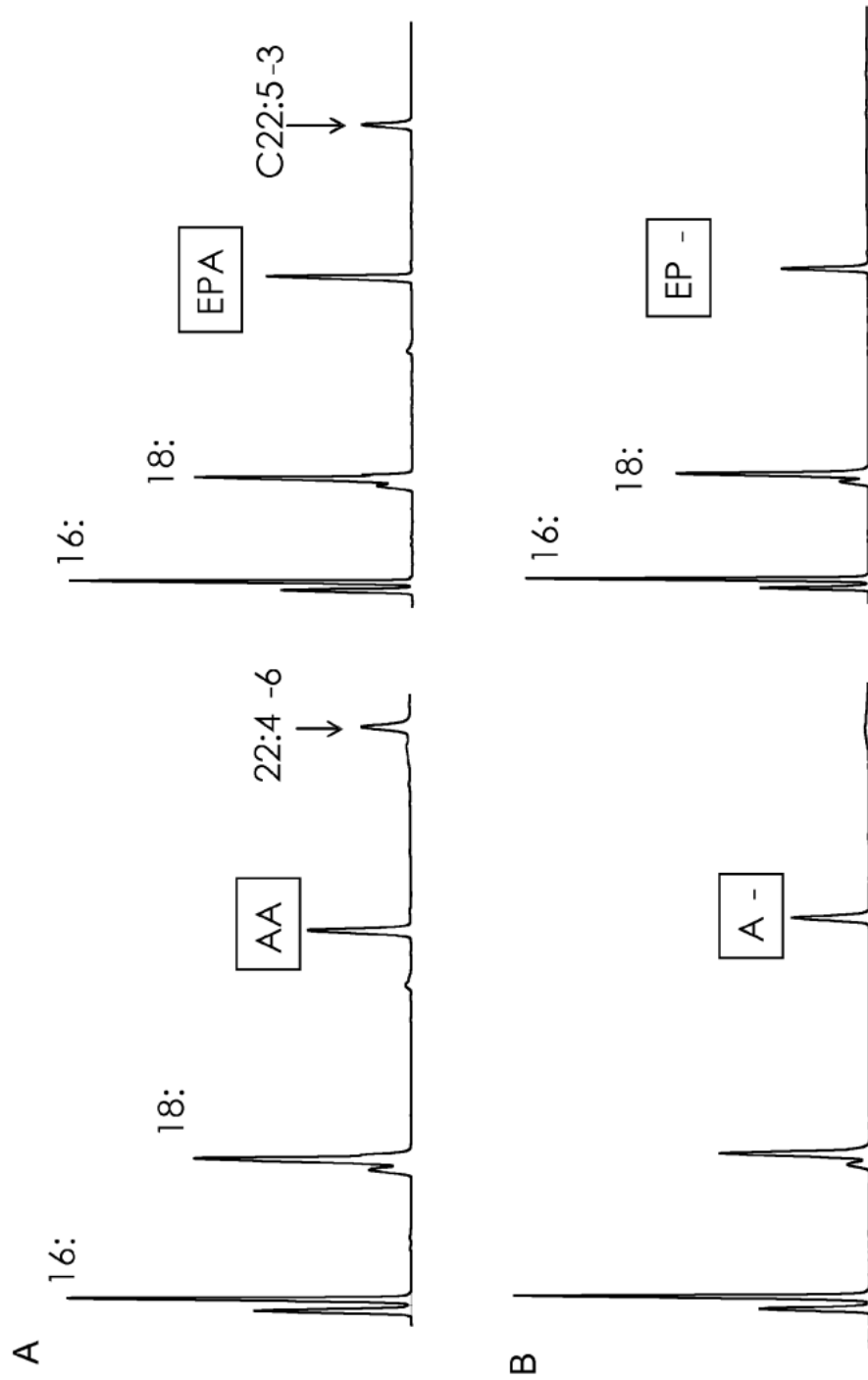


Figura 7 de 13: Análisis de cromatografía de gases de semillas de Arabidopsis maduras. Los picos se cuantificaron y se enumeraron en la tabla siguiente. EmiElo91 y EmiElo92 son dos eventos seleccionados transformados con d9Elo(Eh). WT es un control sin transformar. Los productos de la actividad de d9Elo(Eh) son 20:2 y 20:3n3, que aumentaron 10 veces en comparación con los niveles del control no transformado.

Grasos	16:0	18:0	18:1	18:2	ALA	18:4	20:0	20:1	20:2	20:3n3	22:1
EmiElo91	4,64	3,43	13,34	23,88	12,64	0,18	2,55	22	11,26	3,73	1,69
EmiElo92	4,21	3,04	12,63	24,63	14,57	0,34	2,28	21,56	10,94	4,02	1,8
WT	6,22	3,21	16,17	27,75	16,63	0,16	2,4	22,2	1,95	0,46	2,15

Figura 8 de 13: Análisis de acil-CoA de semillas de Arabidopsis maduras del evento EmiElo91 transformado con d9Elo(Eh). Col0 es el material de siembra de una planta no transformada. Δ9elo es el material de siembra de EmiElo91. El producto de la actividad de d9Elo(Eh) se marca con un asterisco (20:2), que está aumentado masivamente en comparación con el control, indicando la expresión funcional de d9Elo(Eh).

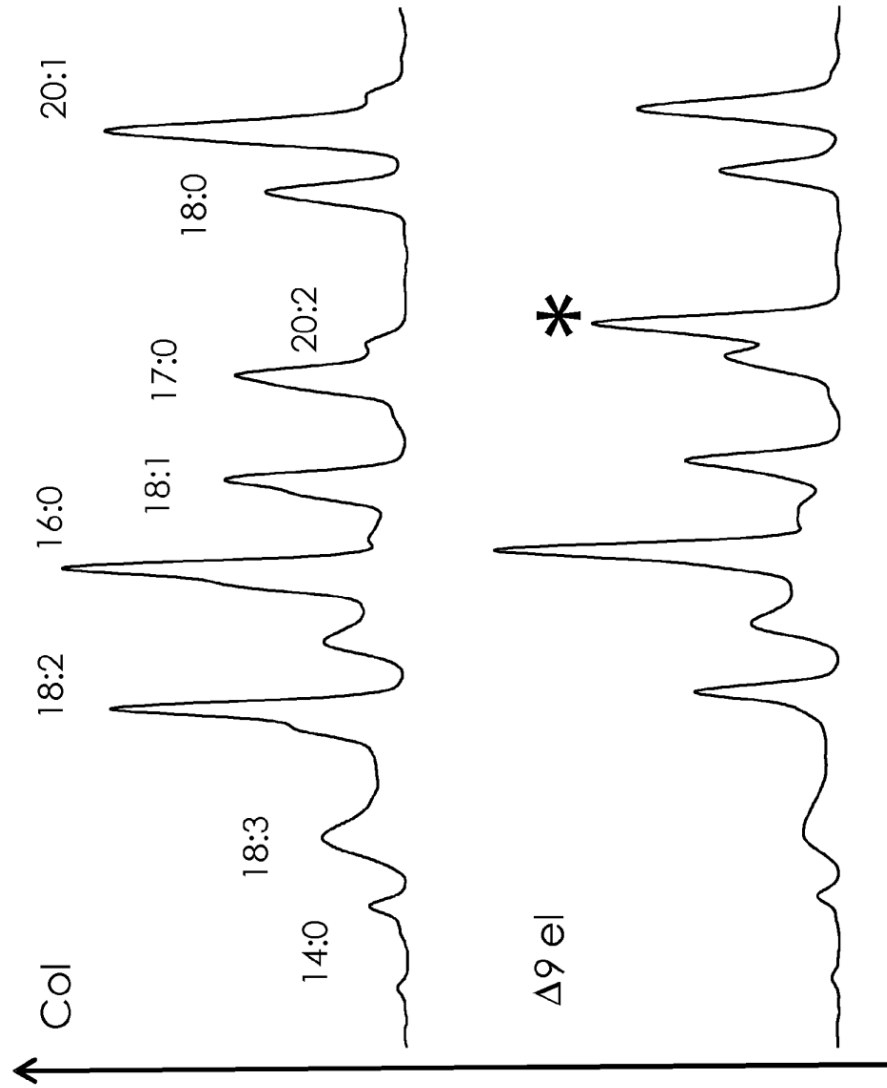


Figura 9 de 13: Análisis de cromatografía de gases de semillas de Arabidopsis maduras transformadas con la construcción AP2 (combinaciones de genes d9Elo(Eh)_d8Des(Eh)_d5Des(Eh)_de12Des(Ps)_o3Des(Pi). Los picos se cuantificaron y se enumeran en la tabla siguiente. Los productos de la actividad de d9Elo(Eh) son 20:2 y 20:3n3.

FA	16:0	18:0	18:1c9	18:1c11	18:2	18:3n3	20:0	20:1	20:2	20:3n3
AP2 1	6,5	3,4	12,9	1,8	27,4	13,2	2,0	15,9	7,5	4,5
AP2 5	5,7	3,2	14,9	1,5	26,4	13,1	2,0	17,9	6,8	3,2
AP2 11	5,9	3,2	13,5	1,6	26,6	13,3	2,0	17,1	7,7	4,0
AP2 16	6,5	3,1	11,9	1,7	26,9	13,5	2,0	16,2	7,8	5,0
AP2 17	7,6	3,4	12,2	3,1	30,6	13,8	2,0	14,9	3,8	2,2
AP2 18	6,5	3,3	11,4	1,9	27,2	14,2	2,3	16,7	6,7	3,9
AP2 21	6,6	3,1	10,9	1,8	24,9	15,5	2,2	15,9	7,4	5,7
AP2 22	6,2	3,2	9,7	1,7	25,9	14,4	2,1	15,9	8,7	6,4
AP2 23	6,3	3,1	10,8	1,9	27,1	14,6	2,1	16,0	7,5	5,2
AP2 24	5,9	3,1	10,3	1,6	25,4	14,2	2,1	16,1	9,4	5,9
AP2 25	6,2	3,0	12,0	1,6	26,0	14,8	2,0	17,1	7,7	3,9
AP2 26	6,2	3,3	11,1	1,8	26,6	13,1	2,1	16,0	8,6	5,7
AP2 27	5,8	3,1	9,8	2,0	24,1	12,2	2,2	15,8	9,5	8,6
AP2 28	6,0	3,2	9,8	1,8	25,0	13,0	2,2	15,7	8,9	7,6
AP2 29	6,6	3,3	10,1	2,0	26,5	14,1	2,2	15,8	7,9	5,8
AP2 30	5,6	3,0	10,7	1,5	26,7	13,2	2,0	16,6	10,5	4,7
AP2 31	5,5	3,2	11,2	1,8	24,5	12,6	2,1	16,5	10,6	6,0
AP2 32	5,7	3,2	11,1	1,6	25,5	13,5	2,2	17,4	8,8	4,9
AP2 33	6,5	3,2	9,2	1,9	26,7	15,4	2,3	15,8	7,6	5,5
AP2 34	6,4	3,3	10,1	2,0	26,1	13,7	2,3	16,7	8,0	5,7
AP2 42	5,7	3,4	13,1	1,8	25,6	12,8	2,3	18,0	7,6	4,2
AP2 46	6,3	3,3	10,3	2,4	27,2	12,8	2,4	17,0	6,7	5,0
AP2 47	5,7	3,5	13,3	2,0	26,7	12,4	2,3	17,5	7,3	3,8
AP2 48	5,6	3,5	12,0	2,0	25,5	12,2	2,3	16,6	8,9	5,7
AP2 49	6,0	2,9	12,9	1,6	26,7	14,2	2,2	18,4	6,5	3,2
AP2 50	5,8	3,0	10,8	2,5	26,6	13,9	2,2	17,1	6,7	5,1
media	6,1	3,2	11,4	1,9	26,3	13,6	2,2	16,6	7,9	5,1
desv. tip	0,5	0,2	1,4	0,3	1,2	0,9	0,1	0,8	1,4	1,4

Figura 10 de 13:

FA	16:0	18:0	18:1	18:1 Δ_9	18:2	18:2 $\Delta_{9,12}$	GLA 18:3n6	18:4	20:0	20:1 $\Delta_{11,14}$	20:2	DHGLA 20:3n6	ARA 20:4n3	20:3n3	ETA 20:4n3 20:5n3	EPA	22:0	22:1	DPA	DHA
OstELO5EmD4_1	6,	3,	10,	1,9	25,5	0,7	0,3	2,	17,9	2,0	0,	1,	1,	0,	1,	2,	0,	1,	1,	2,3
OstELO5EmD4_2	7,	3,	13,	2,4	27,4	2,7	1,5	2,	16,0	1,1	0,	0,	0,	0,	0,	1,	0,	1,	0,	1,2
OstELO5EmD4_3	6,	3,	10,	2,3	26,2	1,9	1,0	2,	15,5	1,4	0,	0,	1,	0,	0,	3,	0,	1,	0,	2,7
OstELO5EmD4_4	7,	3,	8,7	2,8	23,7	5,7	3,2	2,	15,2	1,1	0,	0,	0,	1,	0,	2,	0,	1,	0,	1,6
OstELO5EmD4_5	7,	3,	10,	2,4	24,6	3,2	1,8	2,	16,3	1,1	0,	0,	0,	0,	1,	2,	0,	1,	0,	2,0
OstELO5EmD4_6	8,	3,	9,0	2,2	23,2	6,1	4,0	2,	15,7	1,3	0,	0,	0,	0,	0,	1,	0,	1,	0,	1,4
OstELO5EmD4_7	7,	3,	7,9	2,2	24,0	1,0	0,7	2,	14,6	2,1	0,	0,	1,	1,	1,	3,	0,	1,	1,	4,7
OstELO5EmD4_8	9,	3,	10,	1,7	26,8	1,1	0,5	1,	13,7	1,6	0,7	1,	1,	0,	1,	2,	0,	1,	0,	2,
OstELO5EmD4_14	8,	3,	12,	1,6	25,4	4,8	2,	2,	15,7	1,2	0,	0,	0,	0,	0,	0,	0,	1,	0,	0,
OstELO5EmD4_15	9,	3,	11,	1,7	25,8	3,9	2,	1,	13,6	1,2	0,1	0,	0,	0,	0,	2,	0,	0,	0,	1,
OstELO5EmD4_16	7,	3,	9,7	2,2	24,3	6,7	3,	2,	14,2	0,9	0,1	0,	0,	1,	0,	1,	0,	1,	0,	1,
OstELO5EmD4_18	7,	3,	10,	2,1	24,4	5,1	3,	2,	15,7	1,3	0,5	0,	0,	0,	0,	2,	0,	1,	0,	1,
OstELO5EmD4_20	6,	3,	8,8	2,0	24,4	1,0	0,	2,	16,5	1,8	0,7	1,	1,	1,	1,	3,	0,	1,	0,	3,
OstELO5EmD4_21	5,	3,	11,	2,0	26,4	0,6	0,	2,	18,3	1,9	0,7	1,	0,	0,	1,	2,	0,	1,	0,	1,
OstELO5EmD4_25	6,	3,	10,	1,9	24,9	2,1	1,	2,	17,4	1,9	0,5	0,	0,	0,	0,	1,	0,	1,	0,	1,
OstELO5EmD4_26	6,	3,	11,	2,1	25,5	5,0	3,	1,	15,6	1,3	0,2	0,	0,	1,	0,	1,	0,	1,	0,	1,
OstELO5EmD4_27	6,	3,	12,	1,9	24,2	4,2	2,	2,	16,4	1,3	0,4	0,	0,	0,	0,	2,	0,	1,	0,	1,
OstELO5EmD4_28	8,	3,	8,2	2,4	23,5	3,7	2,	2,	14,2	1,1	0,8	1,	1,	1,	1,	4,	0,	1,	1,	2,
OstELO5EmD4_101	6,	3,	8,2	2,1	23,1	1,4	0,	3,	17,4	1,7	0,6	1,	1,	1,	1,	3,	0,	1,	1,	3,
OstELO5EmD4_103	6,	3,	10,	2,2	26,7	1,1	0,	2,	17,1	2,0	0,2	0,	0,	1,	0,	1,	0,	1,	0,	1,
OstELO5EmD4_104	6,	3,	9,2	2,4	25,3	1,2	0,	2,	15,9	1,6	0,7	1,	1,	1,	1,	4,	0,	1,	1,	3,
OstELO5EmD4_105	6,	3,	9,3	2,0	24,9	3,5	1,	2,	15,1	1,4	0,7	2,	0,	0,	0,	3,	0,	1,	1,	2,
OstELO5EmD4_106	7,	3,	7,2	2,3	19,5	3,1	2,	2,	13,8	1,3	0,4	1,	1,	1,	1,	7,	0,	1,	1,	4,
OstELO5EmD4_109	7,	3,	7,5	2,4	21,7	1,8	1,	2,	14,7	1,7	0,3	1,	1,	1,	0,	5,	0,	1,	2,	4,
OstELO5EmD4_111	7,	3,	10,	2,2	25,6	2,5	1,	2,	14,5	1,3	0,3	0,	0,	0,	0,	3,	0,	1,	1,	2,
OstELO5EmD4_112	7,	3,	6,3	3,5	20,1	2,1	1,	2,	13,3	1,7	1,0	0,	0,	1,	2,	6,	0,	1,	1,	3,
OstELO5EmD4_115	8,	3,	7,8	2,7	24,1	2,6	1,	2,	13,8	1,5	0,3	1,	1,	1,	0,	4,	0,	1,	2,	3,
OstELO5EmD4_116	7,	3,	10,	2,5	24,8	5,7	3,	2,	13,7	0,	0,2	0,	0,	1,0	0,	2,	0,	1,	0,	1,
OstELO5EmD4_117	6,	3,	9,	2,	26,	1,	0,	2,	15,2	1,	0,9	1,	1,	1,3	1,	3,	0,	1,	1,	3,
OstELO5EmD4_118	6,	3,	10,4	2,	23,	3,	2,	2,	15,3	1,	1,2	0,	0,	1,1	2,	3,	0,	1,	1,	1,
OstELO5EmD4_119	7,	3,	9,	2,	25,	4,	2,	2,	14,2	1,	0,2	0,	0,	1,0	0,	2,	0,	0,	0,	2,
OstELO5EmD4_120	6,	3,	10,0	2,	27,	1,	0	2,	15,1	1,	0,8	1,	1,	0,9	1,	2,	0,	1,	1,	2,
media	7,	3,	9,	2,2	24,	3,0	1,	2,	15,4	1,	0,	0,	0,	1,0	0,	3,	0,4	1,3	1,	2,
desv. típ.	0,	0,	1,	0,4	1,	1,8;	1,	0,	1,	0,	0,	0,	0,	0,2	0,	1,	0,1	0,2	0,	1,

Figura 11 de 13: Análisis de cromatografía de gases de semillas de Arabidopsis maduras transformadas con diferentes construcciones. Los valores se generan a partir de la mejor línea individual de Arabidopsis. Se comparan las siguientes construcciones: BBC..... La construcción con d4Des(Eh) suministraba los niveles más altos de DHA y la relación de DHA:DPA (2,9) más alta.

Línea	16:	18:	18:	18: n-6	GL	18: n-3	SD	20: n-9	A	EP	DP	DH
BBC	3,9	4,1	9,9	21,0	1,0	10,5	0,6	22,	1,6	10,	-	-
OstELO TcD4	6,2	3,8	6,2	21,8	2,0	11,6	1,1	14,	1,5	5,4	4,4	3,8
OstELO EmD4	7,1	3,3	7,9	24,0	1,0	13,6	0,7	14,	1,2	3,8	1,6	4,7
BBC-OTelo5-EhD4-2	6,9	3,2	7,1	21,5	1,2	11,8	0,6	13,	1,3	4,6	8,5	0,2

Figura 12 de 13: Análisis de cromatografía de gases de semillas de Arabidopsis maduras transformadas con la construcción EmELO5Tcd4. La producción de 22:5 y 22:6 demuestra la actividad de d5Elo(Eh) en las semillas.

FA	16:0	18:0	18:1	18:2	GLA	ALA	18:4	20:0	20:1	20:2	DHGLA	ARA	ETA	EPA	22:1	DPA	DHA
		$\Delta 9$	$\Delta 11$	$\Delta 9,12$	18:3n6	18:3n3			$\Delta 11$	$\Delta 13$	$\Delta 11,14$	20:3n6	20:3n3	20:4n3	20:5n3	22:5	22:6
EmELO5Tcd4_1	6,5	3,4	10,5	2,5	24,2	3,3	12,7	2,0	2,3	17,5	3,3	1,4	0,2	0,5	4,1	1,7	0,2
EmELO5Tcd4_2	6,4	3,6	10,0	1,9	25,2	3,1	13,1	1,8	2,3	16,1	2,4	1,4	0,2	0,5	5,6	1,3	0,2
EmELO5Tcd4_3	6,1	3,5	14,3	1,8	27,0	0,0	16,8	0,0	2,5	18,4	2,3	3,6	0,0	0,0	0,0	1,6	0,0
EmELO5Tcd4_4	7,0	3,6	10,1	2,4	26,2	3,4	11,9	2,1	2,3	15,9	2,9	1,1	0,3	0,6	4,3	1,2	0,4
EmELO5Tcd4_5	6,3	3,5	8,3	2,1	23,1	1,5	12,0	0,8	2,2	15,6	2,7	1,4	1,1	1,3	8,7	1,2	0,3
EmELO5Tcd4_6	6,1	3,6	10,6	2,1	24,9	1,6	13,3	0,8	2,3	16,6	2,5	1,8	0,9	0,7	1,7	1,3	0,2
EmELO5Tcd4_7	5,5	3,4	10,3	1,8	25,7	0,5	12,6	0,2	2,5	18,2	2,3	2,0	0,9	1,4	6,0	1,5	0,3
media	6,3	3,5	10,6	2,1	25,2	1,9	13,2	1,1	2,4	16,9	2,6	1,8	0,5	0,8	1,0	1,4	0,2
desv. típ.	0,5	0,1	1,8	0,3	1,3	1,4	1,7	0,9	0,1	1,1	0,4	0,9	0,4	0,5	2,6	0,2	0,1

Figura 13 de 13: Análisis de cromatografía de gases de semillas de Arabidopsis maduras transformadas con cuatro construcciones diferentes (A). La producción de ARA y EPA demuestra la actividad de d5Des(Eh) en las semillas (B). Se puede demostrar que d5Des(Eh) tiene una preferencia por los ácidos grasos n-6 (ARA).

A)

Construcción			
Borraja	Promotor de glicina + borraja		
Borraja Δ6:	Promotor de glicina + borraja	Promotor de glicina	
Ostr Δ6=	Promotor de glicina + Ostr		
Ostr Δ6:PeLO6=	Promotor de glicina + Ostr	Promotor de glicina	

B)

Construcción	1E0	18:0	18:1	18:2	GLA	18:3	SDA	20:1	20:2	DHGLA	ArA	20:3-3	20:4-3	EPA
Bd6+elo6	6,2	4,1	17,3	24,8	4,4	9,5	1,8	15,4	4,3	2,6	-	1,3	0,9	-
Od6+elo6	6,6	4,3	12,9	26,3	0,9	9,5	0,4	11,4	1,7	9,1	-	0,5	4,2	-
B6/elo6/Ed5	10,8	4,3	9,3	26:0	4,4	10,7	2,0	10,6	5,0	2,0	1,4	1,7	1,0	0,5
O6/elo6/Ed5	10,3	3,9	9,5	23,9	1,0	10,5	0,0	11,5	2,3	5,2	4,7	0,5	3,9	1,4