

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 773 916**

51 Int. Cl.:

A01H 5/00 (2008.01)

C07K 14/195 (2006.01)

C07K 14/415 (2006.01)

C12N 15/82 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **13.06.2013 PCT/EP2013/062254**

87 Fecha y número de publicación internacional: **19.12.2013 WO13186303**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.06.2013 E 13728740 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.09.2019 EP 2861058**

54 Título: **Receptor de reconocimiento de patrones de plantas y quimeras del mismo para su uso contra infecciones bacterianas**

30 Prioridad:

13.06.2012 GB 201210484

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
15.07.2020

73 Titular/es:

**EBERHARD KARLS UNIVERSITÄT TÜBINGEN
(100.0%)
Geschwister-Scholl-Platz
72074 Tübingen, DE**

72 Inventor/es:

**JEHLE, ANNA KRISTINA;
LIPSCHIS, MARTIN;
ALBERT, MARKUS y
FELIX, GEORG**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 773 916 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

Receptor de reconocimiento de patrones de plantas y quimeras del mismo para su uso contra infecciones bacterianas

Campo de la invención

La presente invención está definida por el conjunto de reivindicaciones adjuntas y se refiere al hallazgo de que hasta ahora una proteína huérfana llamada proteína 1 tipo receptor (RLP1) en plantas media en una respuesta inmune a las infecciones bacterianas. Específicamente, la invención se refiere a receptores de reconocimiento de patrones quiméricos (PRR) compuestos por el dominio extracelular del receptor del patrón molecular asociado a microbios enigmáticos (MAMP) de *Xanthomonas* (REMAX), que es el sitio de reconocimiento para detectar infección, y porciones C-terminales de PRR de otras especies de plantas. También se proporciona un Procedimiento para modular la respuesta inmune de una planta a una infección bacteriana aumentando o disminuyendo la expresión de REMAX o proteínas similares a REMAX, o las PRR quiméricas de la invención en plantas. Finalmente, la invención proporciona Procedimientos para la identificación y purificación de nuevos patrones moleculares asociados a microbios en plantas que usan proteínas REMAX o similares a REMAX y/o las nuevas PRR quiméricas de la presente invención.

Descripción

Las plantas están expuestas a patógenos microbianos pero, en general, son resistentes a la mayoría de estos microbios. Obviamente, las plantas han desarrollado barreras y mecanismos de defensa eficientes para evitar con éxito estos patógenos microbianos. A su vez, los microbios patógenos han encontrado formas de ingresar a través de heridas, poros y estomas o por penetración activa a través de la superficie de la hoja o la raíz. Sin embargo, una vez dentro de la planta huésped, el patógeno se encuentra con otras barreras preformadas, como la pared celular de la planta o los metabolitos secundarios antimicrobianos (Nürnberg and Lipka, 2005). Además de estas barreras permanentes, las plantas tienen una serie de sistemas de defensa inducibles que entran en acción cuando las plantas perciben el ataque de los microbios. Para la detección de patógenos, las plantas poseen receptores de reconocimiento de patrones (PRR) en la membrana plasmática que reconocen los patrones moleculares asociados a microbios/patógenos (MAMP/PAMP) a través de sus dominios extracelulares e inician la señalización intracelular y la inducción de reacciones de defensa. Estos procesos se definen como inmunidad activada por PAMP (PTI) (Chisholm et al., 2006; Jones and Dangl, 2006). El reconocimiento de los MAMP induce múltiples respuestas celulares, como los flujos iónicos alterados a través de la membrana plasmática que causan alcalinización extracelular y mayores concentraciones del Ca^{2+} citoplasmático (Boller and Felix, 2009) y la biosíntesis de la hormona del estrés por etileno causada por la rápida activación de la ACC-sintasa (Spanu et al., 1994). Otra respuesta temprana es la inducción de cascadas de proteína quinasa activada por mitógeno (MAPK) que causan la activación transcripcional de los factores de transcripción (Nühse et al., 2000; Asai et al., 2002). De este modo, se induce la transcripción de genes que codifican proteínas tales como defensinas (proteínas antimicrobianas), enzimas líticas o enzimas para la síntesis de fitoalexinas (metabolitos secundarios antimicrobianos) (Nürnberg et al., 2004). Otras reacciones típicas de defensa de la planta son la deposición de callos en la pared celular de la planta y la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) que pueden ser tóxicas para los patógenos y causar la reticulación de la pared celular de la planta (Apel and Hirt, 2004). Para contrarrestar la PTI, algunos patógenos tienen efectores evolucionados que suprimen esta respuesta. Este proceso se llama susceptibilidad activada por el efector (ETS). A su vez, algunas plantas contienen proteínas R (resistentes) especializadas que reconocen estos efectores. Este reconocimiento causa inmunidad activada por el efector (ETI) que en general conduce a una respuesta hipersensible (HR), una muerte celular del tejido vegetal que rodea el sitio de la infección (Dangl and Ho-lub, 1997), y por lo tanto limita el patógeno al sitio de infección. (Chisholm et al., 2006; Jones and Dangl, 2006; Caplan et al., 2008). Muchas proteínas R pertenecen a la familia de proteínas NB-LRR que consiste en un sitio de unión de nucleótidos (NB) y un dominio de repetición rico en leucina (LRR). Estos NB-LRR pueden interactuar directamente con los efectores a través de sus dominios LRR o indirectamente a través de una proteína adicional (factor huésped) que se une al efector del patógeno.

Para iniciar las reacciones de defensa activa es crucial que las plantas huésped puedan detectar el ataque de patógenos potenciales. Como es el caso del sistema inmune innato bien estudiado de los animales, las plantas pueden reconocer estructuras químicas que son características de los organismos microbianos en general. En analogía también, estas estructuras que sirven como señales para el sistema inmune de las plantas se denominan MAMP, es decir, patrones moleculares asociados a microbios. Los MAMP a menudo representan estructuras moleculares altamente conservadas que llevan funciones esenciales para los microbios. Típicamente, estos MAMP son representativos de clases enteras de microbios, pero no ocurren en la planta huésped. El reconocimiento de MAMP sigue los principios de reconocimiento de "no a sí misma" (Medzhitov and Janeway, 2002; Nürnberg et al., 2004; Zipfel, 2008).

Los receptores de reconocimiento de patrones (PRR) en la superficie celular de la planta reconocen MAMP y DAMP y transducen la señal a la célula. Hasta ahora, se han identificado varios receptores que pertenecen a la familia de quinasas (LRR-RLK) y proteínas (LRR-RLP) ricas en leucina, y a la familia LysM - RLKs/RLPs.

La bacteria Gram-negativa *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* (Xac) es un patógeno de plantas que causa cáncer de cítricos en la mayoría de las especies de cítricos. Originaria de Asia, la Xac actualmente causa Canker A también en Sudamérica, Estados Unidos y Australia (Graham et al., 2004) con pérdidas económicas considerables (Gottwald et

- al., 2002). Xac ingresa a la planta a través de estomas o lesiones. Aproximadamente 9 días después de la infección, aparecen lesiones similares a ampollas en las hojas que luego se vuelven marrones haciéndose visibles márgenes empapados en agua, rodeados de necrosis. El centro de la lesión se hace elevado y corchoso. Xac también puede proliferar y causar síntomas similares en las frutas, lo que hace que las frutas no sean comercializables. Las bacterias proliferan y exudan los estomas durante el clima húmedo. Luego, Xac se distribuye principalmente por la lluvia impulsada por el viento (Graham et al., 2004). Muchos miembros del género *Xanthomonas* muestran un alto rango de huéspedes y especificidad racial con la mayoría de las cepas restringidas a un pequeño número de huéspedes (Brunings and Gabriel, 2003). *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* se limita a *Citrus* y parientes de *Citrus* en la familia Rutaceae.
- 5 Se han descrito hasta ahora varios MAMP y sus correspondientes receptores de reconocimiento de patrones. Sin embargo, hay indicaciones para muchos MAMP adicionales para los cuales no se han identificado los PRR correspondientes. Algunos PRR están restringidas a familias de plantas específicas y algunos MAMP son alterados o enmascarados en algunos microbios, por lo que no todas las plantas pueden reconocer a todos los microbios. Por lo tanto, la transformación de PRR a otras especies de plantas puede aumentar la resistencia a los patógenos como se muestra para la transformación de tomate y tabaco con el PRR EFR (Lacombe et al., 2010).
- 10 El documento WO 01/09283 divulga receptores de plantas quiméricas útiles para modular las respuestas de las plantas a los patógenos. Los receptores comprenden un dominio extracelular heterólogo y un dominio quinasa de una proteína RRR.
- 15 El documento WO 00/20616 divulga una proteína o polipéptido inductor de respuesta hipersensible aislado, de *Xanthomonas campestris*.
- 20 En vista de lo anterior, es un objeto de la presente invención proporcionar medios novedosos para mejorar la resistencia de las plantas a las infecciones bacterianas, específicamente a las infecciones con la bacteria patógena *Xanthomonas*.
- 25 En un primer aspecto de la presente invención, el objeto anterior se resuelve mediante un receptor de reconocimiento de patrones quiméricos (PRR) para reconocer patrones moleculares asociados a patógenos de plantas, que comprende al menos un ectodominio que tiene una secuencia que es al menos 80 % idéntica para el ectodominio de la proteína que se muestra en la SEQ ID No. 1, un dominio yuxtamembrana, un dominio transmembrana y un dominio citoplasmático, caracterizado porque el ectodominio y al menos uno de los otros dominios se derivan de PRR diferentes.
- 30 En el contexto de la presente invención, el término "ectodominio" se referirá a las partes extracelulares de un receptor transmembrana que albergan la función del receptor para unirse a sus ligandos. Específicamente, en ciertas realizaciones de la presente invención, el término "ectodominio" preferiblemente se referirá al dominio LRR de un PRR de planta.
- 35 En el contexto de la presente invención y en todas sus realizaciones, el término "patrones moleculares asociados a patógenos" se referirá a cualquier estructura molecular derivada de un organismo patógeno de plantas y/o cualquier otro microorganismo, tal como bacterias, hongos u organismos eucariotas unicelulares y/o pequeños organismos multicelulares.
- 40 En el contexto de la presente invención, el término "dominio transmembrana" se referirá a partes de un receptor transmembrana que forman un pliegue estable en una membrana celular. El término se referirá en caso de receptores transmembrana de un solo paso solo al dominio que abarca la membrana celular. En el caso de dominios transmembrana de paso múltiple, el término también denota la región que contiene múltiples dominios transmembrana únicos.
- 45 En el contexto de la presente invención, el término "dominio yuxtamembrana" se referirá al tramo de aminoácidos en un receptor transmembrana que se encuentra en el lado extracelular del receptor, directamente adyacente al dominio transmembrana. El dominio yuxtamembrana, por lo tanto, conecta el ectodominio con el dominio transmembrana.
- El ectodominio del PRR quimérico según la presente invención se deriva en otra realización preferiblemente de un PRR -PRR "A"- mientras que el dominio citoplasmático, el dominio yuxtamembrana y/o el dominio transmembrana se derivan de otro (un diferente) PRR - PRR "B". Preferiblemente, los diferentes PRR ("A" y "B") se derivan de diferentes especies de plantas.
- 50 El PRR quimérico según la presente invención es para uso en el tratamiento y/o protección de una planta contra una infección bacteriana, preferiblemente contra una infección por *Xanthomonas*.
- En una realización preferida adicional, el PRR quimérico de la invención comprende un ectodominio que tiene una secuencia que es al menos 80 %, 90 %, 95 %, 98 %, 99 % o 100 % idéntica al ectodominio de REMAX - SEQ ID No. 1 o At1g07390.

Además, se prefiere un PRR quimérico según la invención, en el que el dominio yuxtamembrana, el dominio transmembrana y/o el dominio citoplasmático se derivan de PRR seleccionados de quinasas similares a receptores repetidos ricos en leucina (LRR-RLK), proteínas similares al receptor LRR (LRR-RLP) o LysM-RLK/RLP.

Finalmente, en una realización adicional del primer aspecto de la presente invención, el PRR quimérico comprende un dominio yuxtamembrana, un dominio transmembrana y/o un dominio citoplasmático que comprenden cada uno una secuencia que tiene al menos 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 95 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia a LeEix2 (SEQ ID No. 2), preferiblemente a la parte C-terminal de LeEix2, más preferiblemente al dominio yuxtamembrana, dominio transmembrana y/o un dominio de dominio citoplasmático de LeEix2 (SEQ ID No. 2).

El objeto de la presente invención se resuelve además en un segundo aspecto mediante un Procedimiento para modular la resistencia de una planta a una infección por *Xanthomonas*, que comprende, modular en dicha planta la expresión de una proteína que comprende una secuencia de aminoácidos de al menos 80 %, 90 %, 95 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad con la secuencia mostrada en la SEQ ID No. 1.

En una realización, se prefiere un procedimiento, en el que la modulación constituye un aumento o una disminución de la resistencia de una planta. Un aumento de la expresión de dicha proteína da como resultado el aumento de la resistencia de dicha planta a una infección por *Xanthomonas*. La disminución de la expresión da como resultado una disminución de la resistencia de dicha planta a una infección por *Xanthomonas*. Más preferiblemente, la expresión de dicha proteína en dicha planta se incrementa por la expresión ectópica de dicha proteína.

Por otro lado, y en otra realización preferida, la expresión de dicha proteína en dicha planta disminuye por mutagénesis, interferencia de ARN o metilación de ADN mediada por ARN. Dichas técnicas son bien conocidas por el experto en la materia.

Los mecanismos de silenciamiento mediados por ARN pueden interferir con la expresión génica a diferentes niveles: algunos mecanismos dirigidos por ARN actúan a un nivel postranscripcional a través de la degradación de los ARN mensajeros dirigidos. Sin embargo, las especies derivadas de ARNsh también pueden dirigir cambios en la estructura de la cromatina de las regiones de ADN con las que comparten identidad de secuencia. Por ejemplo, las plantas usan tales especies de ARN para depositar impresiones de metilación de citosina en secuencias de ADN idénticas, proporcionando una marca fundamental para la formación de heterocromatina transcripcionalmente silenciosa. Este proceso generalmente se conoce como metilación de ADN dirigida por ARN (RdDM).

La RdDM se inicia por la presencia de moléculas de ARN bicatenario (ARNsh) en el núcleo celular. Potencialmente, desencadenan la metilación de novo de todas las bases de citosina que se encuentran en regiones de ADN complementarias a la secuencia de la doble cadena de ARN. Como consecuencia, en los mamíferos y en las plantas, las posiciones de ADN metilado sirven como indicadores para la remodelación de la cromatina circundante de una tal manera, que se puede formar una heterocromatina densa en estos loci. Debido al denso entorno de cromatina, se impide que otras proteínas entren en contacto con el ADN. En particular, los factores de transcripción o los componentes de la maquinaria de transcripción no pueden ensamblarse en las secuencias promotoras metiladas y, por lo tanto, no puede producirse la transcripción en estas regiones. En efecto, los genes que tienen secuencias reguladoras metiladas se transcriben menos y, por lo tanto, se expresan menos.

Preferentemente, la modulación de la expresión de REMAX, o una proteína de tipo REMAX o un PRR quimérico de la invención se realiza mediante metilación de ADN mediada por ARN dirigida a una secuencia seleccionada de, pero sin limitación, una secuencia reguladora endógena que regula la transcripción del ADN de la planta. Como se usa en el presente documento, el término "secuencia reguladora" significa una secuencia de nucleótidos que, cuando está operativamente unida a una región codificante de un gen, afecta la transcripción de la región codificante de tal manera que una molécula de ácido ribonucleico (ARN) se transcribe desde la región codificante. Un elemento regulador generalmente puede aumentar o disminuir la cantidad de transcripción de una secuencia de nucleótidos, por ejemplo, una secuencia de codificación, unida operativamente al elemento con respecto al nivel en el que la secuencia de nucleótidos se transcribiría en ausencia del elemento regulador. Los elementos reguladores son bien conocidos en la técnica y preferiblemente incluyen promotores, potenciadores, silenciadores, secuencias intrónicas silenciadoras inactivadas, secuencias 3'-no traducidas o 5'-no traducidas de secuencia transcrita, preferiblemente una secuencia señal poli-A, u otra proteína o elementos estabilizadores de ARN, aislantes que restringen el efecto regulador de estas secuencias a regiones definidas, u otros elementos de control de la expresión génica conocidos por regular la expresión génica o la cantidad de expresión de un producto génico. Un elemento regulador puede aislarse de una secuencia de ADN genómico natural o puede ser sintético, por ejemplo, un promotor sintético.

Los términos "polinucleótido", "oligonucleótido" y "secuencia de ácido nucleico" se usan indistintamente en el contexto de la presente invención para referirse a una forma polimérica (dos o más monómeros) de nucleótidos de cualquier longitud, bien sea ribonucleótidos o desoxirribonucleótidos. Aunque los nucleótidos generalmente están unidos por enlaces fosfodiéster, el término también incluye polímeros que contienen enlaces troncales de amida neutra compuestos por unidades de aminoetilglicina. Los términos se usan solo para referirse a la estructura primaria de la molécula. Por lo tanto, el término incluye moléculas de ADN bicatenarias y monocatenarias como anteriormente. Se reconocerá que dichos polinucleótidos pueden modificarse, por ejemplo, mediante la inclusión de una etiqueta como una etiqueta radiactiva, fluorescente u otra, por metilación, por la inclusión de una estructura de cubierta, al contener

una sustitución de uno o más de los nucleótidos que se producen con un análogo de nucleótido, al contener una modificación internucleotídica tal como tener enlaces no cargados (por ejemplo, metilfosfonatos, fosfotriésteres, fosforamidatos, carbamatos o similares), al contener una unidad estructural colgante como una proteína (por ejemplo, una nucleasa, toxina, anticuerpo, péptido de señalización, poli-L-lisina o similares), al contener un intercalador como la acridina o el psoraleno, al contener un quelante, que puede ser un metal como el boro, un metal oxidativo o un metal radiactivo, conteniendo un alquilante o teniendo un enlace modificado (por ejemplo, un ácido nucleico alfa anómérico).

Las especies de polinucleótidos preferidas según la presente invención se seleccionan de ADNss, ADNds, ADNt, ARNss, ARNsh, ARNsh, ARNis y ARNm. Preferiblemente, el polinucleótido es un ADN que codifica una molécula de ARNsh, preferiblemente una horquilla de ARNsh. Las horquillas ARNsh se generan preferiblemente mediante la expresión de una construcción de ADN que codifica secuencias contiguas de sentido y antisentido que están separadas por un espaciador. Tras la transcripción de tal construcción, la molécula de ARNss generada forma una doble cadena mediante el emparejamiento de bases de las secuencias sentido y antisentido.

La presente invención proporciona en una realización adicional el Procedimiento anterior, en el que dicha proteína es una proteína quimérica que comprende un ectodominio que tiene al menos 80 %, 90 %, 95 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con la SEQ ID No.1 y dominio yuxtamembrana y/o un dominio transmembrana y/o un dominio citoplasmático derivado de al menos una proteína similar a un receptor diferente (RPL) que no es REMAX.

Las especies de *Xanthomonas* en el contexto de todos los aspectos y realizaciones de la presente invención se seleccionan preferiblemente de *Xanthomonas axonopodis*, *Xanthomonas campestris*, *Xanthomonas stewartii*, *Xanthomonas oryzae* y *Xanthomonas translucens*.

Las plantas para usar en los Procedimientos anteriores de la invención y en el contexto de los otros aspectos y realizaciones de la presente invención son pimienta, arroz, cítricos, algodón, tomate, soja, tabaco. Preferiblemente en los que la planta es susceptible a una infección por *Xanthomonas*. Otras plantas para usar en contexto con todos los aspectos y realizaciones de la presente invención son maíz (*Zea mays*), *Brassica* sp. (por ejemplo, *B. napus*, *B. rapa*, *B. juncea*), alfalfa (*Medicago sativa*), centeno (*Secale cereale*), sorgo (*Sorghum bicolor*, *Sorghum vulgare*), girasol (*Helianthus annuus*), cártamo (*Carthamus tinctorius*), trigo (*Triticum aestivum*), soja (*Glycine max*), tabaco (*Nicotiana tabacum*), patata (*Solanum tuberosum*), cacahuete (*Arachis hypogaea*), algodón (*Gossypium barbadense*, *Gossypium hirsutum*), batata (*Ipomoea batatas*), yuca (*Manihot esculenta*), café (*Coffea* spp.), coco (*Cocos nucifera*), piña (*Ananas comosus*), cítricos (*Citrus* spp.), cacao (*Theobroma cacao*), té (*Camellia sinensis*), plátano (*Musa* spp.), aguacate (*Persea edulis*), higo (*Ficus carica*), guayaba (*Psidium guajava*), mango (*Mangifera indica*), aceituna (*Olea europaea*), papaya (*Carica papaya*), anacardo (*Anacardium occidentale*), macadamia (*Macadamia integrifolia*), almendra (*Prunus amygdalus*), remolacha de azúcar (*Beta vulgaris*), caña de azúcar (*Saccharum* spp.), avena, lenteja de agua (*Lemna*), cebada, tomates (*Lycopersicon esculentum*), lechuga (por ejemplo, *Lactuca sativa*), judías verdes (*Phaseolus vulgaris*), habas (*Phaseolus limensis*), guisantes (*Lathyrus* spp.) y miembros del género *Cucumis* como pepino (*C. sativus*), melón (*C. cantalupensis*) y melón almizclero (*C. melo*). Ornamentales como azalea (*Rhododendron* spp.), hortensia (*Hydrangea* spp.), hibisco (*Hibiscus rosasanensis*), rosas (*Rosa* spp.), tulipanes (*Tulipa* spp.), narcisos (*Narcissus* spp.), petunias (*Petunia hybrida*), clavel (*Dianthus caryophyllus*), flor de pascua (*Euphorbia pulcherrima*) y crisantemo también están incluidos. Ornamentales adicionales dentro del alcance de la invención incluyen *impatiens*, *Begonia*, *Pelargonio*, *Viola*, *Cyclamen*, *Verbena*, *Vinca*, *Tagetes*, *Primula*, *Saint Paulia*, *Agertum*, *Amaranto*, *Antirrhino*, *Aquilea*, *Cineraria*, *Trébol Cosmo*, *Cowpea*, *Dalia*, *Datura*, *Delfinio*, *Gerbera*, *Gladiolo*, *Gloxinia*, *Hippeastrum*, *Mesembryanthemum*, *Salpiglossis* y *Zinnia*. Las coníferas que pueden emplearse en la práctica de la presente invención incluyen, por ejemplo, pinos tales como pino de Loblolly (*Pinus taeda*), pino oblicuo (*Pinus elliotii*), pino ponderosa (*Pinus ponderosa*), pino de Lodgepole (*Pinus contorta*) y pino de Monterrey (*Pinus radiata*), abeto Douglas (*Pseudotsuga menziesii*), *Cicuta occidentalis* (*Tsugaultilane*); Abeto de Sitka (*Picea glauca*); secuoya (*Sequoia sempervirens*); abetos verdaderos como el abeto plateado (*Abies amabilis*) y el abeto balsámico (*Abies balsamea*); y cedros como el cedro rojo occidental (*Thuja plicata*) y el cedro amarillo de Alaska (*Chamaecyparis nootkatensis*).

Aún otro aspecto de la presente invención se refiere a un Procedimiento para producir una planta transgénica que tiene una resistencia mejorada a una infección por *Xanthomonas*, que comprende los pasos de (i) transformar una planta o célula vegetal con una secuencia de nucleótidos que codifica un PRR quimérico de acuerdo con el conjunto de reivindicaciones adjuntas.

Se prefiere en otra realización que dicho PRR quimérico comprenda un dominio yuxtamembrana y/o un dominio transmembrana y/o un dominio citoplasmático de un PRR autólogo de dicha planta.

En otro aspecto, el problema planteado por la presente invención se resuelve proporcionando una planta, caracterizada porque la planta expresa un PRR quimérico según la invención como se describe en el presente documento.

En otro aspecto más de la presente invención, el objetivo se resuelve mediante un gen, que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un PRR quimérico según la invención como se describe en el presente documento.

El término "gen" como se usa en el contexto de la invención describe cualquier elemento de secuencia de ADN que pueda transcribirse en ARN y que pueda codificar un rasgo heredable en un organismo. La mayoría de los genes son

genes que codifican proteínas, en donde la secuencia de nucleótidos del gen codifica la secuencia de aminoácidos del producto proteico. Sin embargo, otros genes podrían codificar ARN que no se traducen en proteínas, los llamados ARN no codificantes (ARNnc). Por ejemplo, los genes de ARNnc codifican para ARN de transferencia (ARNt) o ARN estructurales como se encuentran en complejos de proteínas grandes como el ribosoma (ARNr). Además, el término "gen" incluye regiones codificantes para pequeñas especies de ARN no codificantes. Los genes de ARN pequeños que no codifican incluyen ARNsno, microARN, ARNis y ARNpi y ARNnc largos que incluyen ejemplos como Xist y HOTAIR.

Aún otro aspecto de la divulgación se refiere a un casete de expresión caracterizado porque el casete de expresión permite la expresión de un gen de acuerdo con la invención.

Un aspecto preferido adicional de la presente descripción se dirige luego a un vector que comprende un ácido nucleico de acuerdo con la presente invención, por ejemplo un gen o un casete de expresión de acuerdo con la presente invención. Un vector dentro del significado de la presente invención es una proteína o un ácido nucleico o una mezcla de los mismos que puede introducirse o introducir los polinucleótidos comprendidos en una célula. Se prefiere que las proteínas codificadas por el ácido nucleico introducido se expresen dentro de la célula tras la introducción del vector. El vector divulgado comprende vectores recombinantes, plásmidos, fagémidos, fagos, cósmidos, virus, en particular, pero sin limitación, vectores de amplicones derivados de virus, vectores basados en virus de patata X, vectores basados en virus de cascabel del tabaco, vectores basados en geminivirus tales como enrollamiento de hojas de col vectores basados en virus mosaico de bandas de la cebada y vectores basados en virus satélites (revisados en Curtin, S.J., Wang, M.-B., Watson, J.M., Roffey, P., Blanchard, C.L. and Waterhouse, P.M.. (2007)), capítulo 12, p 291-332 en "Rice Functional Genomics; Challenges, Progress and Prospects". Upadhyaya, Narayana M. (Ed.), ISBN: 978-0-387-48903-2), virosomas y partículas recubiertas de ácido nucleico en particular esferas de oro.

El término "molécula de ácido nucleico recombinante" se refiere a un polinucleótido producido por intervención humana. Una molécula de ácido nucleico recombinante puede contener dos o más secuencias de nucleótidos que están unidas de tal manera que el producto no se encuentra en una célula en la naturaleza. En particular, las dos o más secuencias de nucleótidos se pueden unir operativamente y, por ejemplo, pueden codificar un polipéptido de fusión, o pueden comprender una secuencia de nucleótidos y un elemento regulador. Una molécula de ácido nucleico recombinante también puede basarse, pero de manera diferente, en un polinucleótido natural, por ejemplo, un polinucleótido que tiene uno o más cambios de nucleótidos de modo que un primer codón, que normalmente se encuentra en el polinucleótido, se reemplaza con un degenerado codón que codifica el mismo o un aminoácido conservador, o tal que se introduce una secuencia de interés en el polinucleótido, por ejemplo, un sitio de reconocimiento de endonucleasa de restricción o un sitio de empalme, un promotor, un sitio de inicio de replicación de ADN o similares.

Se prefiere un vector recombinante, que es un vector de expresión, que opcionalmente comprende uno o más genes para ser expresados. Preferiblemente, dicha expresión es dirigida por una secuencia (o secuencias) reguladora. Una secuencia reguladora puede aislarse de una secuencia de ADN genómico natural o puede ser sintética, por ejemplo, un promotor sintético.

Las secuencias reguladoras pueden ser secuencias reguladoras expresadas constitutivamente, que mantienen la expresión génica a un nivel relativo de actividad (nivel basal), o pueden ser secuencias reguladoras reguladas. La secuencia reguladora expresada constitutivamente puede expresarse en cualquier tipo de célula, o puede ser específica de tejido, que se expresa solo en tipos de células particulares, específicos de fase, que se expresan solo durante etapas particulares de desarrollo o crecimiento de una célula vegetal, o similares. Una secuencia reguladora tal como una secuencia reguladora específica de tejido o fase o una secuencia regulable inducible útil para construir un polinucleótido recombinante o en la práctica de un procedimiento de la invención puede ser una secuencia reguladora que generalmente, en la naturaleza, se encuentra en el genoma de una planta. Sin embargo, la secuencia reguladora también puede ser de un organismo distinto de una planta, que incluye, por ejemplo, un virus vegetal, un virus animal o una célula de un animal u otro organismo multicelular.

Una secuencia reguladora preferida útil para la expresión de polinucleótidos de la invención es un elemento promotor. Los promotores útiles incluyen, pero no se limitan a, promotores constitutivos, inducibles, regulados temporalmente, regulados por el desarrollo, regulados espacialmente, químicamente regulados, sensibles al estrés, específicos de tejido, virales y sintéticos. Se sabe que las secuencias promotoras son fuertes o débiles. Un promotor fuerte proporciona un alto nivel de expresión génica, mientras que un promotor débil proporciona un nivel muy bajo de expresión génica. Un promotor inducible es un promotor que proporciona la activación y desactivación de la expresión génica en respuesta a un agente agregado de manera exógena, o a un estímulo ambiental o de desarrollo. Se puede inducir un promotor bacteriano a niveles variables de expresión génica dependiendo del nivel de isotiopropil galactósido agregado a las células bacterianas transformadas. Una secuencia promotora aislada que es un promotor fuerte para el ácido nucleico heterólogo es ventajosa porque proporciona un nivel suficiente de expresión génica para permitir la fácil detección y selección de células transformadas y proporciona un alto nivel de expresión génica cuando se desee.

La elección del promotor variará dependiendo de los requisitos temporales y espaciales para la expresión, y también dependiendo de la especie objetivo. En algunos casos, es deseable la expresión en múltiples tejidos. Mientras que,

en otros, es deseable la expresión específica de tejido, por ejemplo, específica de hoja, específica de semilla, específica de pétalo, específica de antera o específica de médula radicular. Aunque muchos promotores de dicotiledóneas han demostrado ser operativos en monocotiledóneas y viceversa, idealmente los promotores dicotiledóneos se seleccionan para expresión en dicotiledóneas y los promotores de monocotiledóneas para expresión en monocotiledóneas. Sin embargo, no hay restricción para el origen o la fuente de un promotor seleccionado. Es suficiente que los promotores sean operativos para conducir la expresión de una secuencia de nucleótidos deseada en la célula particular.

Otras secuencias que se ha encontrado que mejoran la expresión génica en plantas transgénicas incluyen secuencias de intrones (por ejemplo, de Adh 1, bronce 1, actina 1, actina 2 (WO 00/760067), o el intrón de sacarosa sintasa), señales de poliadenilación en las secuencias principales de 3' UTR y guía viral (por ejemplo, de TMV, MCMV y AMV). Por ejemplo, se sabe que varias secuencias guía no traducidas derivadas de virus mejoran la expresión. Específicamente, las secuencias guía del virus mosaico del tabaco (TMV), el virus moteado clorótico del maíz (MCMV) y el virus mosaico de la alfalfa (AMV) han demostrado ser eficaces para mejorar la expresión (por ejemplo, Gallie et al., 1987; Skuzeski et al., 1990). Otras guías conocidas en la técnica incluyen, pero no se limitan, a guías de topicornavirus, por ejemplo, guía de EMCV (región 5'-no codificante del virus de la encefalomiocarditis; Elroy-Stein et al., 1989); guías de potivirus, por ejemplo, guía de TEV (virus de grabado del tabaco); guía del MDMV (virus mosaico enano del maíz); guía de la proteína de unión a la cadena pesada de la inmunoglobulina humana (BiP), (Macejak et al., 1991); guía no traducido del ARNm de la proteína de la cubierta de AMV (AMV RNA 4; Jobling et al., 1987), TMV (Gallie et al., 1989) y MCMV (Lommel et al., 1991; véase también, della Cioppa et al., 1987).

Para la expresión de cualquier constructo como se describe en el presente documento en una planta o célula vegetal, la invención preferiblemente representa que los polinucleótidos descritos son operables unidos a un promotor y a un sitio de poliadenilación, en el que dicho promotor se caracteriza porque es funcional en dicha célula de dicha planta. Como promotor en este contexto, cualquier elemento de secuencia es suficiente para inducir la transcripción de la secuencia corriente abajo. Los requisitos mínimos de los promotores son muy conocidos en la técnica y muchos de dichos promotores se usan convencionalmente para la expresión génica en plantas.

En una realización preferida de la invención, la transformación de una planta o célula vegetal con cualquier polinucleótido como se describe en el presente documento, se realiza mediante un Procedimiento seleccionado de procedimientos estándar conocidos en la técnica. La transformación del tejido vegetal se puede lograr preferiblemente mediante bombardeo con partículas (Klein et al., "High- Velocity Microprojectiles for Delivering Nucleic Acids Into Living Cells," Nature 327: 70-73 (1987)), también conocido como transformación balística del huésped, tal como se divulga en las Patentes de los Estados Unidos Nos. 4,945,050, 5,036,006 y 5,100,792, todas de Sanford et al., y en Emershad et al., "Somatic Embryogenesis and Plant Development from Immature Zygotic Embryos of Seedless Grapes (*Vitis vinifera*)" Plant Cell Reports 14: 6-12 (1995). En el bombardeo con partículas, las micropartículas de tungsteno u oro (de 1 a 2 µm de diámetro) se recubren con el ADN de interés y luego se bombardean en el tejido con gas a alta presión. De esta manera, es posible administrar nucleótidos extraños en el núcleo. También se pueden impulsar partículas biológicamente activas (por ejemplo, células bacterianas secas que contienen el vector y el ADN heterólogo) a las células vegetales. También se pueden usar otras variaciones del bombardeo con partículas, ahora conocidas o desarrolladas en el futuro. Otro Procedimiento preferido para introducir establemente la construcción de ácido nucleico en células vegetales es infectar una célula vegetal con *Agrobacterium tumefaciens* o *Agrobacterium rhizogenes* previamente transformados con la construcción polinucleotídica. Como se describió anteriormente, el plásmido Ti (o Ri) de *Agrobacterium* permite la transferencia exitosa de una molécula de ácido nucleico extraña a las células vegetales. Una variación preferida de la transformación de *Agrobacterium* utiliza la infiltración al vacío en la que se usan plantas enteras (Senior, "Uses of Plant Gene Silencing", Biotechnology and Genetic Engineering Reviews 15: 79-119 (1998)). Otro Procedimiento de introducción referido es la fusión de protoplastos con otras entidades, ya sea minicélulas, células, lisosomas u otros cuerpos fusionables con superficie lipídica (Fraley et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 79: 1859-63 (1982)). También se prefiere en un Procedimiento, en el que la molécula de ácido nucleico se introduce en las células de la planta mediante electroporación (Fromm et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82: 5824 (1985)). En esta técnica, los protoplastos de plantas se someten a electroporación en presencia de plásmidos que contienen el casete de expresión. Los impulsos eléctricos de alta intensidad de campo permeabilizan reversiblemente las biomembranas permitiendo la introducción de los plásmidos. Los protoplastos de plantas sometidos a electroporación reforman la pared celular, se dividen y se regeneran. Otros Procedimientos preferidos de transformación incluyen la transformación de plantas mediada por productos químicos, microinyección, abrasivos físicos, transducción viral y rayos láser (Senior, "Uses of Plant Gene Silencing", Biotechnology and Genetic Engineering Reviews 15: 79-119 (1998)). El Procedimiento preciso de transformación no es crítico para la práctica de la presente invención. Cualquier Procedimiento que resulte en una transformación eficiente de la célula huésped elegida es apropiado para practicar la presente.

El problema de la presente invención se resuelve en un aspecto adicional mediante un Procedimiento de detección para identificar patrones moleculares asociados a microbios (MAMP), que comprende los pasos del Procedimiento de (i) expresar en una planta o célula vegetal o tejido vegetal una proteína que comprende una secuencia de aminoácidos de al menos 80 %, 90 %, 95 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad con la SEQ ID No 1 (REMAX), o un PRR químico como se describe aquí, (ii) poner en contacto dicha planta o célula de planta con un compuesto candidato, (iii) midiendo la respuesta de dicha planta o célula vegetal, preferiblemente la respuesta inmune, en comparación con una planta

control o célula vegetal o tejido vegetal, en donde una respuesta elevada (inmune) de dicha planta o célula vegetal indica que dicho compuesto candidato es un MAMP.

- 5 En una realización adicional, en el paso (iii) del Procedimiento anterior, la respuesta inmune de dicha planta o célula vegetal se mide mediante la evaluación del estallido oxidativo, la producción de etileno y/o la expresión de genes inmunes sensibles o genes informadores. Los genes informadores que se pueden usar en el presente contexto están compuestos por un promotor que responde inmunológicamente y está operativamente unido a un gen informador que permite una lectura fácil de la expresión del gen informador, por ejemplo, enzimas luciferasa o proteínas fluorescentes. El experto en la materia tiene acceso a una amplia selección de enzimas que pueden usarse como genes informadores.
- 10 Un aspecto adicional de la invención constituye un Procedimiento para purificar una MAMP, que comprende el uso de una proteína REMAX, o partes extracelulares de la misma, como el ectodominio, específicamente el dominio LRR, en el que la proteína REMAX comprende una secuencia de al menos 80 %, 90 %, 95 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad con la SEQ ID No. 1.
- 15 En una realización adicional en el Procedimiento para purificar una MAMP, dicha proteína se acopla a un medio portador sólido, preferiblemente a una membrana o una perla. La purificación de la MAMP se puede realizar incubando un extracto de la planta en dicha membrana o perla para permitir la unión de la MAMP al receptor. Posteriormente, el complejo se lava para eliminar el material no unido. El MAMP se puede eluir en condiciones de sal que perjudica la unión del ligando-receptor.
- 20 El objetivo de la presente invención se resuelve en un aspecto adicional mediante un Procedimiento para obtener un desencadenante de una reacción de defensa en una planta que comprende los pasos de someter a lisis células de *Xanthomonas*, unir proteínas de dicho lisado a una columna de intercambio aniónico y eluir el inductor a bajas concentraciones de sal, de acuerdo con el conjunto de reivindicaciones adjuntas.
- 25 Una realización de la invención se refiere al inductor como se describe anteriormente, en el que la lisis de dichas células *Xanthomonas* se realiza por sonicación. Sin embargo, en la técnica se conocen otros Procedimientos para preparar extractos celulares, como el uso de productos químicos como detergentes o fuerza mecánica. Se prefiere que el protocolo utilizado para someter a lisis las células sea suficiente para permitir la liberación de proteínas celulares de las células bacterianas.
- 30 En una realización preferida, la sonicación se realiza con un sonicador que funciona con una energía de al menos 30 W, preferiblemente 40 W, lo más preferiblemente aproximadamente 50 W. Para lograr una lisis completa, las bacterias se pueden someter a sonicación varias veces, por ejemplo por al menos dos veces, preferiblemente tres veces. Las bacterias se enfrían preferiblemente durante la sonicación. Un dispositivo preferido para la sonicación es un SONOPLUS® HD UW2070, suministrado por Bandelin, Berlín).
- 35 En otra realización preferida de la invención, el Procedimiento usado para obtener el inductor comprende una etapa de eliminar los residuos bacterianos de las muestras lisadas, preferiblemente sometidas a sonicación. La etapa incluye preferiblemente una separación por centrifugación (por ejemplo, aproximadamente 20 minutos, a aproximadamente 4°C con aproximadamente 13000 x g).
- Incluso más preferiblemente, el sobrenadante de la etapa de separación anterior se dializa posteriormente con un corte de peso molecular de aproximadamente 2 a 10 kD, preferiblemente de 4 a 6 kD, frente a aproximadamente TRIS 20 mM, pH 8. El material dializado se usa preferiblemente para cargar en una columna de intercambio aniónico.
- 40 Una columna de intercambio aniónico preferida para usar en la presente invención es una columna de sepharose, por ejemplo, Q Sepharose, Fast Flow suministrada por GE Healthcare. Preferiblemente, la columna se equilibra previamente antes de su uso.
- Además, se prefiere que en el Procedimiento anterior el inductor se eluya a una concentración de sal de aproximadamente 20 a 35 %, lo más preferiblemente de aproximadamente 30 % de sal.
- 45 Todavía otra realización de la invención se refiere al inductor, en el que el Procedimiento comprende los pasos adicionales de volver a cargar el inductor en una columna de intercambio aniónico y eluir con un gradiente de sal del 0 al 30 % de sal.
- 50 En una realización, el eluato de la primera etapa de elución se dializa primero una segunda vez con un corte de peso molecular de aproximadamente 2 a 10 kD, preferiblemente de 4 a 6 kD, contra aproximadamente TRIS 20 mM, pH 8, y luego se vuelve a cargar en la columna de intercambio aniónico.
- En una realización adicional, el inductor se puede eluir de la segunda etapa de intercambio aniónico usando un gradiente de sal que varía de 0 a 30 % de sal, preferiblemente NaCl, TRIS 20 mM, pH 8.
- El inductor de acuerdo con la presente invención no contiene el factor de alargamiento MAMP conocido Tu (EF-Tu) y flagelina.

Además, se prefiere que el inductor como se describe en el presente documento induzca una respuesta inmune en una planta, por ejemplo, la liberación de etileno, a través de la activación de REMAX. Por lo tanto, el inductor de la presente invención que se puede obtener como se describe anteriormente es o contiene en una realización preferida un ligando de REMAX.

- 5 En un aspecto final de la presente invención, se proporciona un procedimiento para sensibilizar una planta contra infecciones por *Xanthomonas* de acuerdo con el conjunto de reivindicaciones adjuntas.

Se ha establecido en los últimos años que las plantas pueden ser sensibilizadas a infecciones patógenas. Después de un primer ataque del patógeno, se observó que, en una segunda penetración, dicha planta muestra una respuesta hipersensible en comparación con las plantas que no habían experimentado un ataque de patógeno antes. Este efecto se llama "cebado".

10 Por lo tanto, los PRR quiméricos, los procedimientos de modulación de la resistencia de una planta a infecciones por patógenos, los inductores o MAMP de la presente invención pueden usarse para tratar plantas, células vegetales o tejidos vegetales con el fin de cebar dicho sistema inmune de plantas.

15 Como se usa en el presente documento, el término "homólogo" u "homología" denota similitud estructural entre dos macromoléculas, particularmente entre dos polinucleótidos, independientemente de si dicha similitud se debe o no a una ascendencia compartida. Convencionalmente, la homología denota el nivel de identidad de secuencia medido en porcentaje. Las secuencias que son sustancialmente homólogas pueden identificarse comparando las secuencias usando un software estándar disponible en bancos de datos de secuencias, o en un experimento de hibridación Southern, por ejemplo, condiciones estrictas como se define para ese sistema en particular. La definición de condiciones de hibridación apropiadas está dentro de la habilidad de la técnica. Véase, por ejemplo, Sambrook et al., 1989, supra.

25 La regeneración, desarrollo y cultivo de plantas a partir de protoplastos de plantas individuales, transformantes o de diversos explantes transformados es bien conocida en la técnica (Weissbach and Weissbach, In: Methods for Plant Molecular Biology, Academic Press, San Diego, CA, (1988)). Este proceso de regeneración y crecimiento típicamente incluye los pasos de selección de células transformadas, cultivando esas células individualizadas a través de las etapas habituales de desarrollo embrionario a través de la etapa de plántulas enraizadas. Los embriones y semillas transgénicos se regeneran de manera similar. Los brotes enraizados transgénicos resultantes se plantan luego en un medio de crecimiento de plantas apropiado tal como suelo.

30 Las plantas derivadas de cualquier Procedimiento de la presente invención pueden usarse para la producción de semillas, frutos, tallos, raíces y hojas, u otros productos derivados de plantas.

La presente invención se describirá ahora adicionalmente en los siguientes ejemplos con referencia a las figuras y secuencias que se acompañan, sin limitarse sin embargo a las mismas. En las figuras y secuencias,

35 Figura 1: muestra la prueba de emax para la contaminación con flagelina y EF - Tu. Alcalinización extracelular en cultivos celulares de células de tipo salvaje de *A. thaliana*. a. Respuesta a flg22 y emax en presencia o ausencia del antagonista de flagelina flg22 - $\Delta 2$ b. Alcalinización en respuesta a la fracción emax hervida y no hervida.

Figura 2: muestra que las líneas rlp1 - 2 y rlp1 - 3 son insensibles a emax. Biosíntesis de etileno después de 4 horas de incubación: las líneas de inserción de T-ADN de RLP1, rlp1 - 2 y rlp1 - 3, no acumulan etileno después del tratamiento con emax (2 $\mu\text{g/ml}$), pero responden a la pluma (90 $\mu\text{g/ml}$). Las barras y las barras de error muestran medias y desviaciones estándar de tres réplicas.

40 Figura 3: muestra que emax induce etileno en el mutante de LRR - RLK At1g06840 y *Arabidopsis lyrata*. Biosíntesis de etileno después de 4 horas de incubación, a. En el ensayo de etileno, el mutante homocigoto de At1g06840 sigue siendo sensible al tratamiento con emax (2 $\mu\text{g/ml}$). b. emax desencadena la síntesis de etileno en *Arabidopsis lyrata*, perteneciente al mismo género que *Arabidopsis thaliana*. Como control, las plantas también se trataron con Pen (90 $\mu\text{g/ml}$). Las barras y las barras de error muestran medias y desviaciones estándar de tres réplicas.

45 Figura 4: muestra el modelo del gen REMAX (RLP1) y las inserciones de T-ADN. El ADN genómico de RLP1 comprende casi 5000 pares de bases. Se han propuesto tres modelos de genes diferentes que involucran dos posiciones de inicio diferentes para RLP1 (www.tair.org). Los tres modelos tienen múltiples sitios de empalme. Las líneas rlp1 - 2 y rlp1 - 3 tienen inserciones de ADN T en exones predichas como se indica. La secuenciación del ADN Col - 0 da como resultado un cuarto modelo de gen (REMAX) que comienza 129 pb aguas arriba del sitio de inicio propuesto para RLP1.1 y RLP1.3. El empalme múltiple predice un ARNm que codifica un polipéptido con 1077 aminoácidos que tiene un péptido de señalización (SP), 32 LRR (repeticiones ricas en leucina) con dominio de isla (ID), dominio de yuxtamembrana (J), dominio de transmembrana (T) y una cola citoplasmática intracelular corta (TC).

55 Figura 5: muestra la estructura primaria de REMAX y LeEix2. REMAX (a) y LeEix2 (Ron y Avni, 2004) (b) estructuras de proteínas predichas a partir de las secuencias de ADNc. El L conservado del LRRS, a menudo reemplazado por I, F, V o M, así como el N, G e IP conservados, alternativamente LP, FP o VP, están todos resaltados en gris. Los aminoácidos característicos con los pares C al principio y al final del dominio LRR están marcados en negro. Los sitios

de glucosilación putativos en el dominio extracelular con la secuencia consenso NxT/S están subrayados. ID: dominio de isla, JM: dominio de yuxtamembrana, TM: dominio transmembrana, CT: cola citoplasmática.

Figura 6: muestra construcciones REMAX. El ADN genómico y el ADNc con dos posiciones de inicio diferentes (inicio 0 y 1) se clonaron con y sin etiqueta C - terminal GFP - como se indica.

Figura 7: muestra la expresión de REMAX en protoplastos rlp1 - 2 que restaura la respuesta emax. Actividad de luciferasa en protoplastos de plantas rlp1 - 2 cotransformadas con diferentes construcciones REMAX y un plásmido que porta luciferasa bajo el control del promotor FRK1 (Asai et al., 2002). Los protoplastos se trataron con emax (5 µg/ml) o con el flg22 Atum inactivo (100 nM) como control en el momento 0. La inducción de la actividad de luciferasa se calculó con respecto a los valores en el tiempo 0. Los valores representan medias y desviaciones estándar de tres réplicas (a, d, e y f) o un representante de varios experimentos independientes (b).

Figura 8: muestra que la transformación de protoplastos de Shakhara con REMAX restaura la función emax. Los protoplastos del acceso Sha insensible a emax transformados con FRK1:: luc muestran solo una ligera actividad de luciferasa después del tratamiento con emax, mientras que la cotransformación con REMAX media la respuesta de emax. Los protoplastos se trataron con emax (5 µg/ml) o con el flg22 Atum inactivo (100 nM) y se calculó la inducción de la actividad de luciferasa en pliegues con respecto a los valores en el tiempo 0. Los valores muestran medias y desviaciones estándar de tres réplicas.

Figura 9: muestra las quimeras de REMAX y LeEix2. Las quimeras de REMAX y LeEix2 fueron creadas y probadas para la función y expresión en *N. benthamiana*. a. Las caricaturas muestran esquemáticamente las diferentes construcciones, b. La expresión de las quimeras en *N. benthamiana* se muestra mediante microscopía de fluorescencia (barra de escala de 50 µm) y c. Mediante inmunoprecipitación Western usando anti-GFP. c. La respuesta de etileno de *N. benthamiana* que expresa los diferentes constructos inducidos con Pen (90 µg/ml) como control positivo, emax (2 µg/ml) y xilanasa (2 µg/ml) se muestra después de 4 horas de incubación.

SEQ ID NO. 1 muestra la secuencia de aminoácidos de REMAX

SEQ ID NO. 2 muestra la secuencia de ácido nucleico genómico de REMAX

SEQ ID NO. 3 muestra la secuencia de aminoácidos de LeEix2

SEQ ID NO. 4 muestra la secuencia de ácido nucleico de LeEix2.

Ejemplos

Ejemplo 1: *Arabidopsis thaliana* reconoce una nueva MAMP derivada de *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri*

Los extractos parcialmente purificados de *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* y otras especies de *Xanthomonas* inducen respuestas MAMP en *Arabidopsis*. Estos extractos contienen un MAMP, llamado emax para MAMP enigmático de *Xanthomonas*, el cual es diferente de la flagelina MAMP conocida, EF-Tu o peptidoglucano que son reconocidos de *A. thaliana* y dominantes en los extractos purificados parciales, emax puede solubilizarse de diferentes especies de *Xanthomonas* por sonicación de la bacteria. La proteína activa se une al medio de intercambio aniónico y puede eluirse a bajas concentraciones de sal (Q SepharoseQFast Flow, pH 8.0):

Xanthomonas axonopodis pv. *citri* se cultivó en placas Kings B (agar al 1,5 %) durante 48 horas a 30°C. Las bacterias se cosecharon con una espátula y se agregaron 2 volúmenes de H₂O. Para romper la envoltura bacteriana, alícuotas de 30 ml de la suspensión bacteriana se enfriaron en hielo y se sometieron a sonicación tres veces durante dos minutos (50 W, SONOPULS HD UW2070, Bandelin, Berlín.). Los residuos bacterianos insolubles se eliminaron por centrifugación (20 min, 4°C, 13000 x g). El sobrenadante se dializó ampliamente (corte de peso molecular: 4-6 kDa, Roth, Karlsruhe) contra Tris 20 mM, pH 8,0 y se cargó en una columna de intercambio de aniones preequilibrada (Q Sepharose, Fast Flow, GE Healthcare, München). Emax se eluyó con NaCl al 30 % (1 M, Tris 250 mM, pH 8,0) y después de la diálisis (Tris 20 mM, pH 8,0, corte de peso molecular: 4-6 kDa, Roth, Karlsruhe) se recargó en la columna Q-Sepharose. La elución de las proteínas se realizó con un gradiente de NaCl (NaCl 0-30 %, Tris 20 mM, pH 8,0) y se probó la actividad en el fls2 x efr doble mutante (biosíntesis de etileno o alcalinización extracelular).

Mientras que para la caracterización inicial de la actividad de la interferencia de *Xanthomonas* por la flagelina MAMP y EF - Tu se excluyó mediante el uso de mutantes dobles fls2 x efr, el trabajo adicional con plantas de tipo silvestre se basa en la ausencia de tales MAMP que podrían interferir en los ensayos. Las fracciones activas que se eluyeron de las columnas de intercambio aniónico se agruparon y se probaron para detectar contaminación por los conocidos MAMP bacterianos EF - Tu y flagelina, que son potentes inductores de la alcalinización extracelular de cultivos celulares también. Flg22 - Δ2, una versión terminalmente truncada en C de flg22, se ha descrito como un antagonista específico para flg22 en *A. thaliana* (Bauer et al., 2001). En cultivos celulares derivados de plantas de tipo silvestre, una preincubación (2 min) con el antagonista flg22 - Δ2 puede bloquear completamente la respuesta de las células al tratamiento posterior con flg22 (Figura 1a). Por el contrario, el pretratamiento con flg22 - Δ2 no tuvo efecto en la respuesta observada con las fracciones que contienen emax, lo que indica que la flagelina no es responsable de la respuesta observada con estas fracciones. Para verificar la presencia de EF - Tu, una actividad MAMP resistente al

tratamiento térmico (Kunze et al., 2004), los inventores utilizaron la capacidad térmica de emax como característica distintiva. De hecho, el tratamiento térmico de la preparación de emax anuló toda su actividad MAMP (Figura 1b). Juntos, estos resultados muestran que la preparación de emax no contenía niveles detectables de flagelina o EF - Tu que pudieran interferir con los ensayos.

5 Ejemplo 2: Los mutantes de RLP1 eran insensibles a emax

El mapeo con el acceso insensible a emax Shakhdera dio como resultado un único locus en el cromosoma 1. La proteína 1 similar a un receptor (RLP1, Atlg07390) se encuentra en esta región y dos líneas de inserción de ADN-T independientes, rlp1-2 (SALK_116923) y rlp1-3 (SALK_049403C), fueron insensibles a emax. La capacidad de respuesta se probó con el aumento de etileno y la inducción del gen FRK1 (FLG22-INDUCED-RECEPTOR-LIKE KINASE1, At2g19190).

La búsqueda de homólogos de RLP1 con el programa blastp (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) reveló homólogos claros de RLP1 con >80 % de identidad de secuencia solo en Arabidopsis lyrata y Brassica rapa. Ambas especies fueron de hecho sensibles al tratamiento con emax (Figura 3). En resumen, la estrecha vinculación entre la aparición de RLP1 y la respuesta a emax hace que RLP1 sea un candidato probable para actuar como "Receptor de emax" (REMAX).

15 Ejemplo 3: La estructura primaria de REMAX comprende 32 LRR

Para el gen Atlg07390 que codifica REMAX/RLP1, se han predicho tres modelos de genes con dos posiciones iniciales diferentes (www.tair.de, Figura 4). Ambos sitios de inicio no codifican proteínas con un péptido de señalización claro para la exportación (Hoeglund, A, Doennes, P, Blum, T, Adolph, H W and Kohlbacher, O (2006). Sin embargo, el marco de lectura abierto con el primer sitio de inicio se extiende hasta el extremo 5' y contiene un codón ATG de 129 pb más arriba. Cuando se traduce desde este sitio, se predice que la proteína contiene un péptido de señalización de 38 aminoácidos para la vía secretora (puntuación de 0,96 en el programa MultiLoc). Los inventores probaron esta versión prolongada amplificando el ADNc producido a partir de ARN de plantas Col-0 con un cebador que abarca este sitio de inicio aguas arriba. Este ADNc existe y predice un gen con 9 exones que codifica una proteína REMAX con 1077 aminoácidos (Figura 4). Según este modelo, la proteína REMAX madura tiene un gran dominio extracelular que consiste principalmente en 32 LRR (Figura 5). El dominio LRR está interrumpido por un dominio insular (68 aa) entre LRR 28 y LRR 29. Como se conserva en muchos otros dominios LRR, está flanqueado en ambos lados por pares característicos de residuos de cisteína (Li and Chory, 1997). Mientras que muchos de los 32 LRR en la parte N-terminal muestran desviaciones considerables, los últimos cuatro LRR, LRR 28 - 32, siguen muy de cerca la secuencia de consenso LxxLxxLxxLxxLxxNxLxGxIPxx (Jones et al., 1994). El dominio extracelular de REMAX codifica 18 sitios potenciales de N-glucosilación (NxS/T). Entre el dominio LRR y el dominio transmembrana de 23 aminoácidos de largo, hay un dominio yuxtmembrana que consiste en residuos de aminoácidos ácidos. La proteína C- terminalmente, tiene una cola citoplasmática corta que consta de 29 residuos de aminoácidos (Figura 5a). En general, la estructura es similar al tomate RLP LeEix2 que reconoce la xilanasa fúngica (Figura 5b) (Ron and Avni, 2004).

35 Ejemplo 4: La expresión de REMAX en protoplastos de plantas rlp1 - 2 restaura la respuesta a emax

Para confirmar el papel de REMAX, se realizaron experimentos de complementación con construcciones REMAX en mutantes rlp1 - 2 (Figura 6). Las construcciones REMAX basadas en ADN genómico o ADNc de Col-0 se transformaron conjuntamente con un plásmido que codifica la luciferasa bajo el control del promotor FRK1 inducible por MAMP (Asai et al., 2002) y podrían restaurar la capacidad de respuesta de emax. Estos resultados demuestran que REMAX es realmente necesario para la percepción de emax (Figura 7).

Además, para probar la funcionalidad de REMAX en la accesión Shakhdera, la cual mostró una delección en la región de RLP1, los protoplastos derivados de Shakhdera se transformaron conjuntamente con FRK1::luc y REMAX y se analizaron para determinar la actividad de luciferasa en respuesta a emax. Este experimento mostró claramente la complementación de la respuesta emax por transformación de REMAX (Figura 8).

45 Ejemplo 5: Receptores de reconocimiento de patrones quiméricos derivados de REMAX

La alineación de las dos RLP REMAX y LeEix2 muestra una estructura general similar de ambas proteínas. La expresión heteróloga de LeEix2 en una especie de tabaco que no tiene percepción endógena proporcionó evidencia convincente de la función de LeEix2 como receptor de la xilanasa (Ron and Avni, 2004). Sus grandes dominios LRR están subdivididos por dominios insulares insertados antes de los últimos cuatro de los LRR. La homología de secuencia entre REMAX y LeEix2 es la más alta para estos cuatro LRR y comprende el par de cisteína al final del dominio LRR. Sus colas citoplasmáticas muestran poca semejanza en longitud o secuencia.

Para determinar si es la parte C-terminal de estas RLPs la que determina la funcionalidad en formas quiméricas de N. benthamiana con intercambios de sus partes C-terminales, se produjeron como se resume en la Figura 9a. El análisis de las construcciones expresadas en hojas de N. benthamiana se muestra en la Figura 9c. El intercambio del dominio transmembrana (TM) y la cola citoplasmática (CT) de REMAX a LeEix2, como en E - TR, hizo que LeEix2 no funcionara como xilanasa en células de N. benthamiana. Por el contrario, N. benthamiana con la construcción del receptor recíproco R - TE ganó sensibilidad a emax. La parte de proteína intercambiada entre las RLP se expandió para incluir

también los 40 residuos de aminoácidos del dominio de yuxtamembrana (JM). Curiosamente, cuando R - JE se expresó en *N. benthamiana*, se pudo detectar una respuesta clara y significativa a *emax* (Figura 9c). E - JR, a su vez, no era un receptor funcional de xilanasa en *N. benthamiana*. En resumen, la parte C-terminal con el dominio yuxtamembrana parece importante para la funcionalidad de las RLP en general y, más notablemente, determina la funcionalidad de estos receptores en diferentes especies de plantas.

Listado de secuencias

<110> Eberhard Karls Universität Tübingen

<120> Novedoso receptor de reconocimiento de patrones en plantas y quimeras de las mismas para su uso contra infecciones bacterianas

<130> U30433PCT

<150> GB1210484.0

<151> 2012 06 13

<160> 4

<170> Patente de versión 3.5

<210> 1

<211> 1077

<212> PRT

<213> *Arabidopsis thaliana*

<400> 1

ES 2 773 916 T3

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

ES 2 773 916 T3

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

ES 2 773 916 T3

Leu Phe Asn Ser Leu Val Asn Gln Thr Arg Leu Thr Val Phe Lys Leu
 420 425 430
 Ser Ser Lys Val Gly Val Ile Gln Val Gln Thr Glu Ser Ser Trp Ala
 435 440 445
 Pro Leu Phe Gln Leu Lys Met Leu Tyr Leu Ser Asn Cys Ser Leu Gly
 450 455 460
 Ser Thr Met Leu Gly Phe Leu Val His Gln Arg Asp Leu Cys Phe Val
 465 470 475 480
 Asp Leu Ser His Asn Lys Leu Thr Gly Thr Phe Pro Thr Trp Leu Val
 485 490 495
 Lys Asn Asn Thr Arg Leu Gln Thr Ile Leu Leu Ser Gly Asn Ser Leu
 500 505 510
 Thr Lys Leu Gln Leu Pro Ile Leu Val His Gly Leu Gln Val Leu Asp
 515 520 525
 Ile Ser Ser Asn Met Ile Tyr Asp Ser Ile Gln Glu Asp Ile Gly Met
 530 535 540
 Val Phe Pro Asn Leu Arg Phe Met Asn Phe Ser Ser Asn His Phe Gln
 545 550 555 560
 Gly Thr Ile Pro Ser Ser Ile Gly Glu Met Lys Ser Leu Gln Val Leu
 565 570 575
 Asp Met Ser Ser Asn Gly Leu Tyr Gly Gln Leu Pro Ile Met Phe Leu
 580 585 590
 Ser Gly Cys Tyr Ser Leu Arg Val Leu Lys Leu Ser Asn Asn Gln Leu
 595 600 605
 Gln Gly Lys Ile Phe Ser Lys His Ala Asn Leu Thr Gly Leu Val Gly
 610 615 620
 Leu Phe Leu Asp Gly Asn Asn Phe Thr Gly Ser Leu Glu Glu Gly Leu
 625 630 635 640
 Leu Lys Ser Lys Asn Leu Thr Leu Leu Asp Ile Ser Asp Asn Arg Phe
 645 650 655
 Ser Gly Met Leu Pro Leu Trp Ile Gly Arg Ile Ser Arg Leu Ser Tyr
 660 665 670

ES 2 773 916 T3

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

ES 2 773 916 T3

915

920

925

Glu Ser Leu Asp Leu Ser Asn Asn Lys Leu Asp Gly Ser Ile Pro Pro
930 935 940

Ala Leu Ala Asp Leu Asn Ser Leu Gly Tyr Leu Asn Ile Ser Tyr Asn
945 950 955 960

Asn Leu Ser Gly Glu Ile Pro Phe Lys Gly His Leu Val Thr Phe Asp
965 970 975

Glu Arg Ser Tyr Ile Gly Asn Ala His Leu Cys Gly Leu Pro Thr Asn
980 985 990

Lys Asn Cys Ile Ser Gln Arg Val Pro Glu Pro Pro Ser Val Ser Thr
995 1000 1005

His Ala Lys Glu Glu Glu Asn Glu Glu Glu Gly Asn Val Ile Asp
1010 1015 1020

Met Val Trp Phe Tyr Trp Thr Cys Ala Ala Val Tyr Ile Ser Thr
1025 1030 1035

Ser Leu Ala Leu Phe Ala Phe Leu Tyr Ile Asp Ser Arg Trp Ser
1040 1045 1050

Arg Glu Trp Phe Tyr Arg Val Asp Leu Cys Val His His Ile Leu
1055 1060 1065

Gln Phe Lys Arg Ser Ser Val Cys Asn
1070 1075

<210> 2

<211> 4891

<212> ADN

5 <213> Arabidopsis thaliana

<400> 2

ES 2 773 916 T3

atgagaacag acgagagaag aaggtggtgg gttaaaccga agaagcatat aactttggtg	60
ttcataacaa taacaatgat aattcaattc caaatgaaag gatgtgtaag ctgtgtggaa	120
actgaacgga tgggtttggt gcagctcaag tcgtatctca agaatctcgt tgatgccgaa	180
gaagaagaag aagaaggact tagtattctc aagtcatgga ctcatcatga aggtgattgt	240
tgccgttggg agagagtaaa gtgtagtgat gctattaatg gccacgtcat cggctctctca	300
ctggatagac tcgtaccggt cgcatttgag tcgcaaaactc ggtctttaaa tctgtctttg	360
cttcatagtt ttcctcaact ccaaagcctt aatctttcgt ggaattgggt cactaatttg	420

ES 2 773 916 T3

tctgatcact	tccttgggtac	gtctctcttaa	ccgaacattt	ctcaattttc	ccactaatta	480
atgtctggat	accaacaaca	agaaatagcg	gttcaggttt	aaaccggttt	taaccaaaata	540
caaacaacct	cacgaaaatc	tcttccaacg	gcaacaatag	aaacagagtc	cttttaccgt	600
atggttttgt	ctctaagatc	agccatagct	gatttatcga	ataagaatgt	gtataaagtt	660
caatataaga	tcttgatgat	tgtgtgaaat	aagggtaggg	cgcgtgagtt	tgattctgta	720
atttggtata	ttacatagtg	cacataaagt	gttcgacagt	ttgtttgaaa	gagaattttta	780
gttttttttt	ttcccttgca	tttttgtttt	caggttttta	gagctttggg	acactagata	840
agctcactac	cttagatttc	toccataata	tgttcgacaa	cagtatcgtc	ccgtttttta	900
atgctgcgac	atcgattagg	agtctacatc	ttgagtctaa	ttacatggaa	ggtgtctttc	960
ctcctcaagg	ttatgtattt	cttctatatg	tttggttctc	tttttgacat	ttttgtatat	1020
aattcaattg	gagatggatt	ttgacggctt	cttggttctg	tgtggcagaa	ctttcaaaca	1080
tgacaaaact	gagagtgtta	aacttgaagg	acaacagttt	cagcttctta	tcttctcaag	1140
gtaaaatatg	tcaacaaaacc	tttatatagt	ttgttggttc	caaaagaaaa	gagagaacta	1200
aagaattgat	gtcagatgac	tgactaagtg	tgacattgag	atgcaggttt	aacagatttc	1260
agagatttgg	aagtactgga	tctcagtttc	aatgggtgtca	atgactctga	ggctagtcac	1320
agtgagtggc	tgcttttttt	tgttttgttt	tatggaagtg	cttaacctctg	ctgacttata	1380
acatcactta	tgaatgtgtt	tcttggtggt	gcaggtttaa	gtacggcgaa	actgaaaaca	1440
ctagatctta	atttcaatcc	gttggtcagat	ttttctcaac	ttaaaggtag	acagagagta	1500
ccaggggatt	tacatacatg	atctttatcc	atttctgtca	actttccaat	tataacttgt	1560
gttttcccg	atcttcaggt	ttagaaagcc	tccaagagtt	acaagtcttg	aaattacgag	1620
gaaataaatt	caaccacacg	ctatctactc	atggtaagtg	ttataaaact	gttcttgcag	1680
aagtgactta	tggcttaaag	aaggcaatca	aatgtattct	gggtttttct	cctaagaatg	1740
tttattttgc	ctggcagtac	tgaaagatct	taaaatgttg	caagaactgg	atctcagtga	1800
caatgggttc	acaaatttag	atcatggccg	aggtaagaca	tatatagaaa	gtaaaacttg	1860
cttgctctat	cctaactggt	ttaatctatc	tactttaact	ttttttcata	gacgttgatg	1920
agagtagaag	tgagaagaga	tttgatttta	gagaagttgt	tcagaaagtc	gaggtcagaa	1980
attaaaagtt	cagcaagcaa	ctatgaagcc	tagttttcct	gggtatcttc	tatagctatt	2040
gtagaccctc	tggataggat	tgcgtctaag	tttcagatg	agcataacac	accacaagtc	2100
agttactgtg	ggaggggtta	aagagactag	aatcagatta	tgataaaata	attctggata	2160
ttgtttggtt	tgggttaggt	ttttgtggtc	aataattgag	aataatttcg	ttgaatcaat	2220
gtctcattgg	tgtgttacat	ttgggttggt	gaatatagaa	cggtttcctg	ggttgcttaa	2280
cagtcactta	catgcttatt	agaagtggag	catgcaaadc	tttatctatt	tatgtatcct	2340

ES 2 773 916 T3

tatgttcttt	caactgcagg	tttagagatt	cctacatctt	tacaagtatt	ggatttcaaa	2400
agaaatcaat	tgtctttgac	ccacgaaggt	gaatattaca	ataattttat	ctttcttatc	2460
ttatgcattt	tttggcttaa	acagaagagt	cacactttgg	tcacctcct	aactgaattt	2520
atacatagat	agattgtgag	aacagaagaa	cttaatgagt	tacatggcta	tgaagtctaa	2580
ttagttcata	tgatgatgga	gttgggtgaat	atcttgttat	tactctcttt	taaagatgaa	2640
gttgatgatt	attctgattt	cttacctct	tatttgatta	atttcaggct	atttagggat	2700
ttgcagacta	atgaaactca	gggagctgga	tttgagcagc	aatgctttaa	caagtctacc	2760
ttattgtttg	ggtaacttaa	cgcactctcg	aactcttgat	ctatcgaaca	accaattgaa	2820
tggaaacctg	tcttcctttg	tgtctggtct	accatcagtg	cttgagtact	tgtcgctgct	2880
tgataataac	ttcgacggtt	cgttcttggt	caactcactg	gtcaatcaaa	caagactcac	2940
agtattcaaa	ttgtcatcaa	aagttggtgt	gatccaagtt	cagactgaga	gttcatgggc	3000
tccattgttt	caattgaaga	tggtatatatt	atcgaattgc	agtcttggca	gcacaatgct	3060
cggctttctc	gtgcatcagc	gtgacttggt	cttcggtgat	ctctctcata	acaagttgac	3120
aggaacattc	ccgacttggc	ttgtgaagaa	taacacaagg	ctgcagacta	tttactaag	3180
tgggaactca	ttgacaaagc	ttcaactacc	tattcttggt	catggcttgc	aagttctcga	3240
tatctcgagt	aatatgatat	atgattcgat	tcaagaggac	atagggatgg	tgtttccaaa	3300
cctgaggttt	atgaactttt	cttcaaatac	ttttcaagga	actataccat	cttcgattgg	3360
ggagatgaaa	agcctacaag	tcttggacat	gtcttctaata	ggtctatatg	ggcagctacc	3420
tattatgttt	ttaagtgggt	gctactcgct	aagggttctg	aagctctcca	acaatcaatt	3480
acaggggaaa	atattttcga	agcatgcaaa	tcttactgggt	ttagttgggc	tttttcttga	3540
tggcaacaat	tttactggga	gtcttgaaga	gggtttattg	aagtcaaaga	atcttactct	3600
tttagacata	tcagataata	ggttttcggg	catgcttcca	ctttggattg	gtaggatatc	3660
aaggctttcc	tacctatata	tgagtggtaa	tcagctaaaa	ggtcctttcc	cttttctacg	3720
acagagtcct	tgggttgagg	ttatggacat	ctcacacaat	agcttctctg	gttcgatacc	3780
aaggaatgtg	aattttccat	ctctcagaga	actaagacta	caaaacaatg	agtttacggg	3840
tttagttccg	ggaaatttat	tcaaggctgc	gggattagaa	gtgcttgatt	tgcggaacaa	3900
caatttttct	ggaaagatac	tgaacactat	tgaccagaca	tctaagttac	gtattcttct	3960
tctacggaat	aacagctttc	aaacttatat	ccctgggaaa	atatgtcagc	taagtgaagt	4020
tggctctgta	gacttgtctc	acaatcaatt	cagaggcccc	ataccatcat	gtttcagtaa	4080
aatgtctttt	ggtgcagagc	agaatgaccg	taccatgtca	cttggtgcag	attttgactt	4140
ctcatacat	acattcttgc	cacattgtca	atatggatca	catcttaact	tggatgatgg	4200

ES 2 773 916 T3

tgtcaggaat ggttatcaac caaaaccagc aaccgtagtg gatttttttaa cgaaaagcag	4260
atatgaggcg tatcaagggtg atattctccg ctatatgcat ggtctggatt tgtcgagcaa	4320
cgaactatcg ggtgaaattc caatcgagat tggagatctt cagaatatca ggtccctgaa	4380
tttgtcaagt aaccgcctca caggctccat accagatagc atttcaaagc tgaagggtt	4440
agagagtctt gatctatcca acaataagct agatggaagt atccctcctg cgctagccga	4500
tctcaacagt ttaggatact tgaatatctc atataacaat ttatcagggtg aaatcccttt	4560
caaaggccat cttgttacct ttgacgagag gagttacata ggcaacgctc atctctgtgg	4620
acttctaca aataaaaatt gcatctccca gagagtcctt gagccaccaa gtgtgtcaac	4680
gcatgccaaa gaggaagaaa atgaagaaga aggtaatgtg atagacatgg tgtggtttta	4740
ctggacttgt gctgcagtct acatatctac atccttggca ttgtttgctt tcctctacat	4800
agactcacga tgggtcccgag aatggtttta tcgtgtagat ctatgcgttc atcatattct	4860
acagttcaag cgttcctcag tctgcaactg a	4891

<210> 3

<211> 1021

<212> PRT

5 <213> Solanum lycopersicum

<400> 3

ES 2 773 916 T3

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

ES 2 773 916 T3

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

ES 2 773 916 T3

Arg Val Gly Gln Val Ser Ser Leu Glu Tyr Leu Asp Leu Ser Asp Asn
385 390 395 400

Gln Met Arg Gly Pro Leu Pro Asp Leu Ala Leu Phe Pro Ser Leu Arg
405 410 415

Glu Leu His Leu Gly Ser Asn Gln Phe Gln Gly Arg Ile Pro Gln Gly
420 425 430

Ile Gly Lys Leu Ser Gln Leu Arg Ile Phe Asp Val Ser Ser Asn Arg
435 440 445

Leu Glu Gly Leu Pro Glu Ser Met Gly Gln Leu Ser Asn Leu Glu Arg
450 455 460

Phe Asp Ala Ser Tyr Asn Val Leu Lys Gly Thr Ile Thr Glu Ser His
465 470 475 480

Phe Ser Asn Leu Ser Ser Leu Val Asp Leu Asp Leu Ser Phe Asn Leu
485 490 495

Leu Ser Leu Asn Thr Arg Phe Asp Trp Val Pro Pro Phe Gln Leu Gln
500 505 510

Phe Ile Arg Leu Pro Ser Cys Asn Met Gly Pro Ser Phe Pro Lys Trp
515 520 525

Leu Gln Thr Gln Asn Asn Tyr Thr Leu Leu Asp Ile Ser Leu Ala Asn
530 535 540

Ile Ser Asp Met Leu Pro Ser Trp Phe Ser Asn Leu Pro Pro Glu Leu
545 550 555 560

Lys Ile Leu Asn Leu Ser Asn Asn His Ile Ser Gly Arg Val Ser Glu
565 570 575

Phe Ile Val Ser Lys Gln Asp Tyr Met Ile Ile Asp Leu Ser Ser Asn
580 585 590

Asn Phe Ser Gly His Leu Pro Leu Val Pro Ala Asn Ile Gln Ile Phe
595 600 605

Tyr Leu His Lys Asn His Phe Ser Gly Ser Ile Ser Ser Ile Cys Arg
610 615 620

Asn Thr Ile Gly Ala Ala Thr Ser Ile Asp Leu Ser Arg Asn Gln Phe

ES 2 773 916 T3

625					630						635				640
Ser	Gly	Glu	Val	Pro	Asp	Cys	Trp	Met	Asn	Met	Ser	Asn	Leu	Ala	Val
				645					650					655	
Leu	Asn	Leu	Ala	Tyr	Asn	Asn	Phe	Ser	Gly	Lys	Val	Pro	Gln	Ser	Leu
			660					665					670		
Gly	Ser	Leu	Thr	Asn	Leu	Glu	Ala	Leu	Tyr	Ile	Arg	Gln	Asn	Ser	Phe
		675					680					685			
Arg	Gly	Met	Leu	Pro	Ser	Phe	Ser	Gln	Cys	Gln	Leu	Leu	Gln	Ile	Leu
	690					695					700				
Asp	Ile	Gly	Gly	Asn	Lys	Leu	Thr	Gly	Arg	Ile	Pro	Ala	Trp	Ile	Gly
705					710					715					720
Thr	Asp	Leu	Leu	Gln	Leu	Arg	Ile	Leu	Ser	Leu	Arg	Ser	Asn	Lys	Phe
				725					730					735	
Asp	Gly	Ser	Ile	Pro	Ser	Leu	Ile	Cys	Gln	Leu	Gln	Phe	Leu	Gln	Ile
			740					745					750		
Leu	Asp	Leu	Ser	Glu	Asn	Gly	Leu	Ser	Gly	Lys	Ile	Pro	Gln	Cys	Leu
	755						760					765			
Asn	Asn	Phe	Thr	Ile	Leu	Arg	Gln	Glu	Asn	Gly	Ser	Gly	Glu	Ser	Met
	770					775					780				
Asp	Phe	Lys	Val	Arg	Tyr	Asp	Tyr	Ile	Pro	Gly	Ser	Tyr	Leu	Tyr	Ile
785					790					795					800
Gly	Asp	Leu	Leu	Ile	Gln	Trp	Lys	Asn	Gln	Glu	Ser	Glu	Tyr	Lys	Asn
				805					810					815	
Ala	Leu	Leu	Tyr	Leu	Lys	Ile	Ile	Asp	Leu	Ser	Ser	Asn	Lys	Leu	Val
			820					825					830		
Gly	Gly	Ile	Pro	Lys	Glu	Ile	Ala	Glu	Met	Arg	Gly	Leu	Arg	Ser	Leu
		835					840					845			
Asn	Leu	Ser	Arg	Asn	Asp	Leu	Asn	Gly	Thr	Val	Val	Glu	Gly	Ile	Gly
	850					855					860				
Gln	Met	Lys	Leu	Leu	Glu	Ser	Leu	Asp	Leu	Ser	Arg	Asn	Gln	Leu	Ser
865					870					875					880

ES 2 773 916 T3

Gly Met Ile Pro Gln Gly Leu Ser Asn Leu Thr Phe Leu Ser Val Leu
885 890 895

Asp Leu Ser Asn Asn His Leu Ser Gly Arg Ile Pro Ser Ser Thr Gln
900 905 910

Leu Gln Ser Phe Asp Arg Ser Ser Tyr Ser Gly Asn Ala Gln Leu Cys
915 920 925

Gly Pro Pro Leu Glu Glu Cys Pro Gly Tyr Ala Pro Pro Ile Asp Arg
930 935 940

Gly Ser Asn Thr Asn Pro Gln Glu His Asp Asp Asp Asp Glu Phe Ser
945 950 955 960

Ser Leu Glu Phe Tyr Val Ser Met Val Leu Gly Phe Phe Val Thr Phe
965 970 975

Trp Gly Ile Leu Gly Cys Leu Ile Val Asn Arg Ser Trp Arg Asn Ala
980 985 990

Tyr Phe Thr Phe Leu Thr Asp Met Lys Ser Trp Leu His Met Thr Ser
995 1000 1005

Arg Val Cys Phe Ala Arg Leu Lys Gly Lys Leu Arg Asn
1010 1015 1020

<210> 4

<211> 3066

<212> ADN

5 <213> Solanum lycopersicum

<400> 4

ES 2 773 916 T3

atgggcaaaa gaactaatcc aagacatttc cttgttactt ggtctttact gctcctagag	60
acagcttttg gattaacttc aagagaagtt aacaagacc tttgtataga aaaggagaga	120
ggtgcccttc ttgagtttaa aagaggcctt aacgacgatt ttggtcgttt atctacctgg	180
ggtgatgaag aagaatgctg caattggaag ggtattgaat gtgacaaaag aacaggcat	240
gttattgttc ttgatctcca cagtgaggtt acttgctccag gccatgcttg ttttgcctca	300
atattgacag gtaaagttag tccttctcta cttgagttgg agtatttgaa tttcttgac	360
ctcagtggtta atggatttga aaatagtgag ataccaagat tcataggctc ccttaagaga	420
ctggagtact taaacctttc atcttctgat ttttctggtg aaattccagc acagttccag	480
aatctaactt ctttgaggat tcttgatctc ggaaacaata atcttatagt aaaggacctt	540
gtgtggcttt ctcatctctc ctctctagaa ttcttgcgcc ttggtggtaa cgatttccaa	600
gcaagaaact ggtttcgaga gataactaag gtcccttcat tgaaagaatt ggacttgagt	660

ES 2 773 916 T3

gtttgtggac tctctaaatt cggtccgtct ccagctgatg tagctaattc atctttgatc	720
tctctttctg ttcttcattt atgttgtaat gagttttcta cttcatctga atatagctgg	780
ttattcaatt ttagcacaag cctaactagc atagacctt ctcataatca actcagtcgt	840
caaattgatg atcgctttgg gagcttgatg tatcttgaac atcttaatct tgctaataat	900
tttggggctg aaggtggggt tccaagttct tttgggaatt tgacacgtct acattatctg	960
gacatgtcta acactcagac ataccaatgg ctctctgagt tgtttctcag gttatcaggt	1020
agtaggaaat cacttgaggt tttgggattg aacgacaact cgttgtttgg ttcaattgtt	1080
aatgtgccaa gatcttcac cttgaagaaa ttatacctgc agaagaatat gctgaatggt	1140
tttttcatgg aaagagtggg acaagtttct agcctcgagt atctagactt gtctgataac	1200
caaatgagag ggccattacc agatttagca ctttttccat cattaagaga gttgcatctt	1260
ggctctaatac aatttcaagg gaggatacca caaggtattg gaaaactttc acagcttaga	1320
atTTTTgacg tctcgtccaa tagattagag ggtttaccag aaagtatggg gcaactatca	1380
aacctgaaa ggtttgatgc ttcttataat gtcctgaagg gtacaatcac agagtccac	1440
ttttcaaacc tctccagttt agtagactta gacctatcct tcaacttggt gtctttgaac	1500
acgagattcg attgggttcc tctttttcaa ctacaattta taaggcttcc atcttgcaat	1560
atgggacctt cttttccgaa atggctacaa actcagaata actacactct tcttgatatt	1620
tctcttgca atatatcaga catgctacca agttggttct ccaatcttcc tcccagctc	1680
aagattctga atctctctaa caaccacatc agtggcagag tttcggaggt catagtgagt	1740
aaacaagatt acatgattat agatttaagt tctaacaact tttcaggaca tttgccacta	1800
gttctgcca atatacagat cttttacctt cataaaaatc acttctctgg atccatttct	1860
tccatttgta gaaatacaat aggagctgcc acttccatcg acttgtcacg caaccaattt	1920
tcaggagaag ttcttgattg ttggatgaat atgagtaatc tagctgttct aaatctagcc	1980
tacaacaatt tctccgaaa agttccacaa tcattaggct ccttgacaaa tttggaggcg	2040
ttatacatc gtcagaacag ctttagagga atgttgccctt ctttttcaca atgtcagctg	2100
ctgcaaactt tggatattgg agggaataag ttgactggaa gaatcccagc atggataggg	2160
actgacctac tccaattgag cattctaagc ctacgttcca acaaattoga tggcagcatt	2220
ccatcactta tctgccagct tcaatttctt cagatactgg acctttcaga aaatggatta	2280
tctgggaaaa ttccacagtg cctcaacaac tttaccatat tgcgtcaaga aaatggctct	2340
ggtgagtcaa tggattttta agtccgttat gactatattc caggatctta cttgtacata	2400
ggtgatttac tgattcaatg gaaaaaccag gagtccgagt acaagaatgc tttactatat	2460
ctgaagatca ttgatctttc aagtaataaa ttagttggag gtatccctaa agagatagct	2520

ES 2 773 916 T3

gaaatgagag gattgagatc attgaacctc tcgagaaatg atcttaatgg aactgtcgtt	2580
gaaggaatag gtcaaatgaa gttgttggag tccctcgact tgtcaagaaa ccaactctct	2640
ggcatgatcc ctcagggcct ttctaacttg acttttctta gtgtgttgga cttatcgaac	2700
aaccacttat caggaagaat tccatcaagc actcaactgc agagtttcga tagatcatcc	2760
tatagtggca atgctcaact ctgcggtcct cctcttgaag agtgcctgg atatgctccc	2820
cctatcgatc gtggaagcaa caccaatcca caagaacatg atgatgatga tgagttctca	2880
tctctggagt tttatgtatc aatggtgcta ggtttcttcg tcacgttctg gggaatttta	2940
ggctgtttga ttgtcaaccg ttcgtggagg aatgcctact tcacattctt aacagacatg	3000
aagagttggc tccatgatgac atcaagagtc tgctttgcaa gactgaaggg aaagctaagg	3060
aactga	3066

REIVINDICACIONES

1. Un receptor de reconocimiento de patrones quiméricos (PRR) para reconocer patrones moleculares asociados a patógenos de plantas, que comprende al menos un ectodominio que tiene una secuencia que es al menos 80 % idéntica al ectodominio de la proteína mostrada en la SEQ ID No. 1, un dominio yuxtamembrana, un dominio transmembrana y un dominio citoplasmático, **caracterizado porque** el ectodominio y al menos uno de los otros dominios se derivan de PRR diferentes.
2. El PRR quimérico de acuerdo con la reivindicación 1, en el que los diferentes PRR son de diferentes especies de plantas.
3. El PRR quimérico de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en el que el dominio yuxtamembrana, el dominio transmembrana y/o el dominio citoplasmático se derivan de PRR seleccionados de quinasas similares a receptores repetidos ricos en leucina (LRR-RLK), proteínas similares a receptores LRR (LRR-RLP) o LysM-RLK/RLP.
4. El PRR quimérico de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que el dominio yuxtamembrana, el dominio transmembrana y/o el dominio citoplasmático comprenden cada uno una secuencia que tiene al menos un 80 % de identidad de secuencia con la región c-terminal de LeEix2 que tiene una secuencia de acuerdo con la SEQ ID NO: 3.
5. Procedimiento de modulación de la resistencia de una planta a una infección por *Xanthomonas*, que comprende modular en dicha planta la expresión de una proteína que comprende una secuencia de aminoácidos de al menos 80 % de identidad de secuencia con la secuencia mostrada en la SEQ ID NO: 1.
6. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 5, en el que la modulación constituye un aumento o una disminución de la resistencia de una planta, en el que un aumento de la expresión de dicha proteína da como resultado un aumento de la resistencia de dicha planta a una infección por patógenos, y en el que la disminución de la expresión da como resultado una disminución de la resistencia de dicha planta a una infección por patógenos.
7. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 5 o 6, en el que dicha proteína es un PRR quimérico de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4.
8. El procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 7, en el que dicha infección por *Xanthomonas* se selecciona de una infección por *Xanthomonas axonopodis*, *Xanthomonas campestris*, *Xanthomonas stewartii*, *Xanthomonas oryzae* y *Xanthomonas translucens*.
9. Un procedimiento de producción de una planta transgénica que tiene una resistencia mejorada a una infección por *Xanthomonas*, que comprende la etapa de transformar una planta o célula vegetal con una secuencia de nucleótidos que codifica un PRR quimérico según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4.
10. Una planta, **caracterizada porque** expresa un PRR quimérico de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4.
11. Un gen, que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un PRR quimérico de acuerdo con las reivindicaciones 1 a 4.
12. Un procedimiento de selección para patrones moleculares asociados a microbios (MAMP), que comprende los pasos del procedimiento de (i) expresar en una planta o célula vegetal una proteína que comprende una secuencia de aminoácidos de al menos 80 % de identidad con la SEQ ID No 1, o un PRR quimérico de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, (ii) poner en contacto dicha planta o célula vegetal con un compuesto candidato, (iii) medir la respuesta inmune de dicha planta o célula vegetal en comparación con una planta control o célula vegetal, en el que una respuesta inmune elevada de dicha planta o célula vegetal indica que dicho compuesto candidato es un MAMP.
13. Un procedimiento de purificación de una MAMP, que comprende el uso de una proteína, o partes extracelulares de la misma, que comprende una secuencia de al menos 80 % de identidad con la SEQ ID No. 1.
14. Un procedimiento de obtención de un inductor de una reacción de defensa en una planta que comprende los pasos de
 - a. someter a lisis las células de *Xanthomonas*,
 - b. eliminar residuos bacterianos de las muestras lisadas,
 - c. dializar las muestras lisadas con un límite de peso molecular de 4 a 6 kD contra TRIS 20 mM pH 8,
 - d. unir las proteínas de dicho lisado a una columna de intercambio aniónico, y
 - e. eluir el inductor a 20 % a 35 % de NaCl,

en el que dicho inductor contiene, o es, un ligando de la proteína de acuerdo con la SEQ ID NO: 1, y no contiene factor de alargamiento Tu (EF-Tu) y flagelina.

5 15. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 14, en el que el procedimiento comprende los pasos adicionales de volver a cargar el inductor en una columna de intercambio aniónico y eluir con un gradiente de sal de 0 a 30 % de NaCl.

16. Un procedimiento para sensibilizar una planta contra infecciones por *Xanthomonas*, comprendiendo el procedimiento los pasos de tratamiento de una planta, célula vegetal o tejido vegetal con un PRR quimérico de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, realizando en dicha planta un procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 8.

10

Figura 1:

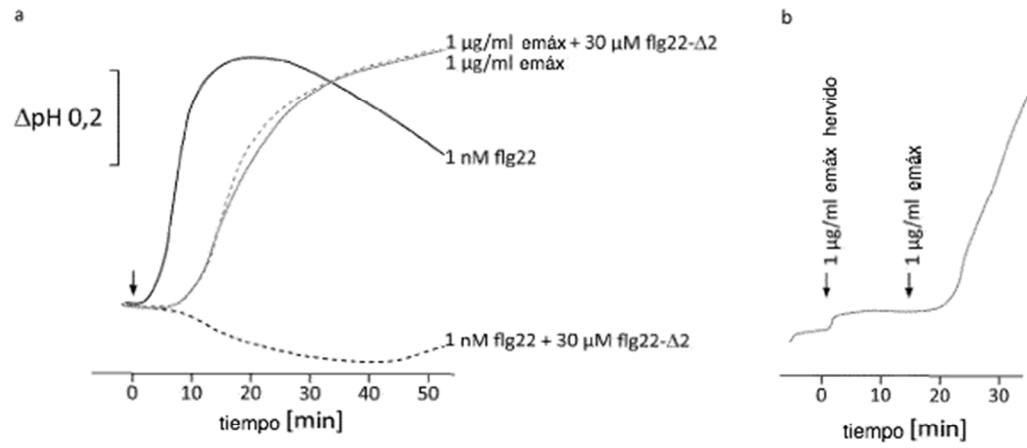


Figura 2:

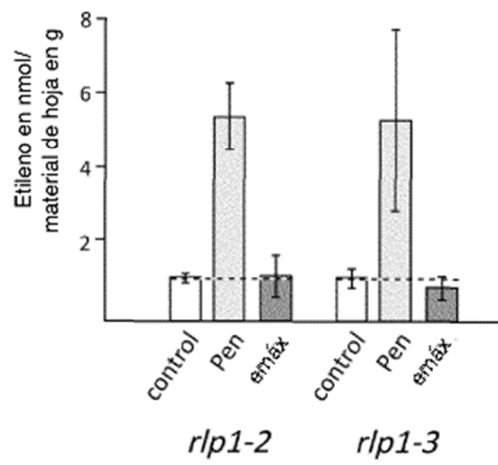


Figura 3:

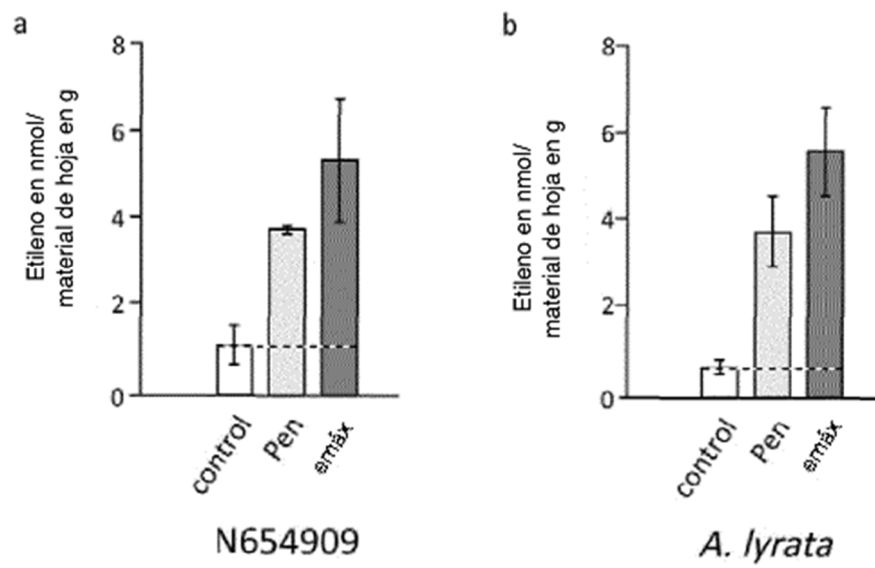


Figura 4:

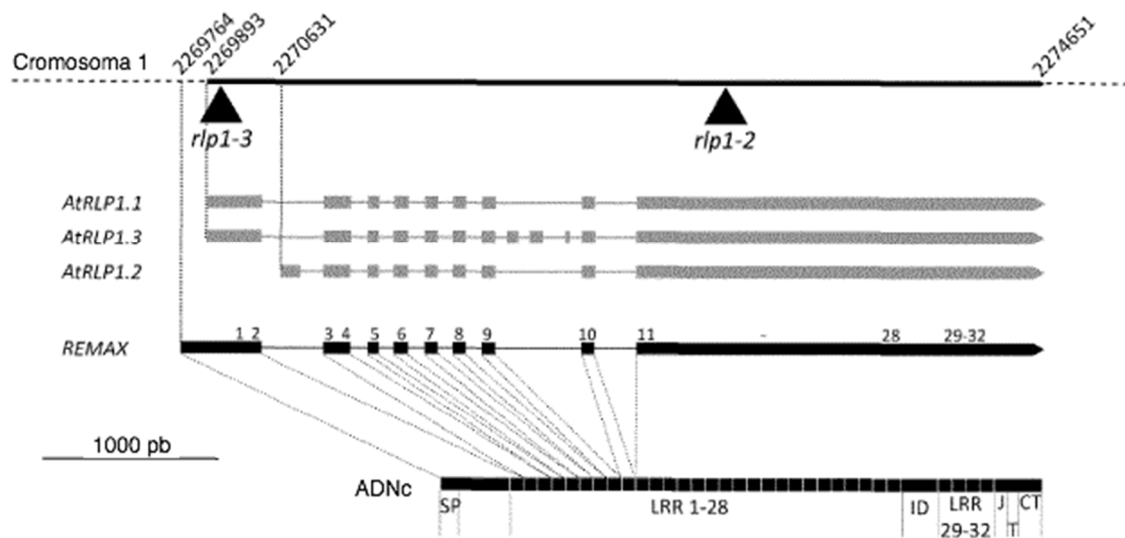


Figura 5:

a

REMAX

MRTDERRRWVWVKPKKHITLVFITITMTIIQFQMKGCVCSC

VETERMGLLQKSYLKNLVDAEEEEEE
 GHLSILKSWTHEGECERWERVKSDAING
 HVIGLSLDRLVPVAFESQTRSLNLSL
 1 LHSFPQLQSLNLSWMTNLSDFHFGFS
 2 FGTLDKLTTLDFSHNMFDNVPF
 3 LNAATSRSLHLSNMYEVEPPQE
 4 LSNMTNLRVLNLDKNSPFLSSQG
 5 LTDERRDLVLDLSPNGVNDSEASHS
 6 LST AKLKTLDLNFNLSDFSQKLG
 7 LESLQELQVVKLRGKFNHTLSTHV
 8 LKDKMLQELDLSDNGFTNLDHGRG
 9 LEIPTSLQVLDLFRNQLSLTHEGYLG
 10 ICRMLKRELDELSSNALT SLPYC
 11 LGNTLHRLTLDLNNQLNGLSSFV
 12 SGLPSVLEYLSDLDNNDGSEFLNS
 13 EVNQLRLIVKLS KVGVIQVQTESS
 14 WAPLFQKMLYLS HCSLSSMTLGF
 15 LVHQDLCFVLDLHNNLTGTFTWL
 16 VKNTRLQTLISGNSLTKLP
 17 I LVHGLQVLDLSSNMIYDSIQEDI
 18 GMVFNLRFNLSNHFQSTIPSS
 19 TGENKSLQVLDLSSNGLYQQLPIMF
 20 LSGCYSLRVKLSNNOQKIFSK
 21 HANTGLVGLFLDGNNETGSLEEG
 22 LKSKNLTLLDSDNRFSGLPLW
 23 LGRSLRSLYLYMSGNOLKGFPPF
 24 LRQSFWEVMDISHNSFSGSIPR
 25 NVNFPSELRLQLNNEFTGLVPGN
 26 LFKAGLEVLDRNNNFSKTLNT
 27 IDQTSKLRILLRNNSFQYIPGK
 28 LCOLSEVGLLDLHNNCFRPIESC

ID FSKMSFGAEQNDRMTSLVADDFSYITFLPHCQY
 GSHLNDDGVRNGYQPKPATVVDLTKSRYEAYQ

29 GDLIRYMHGLDLSNLSLSEIPIE
 30 TGDQLNRSLSLSSNRLTGSIPDS
 31 LSKLKGLESLSNKLDSSTPPA
 32 LADNSLGYLNSYNNLSGEIPF
 JM GHVITDERSYIGNAHLGLPTNKNLS
 QRVPEPPSVSTHAKKEENEZEENVIDMV

TM WFYWTCAAVYISTSLALFAFLYI

CT DSRWSREWYFVLDLCVHHILQFKRSSVCN

b

LeEix2

MGKRTNPRHFLVTSILLLLETAFG

LTSREVNKTLCEKERGALLEFKRGLNDDFGR
 LSTWGDEEEENKMGIEOKR
 TGHVIVLDLHSEVTCPGHACFAPILTGVSPS
 1 LLELEYNFDLSDVNGENSELPRF
 2 IGSILKREYLNLSSSDFSEIDPAQ
 3 FQNTSLRILDLGNLIVKDLVM
 4 LSHLSSLEFLRLGGDFQARNWRE
 5 ITHVPSLKELDLVCGLSKFVPSADVA
 6 NSSLISLVLELCCNESTSEYSWL
 7 FNESTSLTSLDLSHNNQLSRQIDDR
 8 FGSIMYLEHLNLANFGCGVSS
 9 FGNLTRLHYLDMSNTQTYOWLPELFLRL
 10 SGRKSLVLDLNDNLSLFSIVN
 11 VPRFSSILKLYLQKMLNGFFMER
 12 VGCVSSLEYLSDLDNQMRLPDD
 13 LALFSLRELHLGSGNCFQGRIPQG
 14 IGKLSQLRIFDVSSNRLGEPES
 15 MGOLSNLERFDASYNVLRGTITESH
 16 FSNLSLVLDLSPNLLSLNTRFD
 17 WVFFQLQFIRLPSCNMGPSFPM
 18 LQTONNYTLDLSLANISMLRSMF
 19 SNLPPELRLNLSNHSRVSSEF
 20 TVSKQDYMIIDLSNNESGHLF
 21 LVP ANICIFYLHKNHESGSISSIC
 22 RNTIGAATSLDLSRNQSGEVPC
 23 WNNMSNLAVLNLAYNNEGKVPQS
 24 LGSNTNLEALYIRONSTRMLPS
 25 FSQCQLQILDIGGKLTGRIPAMI
 26 GTDLQLRLSLRNNKFDGSIPL
 27 LCOLQFLCILDLSNGLSGKIPQC

ID LNNFTILRQENCGESMDFKVRYD
 YIPGSYLYIGDLIIQWKNQSEY

28 KNALLYLKIIDLSNKLIVGGIPKE
 29 LAEMRGLRSLNLSRNDLNGTVVEG
 30 IGQMKLESLSLNRNQLSGMIPQG
 31 LSNLTLFSLVLDLSNHLSGRIPS
 JM STQLQSFDRSSYSNAQLGPPLEECPG
 YAFFIDRGSTNPFQEHDDDEFSSLE

TM FYVSMVLGFFVTFWGLGLIVN

CT RSWRNAYFTFLDMKSWLHMTSRVCFARLKGKLRN

Figura 6:

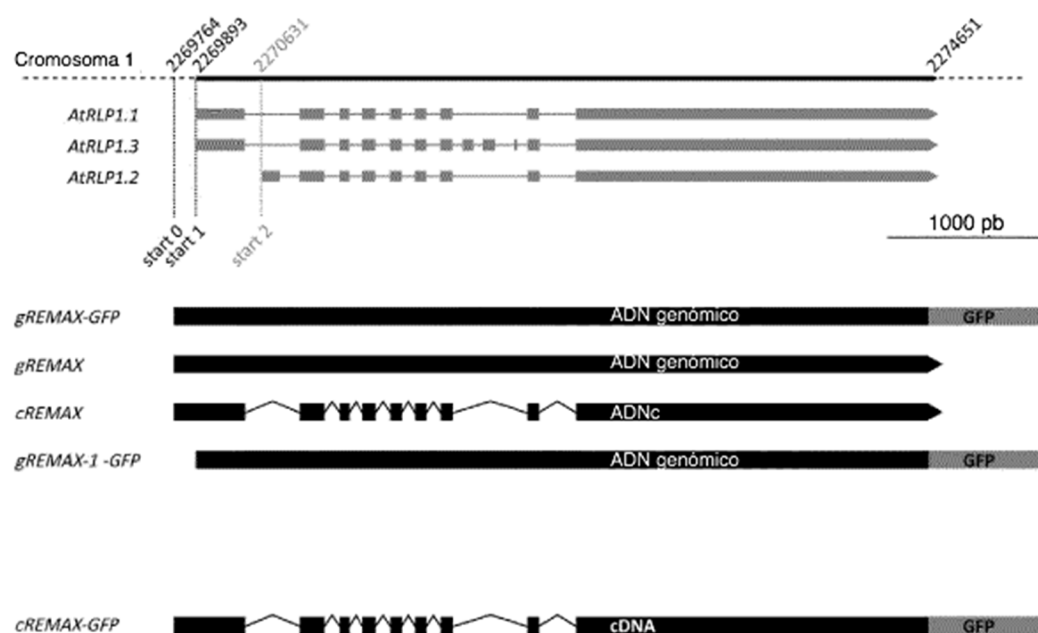


Figura 7:

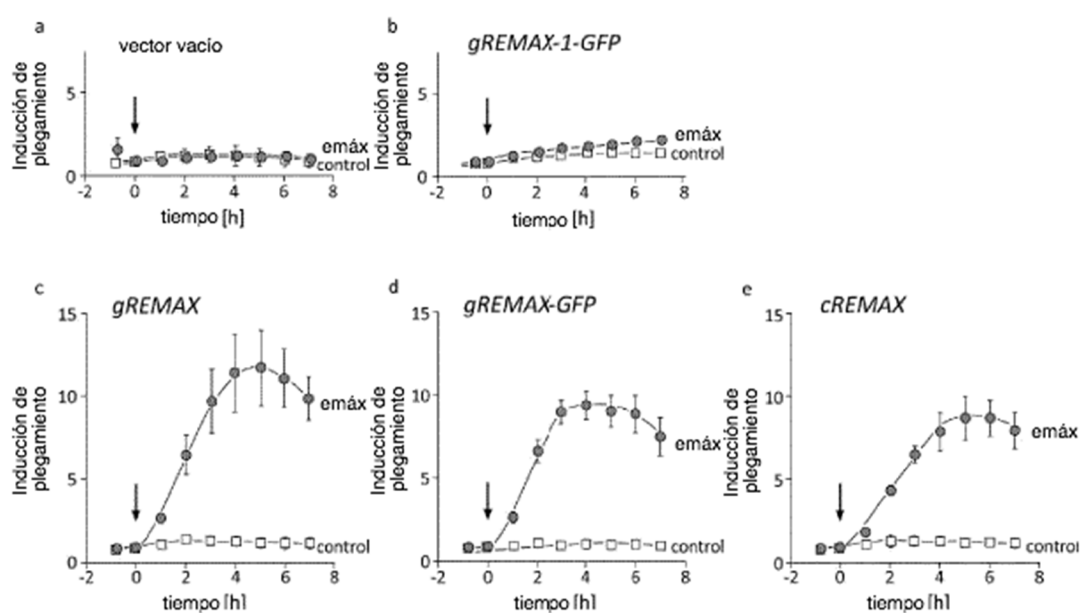


Figura 8:

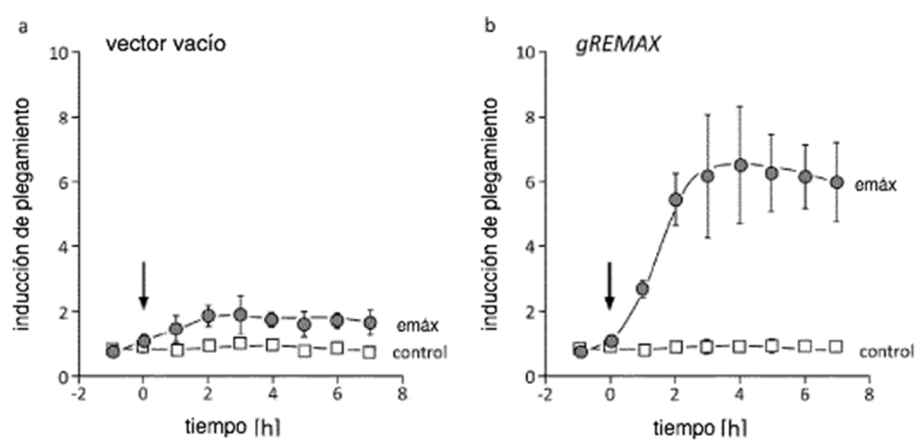


Figura 9:

