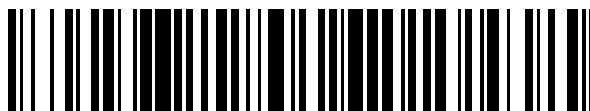


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 785 329**

51 Int. Cl.:

C12N 15/82 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **18.12.2015 PCT/US2015/066619**

87 Fecha y número de publicación internacional: **30.06.2016 WO16106121**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.12.2015 E 15823877 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **29.01.2020 EP 3237624**

54 Título: **Métodos y composiciones para identificar y enriquecer células que comprenden modificaciones genómicas específicas para el sitio**

30 Prioridad:

23.12.2014 US 201462096442 P

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

06.10.2020

73 Titular/es:

**SYNGENTA PARTICIPATIONS AG (100.0%)
Rosentalstrasse 67
4058 Basel, CH**

72 Inventor/es:

**CHEN,ZHONGYING;
KIM, MYOUNG;
ZHONG, HENG;
GU, WEINING;
JIANG, YAPING;
QUE, QIUDENG y
CHILTON, MARY-DELL**

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 785 329 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

Métodos y composiciones para identificar y enriquecer células que comprenden modificaciones genómicas específicas para el sitio

5

SOLICITUDES RELACIONADAS

Esta solicitud reclama el beneficio de la solicitud provisional 62/096.442, presentada el 23 de diciembre de 2014 .

10

LISTADO DE SECUENCIAS

Se proporciona un listado de secuencias en formato de texto ASCII, presentado bajo 37 C.F.R. § 1.821, titulado "80484_ST25.txt", 409 kilobytes de tamaño, generadas el 15 de diciembre de 2015 y presentado a través de la web EFS en lugar de una copia en papel . Este Listado de Secuencias se incorpora con ello como referencia en la memoria descriptiva de sus divulgaciones.

15

CAMPO DE LA INVENCION

La presente invención se refiere a métodos y composiciones para modificar un sitio diana en el genoma de una célula vegetal. Modificaciones de este tipo incluyen integración transgénica y mutaciones. La presente invención se refiere, además a métodos y a composiciones para identificar y enriquecer una célula con uno o más transgenes integrados en un sitio diana dentro del genoma de la célula, así como para identificar y enriquecedora una célula que comprende una mutación introducida en un sitio diana dentro del genoma de la célula sin integración en el genoma de una secuencia de nucleótidos heteróloga que codifica una nucleasa para la escisión específica para el sitio en el sitio diana dentro del genoma.

20

25

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

Avances recientes en el campo de las modificaciones fijadas como objetivo de un genoma han sido posibles para que las modificaciones fijadas como objetivo de rutina puedan ser pronto posibles. Se han realizado avances significativos en los últimos años hacia el desarrollo de métodos y composiciones para fijar como objetivo y escindir el ADN genómico mediante nucleasas específicas para el sitio (p. ej., nucleasas de dedos de zinc (ZFN), meganucleasas, nucleasas efectoras de tipo activador de transcripción (TALENs) y Repeticiones Palindrómicas Cortas Agrupadas y Regularmente Interespaciadas/nucleasa asociada a CRISPR (CRISPR/Cas) con un ARNcr/ARN tracr modificado), para inducir mutagénesis fijada como objetivo, inducir delecciones fijadas como objetivo de secuencias de ADN celular y facilitar la recombinación fijada como objetivo de un polinucleótido de ADN donante exógeno, tal como un transgén, dentro de un locus genómico predeterminado. Este locus genómico predeterminado no es obvio. Muchos sitios en el genoma no son ideales para, por ejemplo, la inserción de transgenes, debido a la secuencia de nucleótidos altamente repetitiva, la metilación y otras características que resultan en un nivel muy alto o muy bajo de recombinación o expresión pobre de genes en transgenes introducidos. Por lo tanto, existe la necesidad en la técnica de identificar sitios diana ideales dentro de un genoma para modificaciones fijadas como objetivo, tales como la inserción de transgenes.

30

35

40

45

50

55

60

Una vez que se ha utilizado un sitio diana para la modificación fijada como objetivo, es necesario determinar si la modificación fijada como objetivo deseada se creó con éxito. Métodos existentes de rastreo de modificaciones genómicas fijadas como objetivo en las células se basan principalmente en protocolos de reacción en cadena de la polimerasa (PCR), secuenciación de ácidos nucleicos y análisis Southern. En el caso de la amplificación por PCR , el proceso de rastreo para manipular la complejidad de la inserción o modificación de genes en un sitio específico es ineficiente debido a la complejidad de los ajustes del cebador de PCR y la ambigüedad inherente de la amplificación por PCR debido a la complejidad resultante de la reorganización del genoma y la ploidía del genoma. Algunos de los problemas con la PCR incluyen: 1) no hay una distinción clara entre inserciones de una copia y de dos copias debido a la ploidía del genoma; 2) un requisito para el diseño complejo de cebadores y grandes conjuntos de combinaciones de cebadores para tratar la complejidad de la inserción o modificación de genes en el o los sitios específicos; y 3) bajo rendimiento de electroforesis en gel y ambigüedad de las bandas de amplificación. Aunque la secuenciación posterior puede ayudar a identificar las características de los productos de amplificación por PCR, existen problemas con los esfuerzos de secuenciación a gran escala y la interpretación de los resultados para grandes cantidades de muestras. Se requiere un análisis adicional de segregación génica para aislar a la progenie homocigótica para un rastreo adicional. Estas etapas requieren operaciones a gran escala para el rastreo de cultivos comerciales con el fin de capturar menos del 2% de los candidatos potenciales y la escala de inventario de las plantas en invernaderos requiere escalas comerciales de espacio y costos operativos hasta que la fase de crecimiento de la planta sea lo suficientemente madura como para llevar a cabo un análisis Southern .

65

La presente invención aborda estas deficiencias en la técnica al proporcionar un sitio diana ideal para un genoma de maíz. La presente invención también proporciona un enfoque más estratégico y eficiente para identificar y enriquecer células con una inserción genómica fijada como objetivo o una mutación genómica fijada como objetivo, lo que reduce

el número de plantas candidatas con alta precisión en las primeras fases del proceso de rastreo, evitando un esfuerzo de secuenciación a gran escala y reduciendo los costos operativos del invernadero para el mantenimiento de la planta.

SUMARIO DE LA INVENCION

5 En un aspecto, la presente invención proporciona un método para integrar un transgén en un sitio de escisión de nucleasa genómica en un genoma de maíz, que comprende introducir en una célula de maíz: a) una primera molécula de ácido nucleico que comprende al menos aproximadamente 100 nucleótidos contiguos, en donde dichos nucleótidos contiguos tienen al menos aproximadamente un 90% de identidad con un sitio diana en la secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 2, y que además comprende un transgén; y b) una segunda molécula de ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica una nucleasa para la escisión dirigida al sitio en un sitio de escisión de nucleasa genómica adyacente a la secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 2 que corresponde a los nucleótidos contiguos de (a), bajo condiciones en donde la expresión de la segunda molécula de ácido nucleico puede producir la nucleasa y la nucleasa puede escindir la secuencia de nucleótidos en el sitio de escisión de nucleasa genómica, por lo que el transgen se integra en el sitio de escisión diana de nucleasa genómica en el genoma del maíz. La presente invención también proporciona un método para producir una planta de maíz, parte de planta o progenie de la misma que comprende un transgén integrado en un sitio de escisión de nucleasa genómica en el genoma del maíz, que comprende regenerar una planta de maíz a partir de la célula de maíz producida por el método arriba descrito. La presente invención proporciona, además, una planta de maíz, parte de planta o progenie de la misma que comprende un transgén integrado en un sitio de escisión de nucleasa genómica en el genoma del maíz, producido por el método descrito.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un método de enriquecimiento para una célula que comprende un transgén insertado en un sitio de escisión de nucleasa en un genoma de la célula, que comprende: a) introducir en una pluralidad de células: i) una primera molécula de ácido nucleico que comprende al menos 100 nucleótidos contiguos, en donde los al menos 100 nucleótidos contiguos tienen al menos un 90% de identidad con un sitio diana en el genoma de la célula y que, además, comprende un transgén; y ii) una segunda molécula de ácido nucleico que codifica una nucleasa para la escisión dirigida al sitio en un sitio de escisión de nucleasa en el genoma de la célula adyacente a la secuencia de nucleótidos en el genoma de la célula que corresponde a los al menos 100 nucleótidos contiguos de (a), en condiciones en las que puede producirse la expresión de la segunda molécula de ácido nucleico para producir la nucleasa y la nucleasa puede escindirse en el sitio de escisión de nucleasa en el genoma de la célula y puede integrar el transgén en el sitio de escisión de nucleasa en el genoma de la célula; b) cultivar las células de (a) para producir una línea o tejido celular; c) extraer una muestra de ADN genómico de la línea celular o tejido de (b); d) realizar ensayos de reacción en cadena de polimerasa cuantitativa en tiempo real (qPCR) T y G en la muestra de (c), en donde los ensayos T y G comprenden respectivamente las siguientes sondas: i) una primera sonda que comprende una secuencia de nucleótidos que es complementaria a una secuencia de nucleótidos del sitio diana, al menos a cinco pares de bases alejado del sitio de escisión de nucleasa para llevar a cabo el ensayo T, y ii) una segunda sonda que comprende una secuencia de nucleótidos que es complementaria a una secuencia de nucleótidos del transgén para llevar a cabo el ensayo G ; e) obtener un número de copia de ADN del sitio diana a partir de los resultados del ensayo T y un número de copia de ADN del transgén a partir de los resultados del ensayo G; y f) enriquecer una línea celular o tejido que tiene un número de copias reducido en el ensayo T en relación con una referencia y un número de copias mayor que cero para el ensayo G, enriqueciendo así la célula que comprende el transgen insertado en el sitio de escisión de la nucleasa en el genoma de la célula .

Además, la presente invención proporciona un método para identificar una célula que comprende un transgén insertado en un sitio de escisión de nucleasa en un genoma de la célula, que comprende: a) introducir en una pluralidad de células: i) una primera molécula de ácido nucleico que comprende al menos 100 nucleótidos contiguos que tienen al menos un 90% de identidad con un sitio diana en el genoma de la célula, y que, además, comprende un transgén; y ii) una segunda molécula de ácido nucleico que codifica una nucleasa para la escisión dirigida al sitio en un sitio de escisión de nucleasa en el genoma de la célula adyacente a la secuencia de nucleótidos en el genoma correspondiente a los al menos 100 nucleótidos contiguos de (a), en condiciones en donde la expresión de la segunda molécula de ácido nucleico puede producir la nucleasa y la nucleasa puede escindirse en el sitio de escisión de nucleasa en el genoma de la célula e integrar el transgen en el sitio de escisión de nucleasa en el genoma de la célula; b) cultivar las células de (a) para producir una línea o tejido celular; c) extraer una muestra de ADN genómico de la línea celular o tejido de (b); d) realizar ensayos de reacción en cadena de polimerasa cuantitativa (qPCR) en tiempo real T y G en la muestra de (c), en donde los ensayos T y G comprenden respectivamente las siguientes sondas: i) una primera sonda que comprende una secuencia de nucleótidos que es complementaria a una secuencia de nucleótidos del sitio diana, al menos cinco pares de bases alejado del sitio de escisión de nucleasa para llevar a cabo el ensayo T, y ii) una segunda sonda que comprende una secuencia de nucleótidos que es complementaria a una secuencia de nucleótidos del transgén para llevar a cabo el ensayo G ; e) obtener un número de copias de ADN del sitio diana a partir de los resultados del ensayo T y un número de copias de ADN del transgén a partir de los resultados del ensayo G; y f) identificar una línea celular o tejido que tiene un número de copias reducido en el ensayo T en relación con una referencia y un número de copias mayor que cero para el ensayo G, identificando con ello la célula que comprende el transgén insertado en el sitio de escisión de nucleasa en el genoma de la célula. La presente invención también proporciona una línea celular o tejido que se enriquece o identifica por los métodos descritos, y proporciona, además, una planta, parte de planta o progenie derivada de la línea celular o tejido.

En aspectos adicionales de esta invención, se proporciona un método de enriquecimiento de una célula que comprende una mutación introducida en un sitio de escisión de nucleasa en un genoma de la célula y que carece de integración de una secuencia de nucleótidos heteróloga que codifica una nucleasa para la escisión dirigida al sitio de una secuencia de nucleótidos en el sitio de escisión de nucleasa en el genoma de la célula, que comprende: a) introducir una molécula de ácido nucleico que comprende una secuencia heteróloga que codifica una nucleasa para la escisión dirigida al sitio de la secuencia de nucleótidos en el sitio de escisión de nucleasa en el genoma de la célula en una pluralidad de células bajo condiciones en las que puede producirse la expresión de la molécula de ácido nucleico para producir la nucleasa, y la nucleasa puede escindir la secuencia de nucleótidos en el sitio de escisión de nucleasa en el genoma de la célula, introduciendo con ello una mutación en el sitio de escisión de nucleasa en el genoma de la célula sin la integración de la secuencia de nucleótidos heteróloga que codifica la nucleasa en el genoma de la célula; b) cultivar la pluralidad de células de (a) para producir una línea celular o tejido; c) extraer una muestra de ADN genómico de la línea celular o tejido de (b); d) realizar ensayos de reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa (qPCR) en tiempo real 1 y 2 en la muestra de (c), en donde los ensayos comprenden, respectivamente, las siguientes sondas: i) una primera sonda que comprende una secuencia de nucleótidos que es complementaria a la secuencia de nucleótidos que comprende el sitio de escisión de nucleasa para llevar a cabo el ensayo 1, y ii) una segunda sonda que comprende una secuencia de nucleótidos que es complementaria a la secuencia de nucleótidos heteróloga que codifica la nucleasa para llevar a cabo el ensayo 2; e) obtener un número de copias de ADN del sitio de escisión de nucleasa a partir de los resultados del ensayo 1 y un número de copias de ADN de la secuencia de nucleótidos heteróloga que codifica la nucleasa a partir de los resultados del ensayo 2; y f) enriquecer para una línea celular o tejido que tiene un número de copias reducido para el ensayo 1 en relación con una referencia y un número de copias igual a cero para el ensayo 2, enriqueciendo así la célula que comprende la mutación introducida en el sitio de escisión de nucleasa en el genoma de la célula y la falta de integración de la secuencia de nucleótidos heteróloga que codifica la nucleasa en el genoma de la célula.

También se proporciona como un aspecto de esta invención un método de identificar una célula que comprende una mutación introducida en un sitio de escisión de nucleasa en un genoma de la célula y que carece de integración de una secuencia de nucleótidos heteróloga que codifica una nucleasa para la escisión dirigida al sitio de una secuencia de nucleótidos en el sitio de escisión de nucleasa en el genoma de la célula, que comprende: a) introducir una molécula de ácido nucleico que comprende una secuencia heteróloga que codifica una nucleasa para la escisión dirigida al sitio de la secuencia de nucleótidos en el sitio de escisión de nucleasa en el genoma de la célula en una pluralidad de células bajo condiciones en las que puede producirse la expresión de la molécula de ácido nucleico para producir la nucleasa, y la nucleasa puede escindir la secuencia de nucleótidos en el sitio de escisión de nucleasa en el genoma de la célula, introduciendo con ello una mutación en el sitio de escisión de nucleasa en el genoma de la célula sin la integración de la secuencia de nucleótidos heteróloga que codifica la nucleasa en el genoma de la célula; b) cultivar la pluralidad de células de (a) para producir una línea celular o tejido; c) extraer una muestra de ADN genómico de la línea celular o tejido de (b); d) realizar ensayos de reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa (qPCR) en tiempo real 1 y 2 en la muestra de (c), en donde los ensayos comprenden, respectivamente, las siguientes sondas: i) una primera sonda que comprende una secuencia de nucleótidos que es complementaria a la secuencia de nucleótidos que comprende el sitio de escisión de nucleasa para llevar a cabo el ensayo 1, y ii) una segunda sonda que comprende una secuencia de nucleótidos que es complementaria a la secuencia de nucleótidos heteróloga que codifica la nucleasa para llevar a cabo el ensayo 2; e) obtener un número de copias de ADN del sitio de escisión de nucleasa a partir de los resultados del ensayo 1 y un número de copias de ADN de la secuencia de nucleótidos heteróloga que codifica la nucleasa a partir de los resultados del ensayo 2; y f) identificar una línea celular o tejido que tiene un número de copias reducido para el ensayo 1 en relación con una referencia y un número de copias igual a cero para el ensayo 2, identificando así la célula que comprende la mutación introducida en el sitio de escisión de nucleasa en el genoma de la célula y la falta de integración de la secuencia de nucleótidos heteróloga que codifica la nucleasa en el genoma de la célula. La presente invención también proporciona una línea celular o tejido que se enriquece o identifica por los métodos descritos, y proporciona, además, una planta, parte de planta o progenie derivada de la línea celular o tejido.

En aspectos adicionales, la presente invención proporciona un método para producir una planta, parte de planta o progenie de la misma que comprende una mutación introducida en un sitio de escisión de nucleasa en un genoma de una célula vegetal y que carece de integración de una secuencia de nucleótidos heteróloga que codifica una nucleasa para la escisión dirigida al sitio de una secuencia de nucleótidos en el sitio de escisión de nucleasa en el genoma de la célula vegetal, que comprende: a) introducir en la célula vegetal una molécula de ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos heteróloga que codifica una nucleasa para la escisión dirigida al sitio de la secuencia de nucleótidos en el sitio de escisión de nucleasa en el genoma de la célula vegetal bajo condiciones en las que la expresión de la molécula de ácido nucleico se produce transitoriamente para producir la nucleasa y la nucleasa puede escindir la secuencia de nucleótidos en el sitio de escisión de nucleasa en el genoma de la célula vegetal, introduciendo así una mutación en el sitio de escisión de nucleasa en el genoma de la célula vegetal sin integración de la secuencia de nucleótidos heteróloga que codifica la nucleasa en el genoma de la célula vegetal; y b) regenerar una planta, parte de planta o progenie de la misma a partir de la célula vegetal de (a). La presente invención proporciona, además, la planta, parte de planta o progenie de la misma producida por el método descrito.

También se describe un método para modificar un sitio diana en el genoma de una célula vegetal, que comprende: a) introducir en la célula vegetal un primer ácido nucleico que comprende al menos 100 nucleótidos contiguos, en donde

los al menos 100 nucleótidos contiguos tienen al menos 90% identidad con un sitio diana en el genoma de la célula, y que, además, comprende un transgén; y b) una segunda nucleasa que codifica una molécula de ácido nucleico para la escisión dirigida al sitio en un sitio de escisión de nucleasa en el genoma de la célula adyacente a la secuencia de nucleótidos en el genoma de la célula que corresponde a los al menos 100 nucleótidos contiguos de (a), en donde la nucleasa es una nucleasa Cas9 modificada que comprende la SEQ ID NO: 30, bajo condiciones en las que puede producirse la expresión de la segunda molécula de ácido nucleico para producir la nucleasa y la nucleasa puede escindirse en el sitio de escisión de nucleasa en el genoma de la célula y modificar el sitio diana en el genoma de la célula vegetal.

También se describe un método para producir una planta de maíz, parte de planta o progenie de la misma que comprende una modificación en un sitio diana en el genoma de la célula vegetal, que comprende: a) introducir en la célula vegetal un primer ácido nucleico que comprende al menos 100 nucleótidos contiguos, en donde los al menos 100 nucleótidos contiguos tienen al menos un 90% de identidad con un sitio diana en el genoma de la célula, y que, además, comprende un transgén; b) una segunda nucleasa que codifica una molécula de ácido nucleico para la escisión dirigida al sitio en un sitio de escisión de nucleasa en el genoma de la célula adyacente a la secuencia de nucleótidos en el genoma de la célula que corresponde a los al menos 100 nucleótidos contiguos de (a), en donde la nucleasa es una nucleasa Cas9 modificada que comprende la SEQ ID NO: 30, bajo condiciones en las que puede producirse la expresión de la segunda molécula de ácido nucleico para producir la nucleasa y la nucleasa puede escindirse en el sitio de escisión de la nucleasa en el genoma de la célula y modificar el sitio diana en el genoma de la célula vegetal; y c) regenerar una planta, parte de planta o progenie de la misma a partir de la célula vegetal de (a). La presente invención proporciona, además, la planta, parte de planta o progenie de la misma producida por el método descrito.

También se describe un método para integrar un transgén en un sitio de escisión de nucleasa genómica en un evento genoma de maíz transgénico MIR604, que comprende introducir en un evento célula de maíz MIR604: a) una primera molécula de ácido nucleico que comprende al menos 100 nucleótidos contiguos, en donde dichos al menos 100 nucleótidos contiguos tienen al menos un 90% de identidad con un sitio diana en una secuencia de nucleótidos seleccionada del grupo que comprende SEQ ID NO: 133, SEQ ID NO: 134, SEQ ID NO: 135, SEQ ID NO: 136, SEQ ID NO: 137, SEQ ID NO: 138 y SEQ ID NO: 139, y que, además, comprende un transgén; y b) una segunda molécula de ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica una nucleasa para la escisión dirigida al sitio en un sitio de escisión de nucleasa genómica adyacente a una secuencia de nucleótidos con al menos un 90% de identidad con una secuencia de nucleótidos seleccionada del grupo que comprende la SEQ ID NO: 133, SEQ ID NO: 134, SEQ ID NO: 135, SEQ ID NO: 136, SEQ ID NO: 137, SEQ ID NO: 138 y SEQ ID NO: 139, que corresponde a los al menos 100 nucleótidos contiguos de (a), bajo condiciones en las que puede producirse la expresión de la segunda molécula de ácido nucleico para producir la nucleasa y la nucleasa puede escindir la secuencia de nucleótidos en el sitio de escisión de nucleasa genómica, por lo que el transgen se integra en el sitio de escisión diana de nucleasa genómica en el genoma del maíz. La presente invención proporciona, además, un método para producir una planta de maíz, parte de planta o progenie de la misma que comprende un transgén integrado en un sitio de escisión de nucleasa genómica en un evento genoma de maíz MIR604, que comprende regenerar una planta de maíz a partir de la célula de maíz producida por el método descrito. La presente invención proporciona, además, una planta de maíz, parte de planta o progenie de la misma que comprende un transgén integrado en un sitio de escisión de nucleasa genómica en el evento genoma de maíz MIR604, producido por el método descrito.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

Fig. 1. Diagrama esquemático que muestra las secuencias flanqueantes del sitio de inserción MIR604. 88 pares de bases de secuencias entre MIR604RBFS1 y MIR604LBFS1 se eliminan en el evento MIR604 durante la integración de ADN-T. Este sitio de inserción de MIR604 no contiene el transgén de evento MIR604.

Fig. 2. Representación esquemática de la inserción fijada como objetivo en el locus del puerto seguro del lugar de inserción de MIR604 y reacciones PCR para identificar potenciales eventos de integración fijada como objetivo con dos pares de cebadores: P1 (FE4706)/P2 (FE4705) y P3 (FE4708)/P4 (FE4707). P1 (FE4706) y P4 (FE4707) solo se unen a regiones cromosómicas fuera de los brazos de homología presentes en la región donante y diana, mientras que P2 (FE4705) y P3 (FE4708) solo se unen a moléculas donantes. El par de cebadores P1 (FE4706) y P2 (FE4705) produce un fragmento de 2,87 Kpb y el par de cebadores P3 (FE4708)/ y P4 (FE4707) amplifica un fragmento de 2,0 Kpb solo si la inserción fijada como objetivo está presente en el locus de puerto seguro nº 1 (sitio de inserción de MIR604). La posición aproximada de los sitios de restricción Bsu36I y las sondas utilizadas en el análisis de transferencia de ADN Southern (**Fig. 5**) se indican en el evento de inserción fijado como objetivo.

Fig. 3. Un ejemplo de ensayo de rastreo por PCR tal como se esboza en la **Fig. 2**. En el panel izquierdo, la PCR se realiza con P3(FE4708)/ y P4(FE4707) que amplifica un fragmento de 2,0 Kpb de 2 eventos (pista 25, MZET141320A250A y pista 42, evento MZET141606A097A). En el panel derecho, la PCR se realiza con el par P1 (FE4706) y P2 (FE4705) produce un fragmento de 2,87 Kpb de solo 1 evento (pista 25, MZET141320A250A).

Fig. 4. Número de puntos GUS en embriones inmaduros de maíz bombardeados con vectores que contienen sustrato de recombinación intra-molecular de repetición GUUS con la secuencia diana MIR604FR1 (5'-TACAC G TACT AATCG

TGCTT CACGC ACAGG CACAG CACGT AGTAG ACAGG A-3', SEQ ID NO:66) junto con un solo vector TALEN (F1, cTNmir604Fw1-01 o R2, cTNmir604Rv2-01) o un par de genes TALEN (FR1, cTNmir604Fw1-01 y cTNmir604Rv1-01) bajo el control del promotor de ubiquitina de maíz (prZmUbi1-10) o sin TALEN (ctl, control en blanco). cTNmir604Rv2-01 no reconoce la secuencia MIR604FR1 y resulta en un nivel de fondo de actividad GUS (R2, control negativo).

Fig. 5. Análisis de inmunotransferencia de ADN de eventos de inserción fijados como objetivo en el locus de puerto seguro nº 1 (sitio de inserción MIR604). Sonda de ADN 1: contra secuencias genómicas nativas flanqueantes; Sonda 2: sonda contra prCMP; Sonda 3: Sonda contra cPMI (Véase la **Fig. 2** para sondear las ubicaciones de las sondas en el mapa esquemático). Pista 1: marcadores marcados con DIG; Pista 2: línea de transformación de maíz de tipo salvaje NP2222; Pista 3: NP2222 marcada con 21942; digerida con *HindIII* (liberando un fragmento de 8553 pb); Pista 4: MZET134207E056A; Pista 5: MZET134300A679A; Pista 6: MZET134505A104A; Pista 7: MZET141322A015A; Pista 8: MZET141322B143A; todos los ADN genómicos de maíz en las pistas 2 a 8 fueron digeridos con la enzima de restricción *Bsu36I*. Nota: La sonda 1 también se hibrida débilmente con secuencias homólogas en otras partes del genoma. El locus del puerto seguro WT tiene la banda dominante de 17,5 Kb, mientras que los eventos de inserción fijados como objetivo tienen un tamaño de fragmento aumentado a 28 Kb. Para las sondas 2 y 3, las bandas *Bsu36I* de 28 Kb contienen una inserción fijada como objetivo de secuencias de ADN donante mediante recombinación homóloga. En la pista 7, el evento probablemente contiene una inserción de la molécula de ADN donante re-ordenada.

Fig. 6. Diagrama esquemático que muestra la reducción del número de copias de la secuencia diana en una planta con una mutación en la secuencia diana (M) generada por escisión con una nucleasa dirigida al sitio.

Fig. 7. Representación esquemática del diseño de la sonda de ensayo Taqman para una secuencia diana en el sitio de inserción MIR604 e interpretación de los resultados del ensayo Taqman con respecto a la mutación fijada como objetivo.

Figs. 8A-B. Estrategias para enriquecer los potenciales eventos de inserción fijados como objetivo basados en la reducción del número de copias de las secuencias diana. **(A)** Representación esquemática de potenciales tipos de mutaciones e inserción fijada como objetivo como resultado de la escisión de nucleasa fijada como objetivo en el locus diana en un experimento de inserción fijado como objetivo. M es el sitio de escisión de nucleasa dirigido al sitio; T es una secuencia ubicada alejada de M en al menos 5 nucleótidos en la región del locus diana y debe estar lo más alejada posible de M pero dentro de la región reemplazada por inserción fijada como objetivo. Sin embargo, T puede asentarse en el mismo amplicón como ensayo para M. G es una diana de ensayo para secuencias transgénicas (gen de interés (GOI)). **(B)** Llamada del número de copias de diferentes ensayos en plantas con diferentes tipos de mutaciones o inserciones en el sitio diana tal como se muestra en **(A)** utilizando ensayos de qPCR en tiempo real.

Fig.9. Dibujo esquemático de las inserciones de ADN-T de eventos transgénicos MIR604 y regiones flanqueantes. MIR604 RB FS: región genómica del maíz que flanquea el borde derecho del ADN-T; MIR604 LB FS: región genómica del maíz que flanquea el borde izquierdo del ADN-T; prUbi1: promotor de ubiquitina-1 de maíz; cPMI-01: secuencia codificante de PMI; tNOS: terminador de nopalina sintasa; mCry3A: forma sintética de la secuencia del gen Cry3A (mCry3A) de *Bacillus thuringiensis*. (Patente de EE.UU. N° 7.897.748)

Fig. 10. Inserción fijada como objetivo de un casete de expresión de gen insecticida (IC) (Exp. Cass.) y un casete de expresión que comprende el marcador seleccionable ZmEPSPS (EPSPS Exp. Cass.) del vector donante 22872 el locus transgénico en MIR604 (**Fig. 9**) mediado por TALEN expresados a partir del vector 22840. Un par de TALEN se expresa a partir de 22840 y escinde la secuencia diana de cPMI. t: tNOS-05; LBFS: secuencias genómicas de maíz que flanquean el Borde Izquierdo del ADN-T; RBFS: secuencias genómicas de maíz que flanquean el Borde Derecho del ADN-T; P1 (FE4796): SEQ ID NO: 127; P2 (FE4793): SEQ ID NO: 128; P3 (FE35035): SEQ ID NO: 132; P4 (FE35034): SEQ ID NO: 131.

Fig. 11. Inserción fijada como objetivo de casetes de expresión transgénica en el locus transgénico MIR604 (**Fig. 9**) mediada por nucleasa dirigida al sitio para reemplazar todo el casete del gen marcador PMI.

Fig. 12. Inserción fijada como objetivo de casetes de expresión transgénica en el locus transgénico MIR604 (**Fig. 9**) mediada por nucleasa dirigida al sitio para reemplazar todo el inserto de ADN-T de MIR604.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS SECUENCIAS EN EL LISTADO DE SECUENCIAS

SEQ ID NO: 1 es una secuencia de nucleótidos de la secuencia del sitio de inserción MIR604 de la línea de maíz A188. Este es el sitio de inserción de MIR604 sin un transgén de evento MIR604.

SEQ ID NO: 2 son secuencias genómicas de la línea élite de maíz NP2222 correspondientes al sitio de inserción A188 de MIR604 y sus secuencias flanqueantes.

SEQ ID NO: 3-27 son secuencias de nucleótidos que son potenciales secuencias diana para la escisión mediada por Cas9 próxima al sitio de inserción de MIR604.

ES 2 785 329 T3

- SEQ ID NO: 28 es una secuencia diana genómica de maíz , MIR604FR2.
- SEQ ID NO: 29 es una secuencia de nucleótidos que codifica un gen Cas9 de Tipo II de *Streptococcus pyogenes* SF370 optimizado con codones preferidos de maíz.
- 5 SEQ ID NO: 30 es una secuencia de aminoácidos que comprende una proteína Cas9 modificada.
- SEQ ID NO: 31-34 son secuencias de nucleótidos que pueden utilizarse para guiar la escisión de Cas9 del sitio de inserción de MIR604.
- 10 SEQ ID NO: 35 es una secuencia de nucleótidos que codifica el armazón de ARNtrac y las secuencias de terminación de PolIII.
- SEQ ID NO: 36 es una secuencia de nucleótidos que codifica un ARN de guía única (ARNsg).
- 15 SEQ ID NO: 37 es una secuencia de nucleótidos que comprende un casete de expresión que comprende prOsU3 y secuencias de codificación para el ARNsg de SEQ ID NO: 36.
- SEQ ID NO: 38 es una secuencia de nucleótidos que comprende xJHAX-03.
- 20 SEQ ID NO: 39 es una secuencia de nucleótidos que comprende xJHAX-04.
- SEQ ID NO: 40-65 son secuencias de nucleótidos seleccionadas como secuencias diana TALEN basadas en secuencias genómicas NP2222 (SEQ ID NO: 2).
- 25 SEQ ID NO: 66 es una secuencia de nucleótidos que comprende la secuencia diana TALEN MIR604FR1.
- SEQ ID NO: 67 es una secuencia de nucleótidos que comprende la secuencia diana TALEN MIR604FR2.
- 30 SEQ ID NO: 68 es una secuencia de aminoácidos de la nucleasa artificial cTNmir604Fw1-01 que reconoce la secuencia diana SEQ ID NO: 42.
- SEQ ID NO: 69 es una secuencia de aminoácidos de la nucleasa artificial cTNmir604Fw1-02 que reconoce la secuencia diana SEQ ID NO: 42.
- 35 SEQ ID NO: 70 es una secuencia de aminoácidos de la nucleasa artificial cTNmirFw1-03 que reconoce la secuencia diana SEQ ID NO: 42.
- SEQ ID NO: 71 es una secuencia de aminoácidos de la nucleasa artificial cTNmir604Rv1-01 que reconoce la secuencia diana SEQ ID NO: 43.
- 40 SEQ ID NO: 72 es una secuencia de aminoácidos de la nucleasa artificial cTNmir604Rv1-02 que reconoce la secuencia diana SEQ ID NO: 43.
- SEQ ID NO: 73 es una secuencia de aminoácidos de la nucleasa artificial cTNmir604Rv1-03 que reconoce la secuencia diana SEQ ID NO: 43.
- 45 SEQ ID NO: 74 es una secuencia de aminoácidos de la nucleasa artificial cTNmir604Fw2-01 que reconoce la secuencia diana SEQ ID NO: 53.
- 50 SEQ ID NO: 75 es una secuencia de aminoácidos de la nucleasa artificial cTNmir604Fw2-02 que reconoce la secuencia diana SEQ ID NO: 53.
- SEQ ID NO: 76 es una secuencia de aminoácidos de la nucleasa artificial cTNmir604Fw2-03 que reconoce la secuencia diana SEQ ID NO: 53.
- 55 SEQ ID NO: 77 es una secuencia de aminoácidos de la nucleasa artificial cTNmire604RV2-01 que reconoce la secuencia diana SEQ ID NO: 54.
- SEQ ID NO: 78 es una secuencia de aminoácidos de la nucleasa artificial cTNmir604RV2-02 que reconoce la secuencia diana SEQ ID NO: 54.
- 60 SEQ ID NO: 79 es una secuencia de aminoácidos de la nucleasa artificial cTNmir604Rv2-03 que reconoce la secuencia diana SEQ ID NO: 54.
- 65

ES 2 785 329 T3

- SEQ ID NO: 80 es una secuencia de aminoácidos de la nucleasa artificial cTNmir604Fw2-05 que reconoce la secuencia diana SEQ ID NO: 53.
- 5 SEQ ID NO: 81 es una secuencia de aminoácidos de la nucleasa artificial cTNmir604Rv2-04 que reconoce la secuencia diana SEQ ID NO: 65.
- SEQ ID NO: 82 es una secuencia de nucleótidos que codifica la molécula de nucleasa artificial de longitud completa cTNmir604Fw1-01 (SEQ ID NO: 68).
- 10 SEQ ID NO: 83 es una secuencia de nucleótidos que codifica la molécula de nucleasa artificial truncada cTNmir604Fw1-03 (SEQ ID NO: 70).
- SEQ ID NO: 84 es una secuencia de nucleótidos que codifica la molécula de nucleasa artificial de longitud completa cTNmir604Rv1-01 (SEQ ID NO: 71).
- 15 SEQ ID NO: 85 es una secuencia de nucleótidos que codifica la molécula de nucleasa artificial truncada cTNmir604Rv1-03 (Seq.ID No.72).
- SEQ ID NO: 86 es una secuencia de nucleótidos que codifica la molécula de nucleasa artificial de longitud completa cTNmir604Fw2-01 (SEQ ID NO: 72).
- 20 SEQ ID NO: 87 es una secuencia de nucleótidos que codifica la molécula de nucleasa artificial truncada cTNmir604Fw2-03 (SEQ ID NO: 73).
- SEQ ID NO: 88 es una secuencia de nucleótidos que codifica la molécula de nucleasa artificial truncada cTNmir604Fw2-05 (SEQ ID NO: 80).
- 25 SEQ ID NO: 89 es una secuencia de nucleótidos que codifica la molécula de nucleasa artificial de longitud completa cTNmir604Rv2-01 (SEQ ID NO: 77).
- 30 SEQ ID NO: 90 es una secuencia de nucleótidos que codifica la molécula de nucleasa artificial truncada cTNmir604Rv2-03 (SEQ ID NO: 79).
- SEQ ID NO: 91 es una secuencia de nucleótidos que codifica la molécula de nucleasa artificial truncada cTNmir604Rv2-04 (SEQ ID NO.81).
- 35 SEQ ID NO: 92-97 son secuencias de nucleótidos útiles para utilizar la qPCR para la detección de mutaciones dentro de la secuencia diana SEQ ID NO.67.
- SEQ ID NO: 98 es una secuencia de nucleótidos que comprende un gen que codifica la fosfomanosa isomerasa (cPMI-01).
- 40 SEQ ID NO: 99-101 son secuencias de nucleótidos que comprenden secuencias diana PMI para modificación genómica mediadas por TALEN.
- 45 SEQ ID NO: 102-107 son secuencias de nucleótidos que comprenden dianas de secuencia TALEN dentro de SEQ ID NO: 98.
- SEQ ID NO: 108 es una secuencia de aminoácidos de la proteína nucleasa artificial TLN_PMIFW1a que reconoce SEQ ID NO: 102.
- 50 SEQ ID NO: 109 es una secuencia de aminoácidos de la proteína nucleasa artificial TLN_PMIRV1a que reconoce SEQ ID NO: 103.
- SEQ ID NO: 110 es una secuencia de aminoácidos de la proteína nucleasa artificial TLN_PMIFW3 que reconoce SEQ ID NO: 106.
- 55 SEQ ID NO: 111 es una secuencia de aminoácidos de la proteína nucleasa artificial TLN_PMIRV3 que reconoce SEQ ID NO: 107.
- 60 SEQ ID NO: 112 es una secuencia de nucleótidos que codifica la proteína nucleasa artificial TLN_PMIFW1a.
- SEQ ID NO: 113 es una secuencia de nucleótidos que codifica la proteína nucleasa artificial TLN_PMIRV1a.
- 65 SEQ ID NO: 114 es una secuencia de nucleótidos que codifica la proteína nucleasa artificial TLN_PMIFW3.

SEQ ID NO: 115 es una secuencia de nucleótidos que codifica la proteína nucleasa artificial TLN_PMIRV3.

SEQ ID NO: 116-118 son secuencias de nucleótidos que comprenden las secuencias diana de nucleasa artificial.

5 SEQ ID NO: 119 es una secuencia de aminoácidos de la proteína nucleasa artificial TLN_rPMIFW1-01 que reconoce
SEQ ID NO: 117.

SEQ ID NO: 120 es una secuencia de aminoácidos de la proteína nucleasa artificial TLN_rPMIRv1-01 que reconoce
SEQ ID NO: 118.

10 SEQ ID NO: 121 es una secuencia de aminoácidos de la proteína nucleasa artificial TLN_rPMIFw1-02 que reconoce
SEQ ID NO: 117.

15 SEQ ID NO: 122 es una secuencia de aminoácidos de la proteína nucleasa artificial TLN_rPMIRv1-02 que reconoce
SEQ ID NO: 118.

SEQ ID NO: 123 es una secuencia de nucleótidos que codifica la proteína nucleasa artificial TLN_rPMIFW1-01.

20 SEQ ID NO: 124 es una secuencia de nucleótidos que codifica la proteína nucleasa artificial TLN_rPMIRv1-01.

SEQ ID NO: 125 es una secuencia de nucleótidos que codifica la proteína nucleasa artificial TLN_rPMIFW1-02.

SEQ ID NO: 126 es una secuencia de nucleótidos que codifica la proteína nucleasa artificial TLN_rPMIRv1-02.

25 SEQ ID NO: 127-132 son secuencias de nucleótidos útiles para la detección de integración fijada como objetivo.

SEQ ID NO: 133 es una secuencia de nucleótidos del casete de expresión de PMI (prZmUbi1-cPMI-tNOS) presente
en el inserto de ADN-T de plantas transgénicas de evento MIR604 (**Fig. 9**).

30 SEQ ID NO: 134 es una secuencia de nucleótidos del inserto de ADN-T presente en el evento MIR604 y de las
regiones del borde derecho e izquierdo (**Fig. 9**).

SEQ ID NO: 135 es una secuencia de nucleótidos del locus transgénico del evento MIR604 que incluye el inserto de
ADN-T completo y las regiones de ADN genómico flanqueantes, incluyendo RBFS y LBFS (**Fig. 9**).

35 SEQ ID NO: 136 es una secuencia de nucleótidos de la región genómica del maíz B73 próxima a la región del borde
derecho (RB) de inserción de ADN-T MIR604 (RBFS en la **Fig. 9**).

40 SEQ ID NO: 137 es una secuencia de nucleótidos de la región genómica del maíz B73 próxima a la región del borde
izquierdo (LB) de inserción de ADN-T MIR604 (LBFS en la **Fig. 9**).

SEQ ID NO: 138 es una secuencia de nucleótidos de la secuencia genómica de la línea de maíz de élite NP2222
correspondiente a las secuencias del locus del sitio de inserción B73 de MIR604 próximas a la región RB incluyendo
el RBFS (**Fig. 9**).

45 SEQ ID NO: 139 es una secuencia de nucleótidos de la secuencia genómica de la línea de maíz de élite NP2222
correspondiente a las secuencias del locus del sitio de inserción de ADN-T B73 de MIR604 próximas a la región LB
incluyendo el LBFS (**Fig. 9**).

50 DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

Esta descripción no pretende ser un catálogo detallado de todas las diferentes formas en que se puede implementar
la invención, o de todas las características que se pueden añadir a la presente invención. Por ejemplo, las
características ilustradas con respecto a una realización pueden incorporarse en otras realizaciones, y las
55 características ilustradas con respecto a una realización particular pueden eliminarse de esa realización. Además,
numerosas variaciones y adiciones a las diversas realizaciones sugeridas en esta memoria resultarán evidentes para
los expertos en la técnica a la vista de la presente divulgación, que no se apartan de la presente invención. Por lo
tanto, las siguientes descripciones pretenden ilustrar algunas realizaciones particulares de la invención, y no
especificar exhaustivamente todas las permutaciones, combinaciones y variaciones de las mismas.

60 Salvo que se defina de otro modo, todos los términos y expresiones técnicos y científicos utilizados en esta memoria
tienen el mismo significado que el comprendido habitualmente por un experto en la materia a la que pertenece esta
invención. La terminología utilizada en la descripción de la invención en esta memoria es con el fin de describir
realizaciones particulares únicamente y no pretende ser limitante de la invención. .

65

Se proporcionan las siguientes definiciones y métodos para definir mejor la presente invención y para guiar a los expertos ordinarios en la técnica en la práctica de la presente invención. A menos que se señale de otro modo, los términos y las expresiones utilizados en esta memoria se han de entender de acuerdo con el uso convencional por los expertos ordinarios en la técnica relevante. Definiciones de términos y expresiones comunes en biología molecular también se pueden encontrar en Rieger et al., Glossary of Genetics: Classical and Molecular, 5ª edición, Springer-Verlag: Nueva York, 1994.

"Precisión" de un método de amplificación tal como un método de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) (p. ej., TaqMan) significa el grado de coincidencia entre un resultado del ensayo y un valor de referencia aceptado.

El término "amplificado", tal como se utiliza en esta memoria, se refiere a la construcción de múltiples copias de una molécula de ácido nucleico o múltiples copias complementarias a la molécula de ácido nucleico utilizando como molde al menos una de las moléculas de ácido nucleico. Véase, p. ej., *Diagnostic Molecular Microbiology: Principles and Applications*, D. H. Persing et al., Ed., American Society for Microbiology, Washington, D.C. (1993). El producto de la amplificación se denomina un amplicón.

Una "secuencia codificante" es una secuencia de ácido nucleico que se transcribe en forma de ARN tal como ARNm, ARNr, ARNt, ARNnp, ARN sentido o ARN antisentido. En algunas realizaciones, el ARN se traduce luego en un organismo para producir una proteína.

El "coeficiente de linealidad (R^2)" es el coeficiente de correlación de una curva estándar obtenida por análisis de regresión lineal.

"Intervalo dinámico", tal como se utiliza en esta memoria, significa el intervalo de concentraciones de ADN sobre el cual el método de la invención se realiza de manera lineal con un nivel aceptable de exactitud y precisión.

"Kit de detección", tal como se utiliza en esta memoria, se refiere a un kit utilizado para detectar ADN diana a partir de los eventos de interés en una muestra que comprende sondas de ácido nucleico y cebadores de la presente invención, que se procesará específicamente bajo condiciones óptimas para una secuencia de ADN diana, y otros materiales necesarios para permitir la hibridación de ácidos nucleicos y/o métodos de amplificación.

Tal como se utiliza en esta memoria, la expresión "evento" transgénico se refiere a una planta recombinante producida por transformación y regeneración de una célula vegetal única con ADN heterólogo, por ejemplo, un casete de expresión que incluye uno o más genes de interés (p. ej., transgenes). El término "evento" se refiere al transformante original y/o a la progenie del transformante que incluye el ADN heterólogo. El término "evento" también se refiere a la progenie producida por un cruce sexual entre el transformante y otra línea. Incluso después del retrocruzamiento reiterado con un progenitor recurrente, el ADN insertado y el ADN flanqueante del progenitor transformado se encuentran presentes en la progenie del cruce en la misma ubicación cromosómica. Normalmente, la transformación de tejido vegetal produce múltiples eventos, cada uno de los cuales representa la inserción de una construcción de ADN en una localización diferente en el genoma de una célula vegetal. En función de la expresión del transgén u otras características deseables, se selecciona un evento particular. Por lo tanto, "MIR604 evento", "MIR604" o "evento MIR604", tal como se utiliza en esta memoria, significa el transformante original MIR604 y/o la progenie del transformante MIR604 (Patentes de EE.UU. N°s 7.361.813, 7.897.748, 8.354.519 y 8.884.102).

El sitio de inserción del evento MIR604 tiene muchas características que lo convierten en un buen candidato para un sitio diana para modificaciones genómicas. Dichas características incluyen que el sitio no interrumpa genes nativos, que el sitio no se encuentre en una región altamente repetitiva de la secuencia de nucleótidos, que la secuencia de nucleótidos del sitio no se repita significativamente en otras partes del genoma del maíz, y se sabe que los transgenes introducidos en este sitio tienen buenos niveles de expresión, tanto en la planta transformada inicialmente, en otras variedades de maíz en las que se ha introducido el evento MIR604, como en la progenie de las plantas del evento MIR604, para múltiples generaciones. Adicionalmente, el éxito del evento MIR604 como producto comercial y en un exitoso programa de mejora a nivel comercial, en donde el evento MIR604 se introduce en al menos docenas de variedades de maíz y ha demostrado una excelente expresión de los transgenes en múltiples condiciones ambientales, indica que el sitio de inserción del evento MIR604 es un buen candidato para la inserción fijada como objetivo.

"Casete de expresión", tal como se utiliza en esta memoria, significa una molécula de ácido nucleico capaz de dirigir la expresión de una secuencia de nucleótidos particular en una célula huésped apropiada, que comprende un promotor enlazado operativamente a la secuencia de nucleótidos de interés, típicamente una región codificante, que está operativamente enlazada a señales de terminación. También comprende normalmente las secuencias requeridas para la traducción correcta de la secuencia de nucleótidos. La región codificante codifica generalmente una proteína de interés, pero también puede codificar un ARN funcional de interés, por ejemplo ARN antisentido o un ARN no traducido, en el sentido o la dirección antisentido. El casete de expresión también puede comprender secuencias no necesarias en la expresión directa de una secuencia de nucleótidos de interés, pero que están presentes debido a los convenientes sitios de restricción para la separación del casete de un vector de expresión. El casete de expresión que comprende la secuencia de nucleótidos de interés puede ser quimérico, lo que significa que al menos uno de sus componentes es heterólogo con respecto a al menos uno de sus otros componentes. El casete de expresión también

puede ser de origen natural, pero que se haya obtenido en una forma recombinante útil para la expresión heteróloga. Típicamente, sin embargo, el casete de expresión es heterólogo con respecto al huésped, es decir, la secuencia de ácido nucleico particular del casete de expresión no se produce de forma natural en la célula huésped y debe haberse introducido en la célula huésped o en un ancestro de la célula huésped. mediante un proceso de transformación conocido en la técnica. La expresión de la secuencia de nucleótidos en el casete de expresión puede estar controlada por un promotor constitutivo o un promotor inducible que inicia la transcripción solamente cuando la célula huésped se expone a algún estímulo externo particular. En el caso de un organismo multicelular, tal como una planta, el promotor también puede ser específico para un tejido, un órgano o una etapa de desarrollo particular. A un casete de expresión, o fragmento del mismo, también se le puede aludir como "secuencia insertada" o "secuencia de inserción" cuando se transforma en una planta.

Un "gen" es una región definida que está ubicada dentro de un genoma y que, además de la secuencia de ácido nucleico codificadora antes mencionada, comprende otras secuencias de ácido nucleico, principalmente reguladoras, responsables del control de la expresión, es decir, la transcripción y traducción de la porción codificadora. Un gen puede comprender también otras secuencias no traducidas 5' y 3', y secuencias de terminación. Otros elementos que pueden estar presentes son, por ejemplo, los intrones.

La expresión "gen de interés" se refiere a cualquier gen que, cuando se transfiere a una planta, confiere a la planta las características deseadas, tales como resistencia a antibióticos, resistencia a virus, resistencia a insectos, resistencia a enfermedades o resistencia a otras plagas, tolerancia a herbicidas, un valor nutricional mejorado, un rendimiento mejorado en un proceso industrial o una capacidad reproductiva modificada. El "gen de interés" también puede ser aquel que se transfiere a las plantas para producir enzimas o metabolitos con valor comercial en la planta.

"Genotipo", tal como se utiliza en esta memoria, es el material genético heredado de plantas parentales, no todo del mismo se expresa necesariamente en las plantas descendientes. A modo de ejemplo, el genotipo MIR604 se refiere al material genético heterólogo transformado en el genoma de una planta, así como al material genético que flanquea la secuencia insertada.

Tal como se utiliza en esta memoria, "heterólogo" se refiere a una molécula de ácido nucleico o secuencia de nucleótidos no asociada de forma natural con una célula huésped en la que se introduce, que procede de otra especie o que es de la misma especie u organismo, pero que está modificada de su forma original o la forma expresada principalmente en la célula, incluidas múltiples copias que se producen de forma no natural de una secuencia de ácido nucleico que se produce de forma natural. Por lo tanto, una secuencia de nucleótidos derivada de un organismo o especie diferente de la de la célula en la que se introduce la secuencia de nucleótidos, es heteróloga con respecto a esa célula y los descendientes de la célula. Además, una secuencia de nucleótidos heteróloga incluye una secuencia de nucleótidos derivada de e insertada en el mismo tipo de célula natural original, pero que está presente en un estado no natural, p. ej., presente en un número de copias diferente, y/o bajo el control de secuencias reguladoras diferentes a las encontradas en el estado nativo de la molécula de ácido nucleico. Una secuencia de ácido nucleico también puede ser heteróloga a otras secuencias de ácido nucleico con las que puede estar asociada, por ejemplo, en una construcción de ácido nucleico, tal como. p. ej., un vector de expresión. Como un ejemplo no limitativo, un promotor puede estar presente en una construcción de ácido nucleico en combinación con uno o más elementos reguladores y/o secuencias codificantes que no se producen de forma natural en asociación con ese promotor particular, es decir, son heterólogos al promotor.

Una secuencia de ácido nucleico "homóloga" es una secuencia de ácido nucleico asociada de forma natural con una célula huésped en la que se introduce. Una secuencia de ácido nucleico homóloga también puede ser una secuencia de ácido nucleico que está asociada de forma natural con otras secuencias de ácido nucleico que pueden estar presentes, p. ej., en una construcción de ácido nucleico. Como un ejemplo no limitativo, un promotor puede estar presente en una construcción de ácido nucleico en combinación con uno o más elementos reguladores y/o secuencias codificantes que se producen de forma natural en asociación con ese promotor particular, es decir, son homólogas al promotor.

"Enlazada operativamente" se refiere a la asociación de secuencias de ácido nucleico en una única secuencia de ácido nucleico, de modo que la función de uno afecte la función del otro. Por ejemplo, un promotor está enlazado operativamente con una secuencia codificante o ARN funcional cuando es capaz de afectar la expresión de esa secuencia codificante o ARN funcional (es decir, la secuencia codificante o ARN funcional está bajo el control transcripcional del promotor). Las secuencias codificantes con orientación sentido o antisentido pueden estar unidas de forma funcional a secuencias reguladoras.

"Cebadores", tal como se utiliza en esta memoria, son ácidos nucleicos aislados que se reasocian en una cadena de ADN diana complementaria mediante hibridación de ácido nucleico para formar un híbrido entre el cebador y la cadena de ADN diana, luego se extiende a lo largo de la cadena de ADN diana mediante una polimerasa, tal como ADN polimerasa. Pares o conjuntos de cebadores pueden utilizarse para la amplificación de una molécula de ácido nucleico, por ejemplo, mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) u otros métodos de amplificación de ácido nucleico.

Una "sonda" es una molécula de ácido nucleico aislada que es complementaria a una porción de una molécula de ácido nucleico diana y se utiliza típicamente para detectar y/o cuantificar la molécula de ácido nucleico diana. Por lo tanto, en algunas realizaciones, una sonda puede ser una molécula de ácido nucleico aislada a la que se une un resto detectable o una molécula informadora, tal como un isótopo radiactivo, ligando, agente quimioluminiscente, agente fluorescente o enzima. Sonditas de acuerdo con la presente invención pueden incluir no solo ácidos desoxirribonucleicos o ribonucleicos, sino también poliamidas y otros materiales de sonda que se unen específicamente a una secuencia de ácido nucleico diana y pueden utilizarse para detectar la presencia y/o cuantificar la cantidad de esa secuencia de ácido nucleico diana.

Una sonda TaqMan está diseñada de modo que se reasocia dentro de una región de ADN amplificada mediante un conjunto específico de cebadores. A medida que la polimerasa Taq extiende el cebador y sintetiza la cadena naciente a partir de un molde de cadena sencilla de 3' a 5' de la cadena complementaria, la exonucleasa de 5' a 3' de la polimerasa extiende la cadena naciente a través de la sonda y, en consecuencia, degrada la sonda que se ha reasociado al molde. La degradación de la sonda libera el fluoróforo de ella y rompe la proximidad cercana al inhibidor, aliviando así el efecto de enfriamiento brusco y permitiendo la fluorescencia del fluoróforo. Por lo tanto, la fluorescencia detectada en el ciclador térmico cuantitativo de PCR es directamente proporcional al fluoróforo liberado y la cantidad de molde de ADN presente en la PCR.

Los cebadores y las sondas generalmente tienen entre 5 y 100 nucleótidos o más de longitud. En algunas realizaciones, los cebadores y las sondas pueden tener al menos 20 nucleótidos o más de longitud, o al menos 25 nucleótidos o más, o al menos 30 nucleótidos o más de longitud. Dichos cebadores y sondas se hibridan específicamente con una secuencia diana en condiciones de hibridación óptimas tal como se conocen en la técnica. Los cebadores y las sondas de acuerdo con la presente invención pueden tener una complementariedad de secuencia completa con la secuencia diana, aunque sondas que difieren de la secuencia diana y que retienen la capacidad de hibridarse con las secuencias diana pueden diseñarse mediante métodos convencionales de acuerdo con la invención.

Métodos para preparar y utilizar sondas y cebadores se describen, por ejemplo, en Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2ª ed., vol. 1-3, ed. Sambrook et al., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 1989. Los pares de cebadores de PCR pueden derivarse de una secuencia conocida, por ejemplo, utilizando programas informáticos destinados a ese fin.

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es una técnica para "amplificar" un trozo particular de ADN. Con el fin de realizar la PCR, se debe conocer al menos una parte de la secuencia de nucleótidos de la molécula de ADN que se ha de replicar. En general, se utilizan cebadores u oligonucleótidos cortos que son complementarios (p. ej., sustancialmente complementarios o totalmente complementarios) a la secuencia de nucleótidos en el extremo 3' de cada una de las cadenas del ADN a amplificar (secuencia conocida). La muestra de ADN se calienta para separar sus cadenas y se mezcla con los cebadores. Los cebadores se hibridan con sus secuencias complementarias en la muestra de ADN. La síntesis comienza (dirección 5' a 3') utilizando la cadena de ADN original como molde. La mezcla de reacción debe contener los cuatro desoxinucleótidos trifosfatos (dATP, dCTP, dGTP, dTTP) y una ADN polimerasa. La polimerización continúa hasta que cada una de las cadenas recién sintetizadas ha avanzado lo suficiente como para contener la secuencia reconocida por el otro cebador. Una vez que esto ocurre, se crean dos moléculas de ADN que son idénticas a la molécula original. Estas dos moléculas se calientan para separar sus cadenas y el proceso se repite. Cada uno de los ciclos duplica el número de moléculas de ADN. Utilizando equipos automatizados, cada uno de los ciclos de replicación puede completarse en menos de 5 minutos. Después de 30 ciclos, lo que comenzó como una sola molécula de ADN se amplificó en más de un billón de copias ($2^{30} = 1,02 \times 10^9$).

Los oligonucleótidos de un par de cebadores de oligonucleótidos son complementarios a las secuencias de ADN ubicadas en cadenas de ADN opuestas y que flanquean la región a amplificar. Los cebadores reasociados se hibridan con las cadenas de ADN recién sintetizadas. El primer ciclo de amplificación dará como resultado dos nuevas cadenas de ADN, cuyo extremo 5' está fijado por la posición del cebador de oligonucleótidos, pero cuyo extremo 3' es variable (extremos 3' 'desiguales'). Las dos cadenas nuevas pueden servir a su vez como moldes para la síntesis de cadenas complementarias de la longitud deseada (los extremos 5' están definidos por el cebador y los extremos 3' están fijos porque la síntesis no puede pasar más allá del extremo del cebador opuesto). Después de unos pocos ciclos, el producto de longitud fija deseado comienza a predominar.

Una reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa (qPCR), a la que también se alude como reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real, controla la acumulación de un producto de ADN de una reacción PCR en tiempo real. qPCR es una técnica de laboratorio de biología molecular basada en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), que se utiliza para amplificar y cuantificar simultáneamente una molécula de ADN fijada como objetivo. Incluso una copia de una secuencia específica puede amplificarse y detectarse en la PCR. La reacción de PCR genera copias de un molde de ADN exponencialmente. Esto da como resultado una relación cuantitativa entre la cantidad de secuencia diana de partida y la cantidad de producto de PCR acumulada en cualquier ciclo particular. Debido a los inhibidores de la reacción de polimerasa que se encuentran con el molde, la limitación de reactivos o la acumulación de moléculas de pirofosfato, la reacción PCR finalmente deja de generar el molde a una velocidad exponencial (es decir, la fase de meseta), lo que hace que la cuantificación del punto final de los productos de PCR no sea fiable. Por lo tanto, las reacciones duplicadas pueden generar cantidades variables de producto de PCR. Solo durante la fase exponencial

de la reacción PCR es posible extrapolar de nuevo con el fin de determinar la cantidad de partida de secuencia de molde. La medición de los productos de PCR a medida que se acumulan (es decir, PCR cuantitativa en tiempo real) permite la cuantificación en la fase exponencial de la reacción y, por lo tanto, elimina la variabilidad asociada con la PCR convencional. En un ensayo de PCR en tiempo real, se detecta una reacción positiva mediante la acumulación de una señal fluorescente. Para una o más secuencias específicas en una muestra de ADN, la PCR cuantitativa permite tanto la detección como la cuantificación. La cantidad puede ser un número absoluto de copias o una cantidad relativa cuando se normaliza a la entrada de ADN o genes de normalización adicionales. Desde la primera documentación de PCR en tiempo real, se ha utilizado para un número creciente y diverso de aplicaciones, incluidos estudios de expresión de ARNm, mediciones del número de copias de ADN en ADN genómicos o virales, ensayos de discriminación alélica, análisis de expresión de variantes específicas de corte y empalme de genes y expresión génica en tejidos embebidos en parafina y células micro-disecionadas capturadas con láser.

Tal como se utiliza en esta memoria, la expresión "valor Ct" se refiere a "ciclo umbral", que se define como el "número de ciclos fraccional en el que la cantidad de diana amplificada alcanza un umbral fijo". En algunas realizaciones, representa una intersección entre una curva de amplificación y una línea de umbral. La curva de amplificación está típicamente en forma de una "S", lo que indica el cambio de fluorescencia relativa de cada una de las reacciones (eje Y) en un ciclo dado (eje X), que en algunas realizaciones se registra durante la PCR mediante un instrumento de PCR en tiempo real. La línea de umbral es en algunas realizaciones el nivel de detección en el que una reacción alcanza una intensidad de fluorescencia por encima del fondo. Véase Livak y Schmittgen (2001) 25 *Methods* 402-408. Es una medida relativa de la concentración de la diana en la PCR. Generalmente, los buenos valores de Ct para ensayos cuantitativos tales como qPCR están en algunas realizaciones en el intervalo de 10-40 para un gen de referencia dado. Los niveles de Ct son inversamente proporcionales a la cantidad de ácido nucleico diana en la muestra (es decir, cuanto más bajo sea el nivel de Ct, mayor será la cantidad de ácido nucleico diana detectable en la muestra). Además, los buenos valores de Ct para ensayos cuantitativos tales como qPCR muestran un intervalo de respuesta lineal con diluciones proporcionales de ADN diana.

En algunas realizaciones, la qPCR se realiza bajo condiciones en las que el valor de Ct puede recogerse en tiempo real para análisis cuantitativos. Por ejemplo, en un experimento típico de qPCR, la amplificación de ADN se controla en cada uno de los ciclos de PCR durante la fase de extensión. La cantidad de fluorescencia generalmente aumenta por encima del fondo cuando el ADN está en la fase lineal de amplificación logarítmica. En algunas realizaciones, el valor de Ct se recoge en este momento.

El término "transformación", tal como se utiliza en esta memoria, se refiere a la transferencia de una molécula de ácido nucleico al genoma de una célula huésped, dando como resultado una herencia genéticamente estable. En algunas realizaciones, la introducción en una planta, parte de planta y/o célula vegetal es a través de transformación mediada por bacterias, transformación por bombardeo de partículas, transformación mediada por fosfato de calcio, transformación mediada por ciclodextrina, electroporación, transformación mediada por liposomas, transformación mediada por nanopartículas, transformación mediada por polímeros, suministro de ácido nucleico mediado por virus, suministro de ácido nucleico mediado por monocristales, microinyección, tratamiento por ultrasonidos, infiltración, transformación mediada por polietilenglicol, transformación de protoplastos o cualquier otro mecanismo eléctrico, químico, físico y/o biológico que da como resultado la introducción de ácido nucleico en la planta, parte de la planta y/o célula de la misma, o cualquier combinación de los mismos.

Procedimientos para transformar plantas son bien conocidos y rutinarios en la técnica y se describen a lo largo de la bibliografía. Ejemplos no limitantes de métodos para la transformación de plantas incluyen la transformación a través del suministro de ácido nucleico mediado por bacterias (*p. ej.* a través de bacterias del género *Agrobacterium*), suministro de ácido nucleico mediado por virus, carburo de silicio o suministro de ácido nucleico mediado por monocristales de ácido nucleico, suministro de ácido nucleico mediado por liposomas, microinyección, bombardeo de micropartículas, transformación mediada por fosfato de calcio, transformación mediada por ciclodextrina, electroporación, transformación mediada por nanopartículas, tratamiento por ultrasonidos, infiltración, absorción de ácido nucleico mediada por PEG, así como cualquier otra sustancia química eléctrica, mecanismo físico (mecánico) y/o biológico que da como resultado la introducción de ácido nucleico en la célula vegetal, incluida cualquier combinación de los mismos. Guías generales de diversos métodos de transformación de plantas conocidos en la técnica incluyen Miki et al. ("Procedures for Introducing Foreign DNA into Plants" en *Methods in Plant Molecular Biology and Biotechnology*, Glick, B. R. y Thompson, J. E., Eds. (CRC Press, Inc., Boca Raton, 1993), páginas 67-88) y Rakowoczy-Trojanowska (*Cell Mol Biol Lett* 7:849-858 (2002)).

La transformación mediada por *Agrobacterium* es un método comúnmente utilizado para transformar plantas debido a su alta eficiencia de transformación y debido a su amplia utilidad con muchas especies diferentes. La transformación mediada por *Agrobacterium* implica típicamente la transferencia del vector binario que porta el ADN extraño de interés a una cepa de *Agrobacterium* apropiada que puede depender del complemento de genes vir portados por la cepa de *Agrobacterium* huésped ya sea en un plásmido Ti co-residente o cromosómicamente (Uknes et al. 1993, *Plant Cell* 5:159-169). La transferencia del vector binario recombinante a *Agrobacterium* se puede lograr mediante un procedimiento de apareamiento tri-parental utilizando *Escherichia coli* que porta el vector binario recombinante, una cepa auxiliar de *E. coli* que porta un plásmido que es capaz de movilizar el vector binario recombinante a la cepa de

Agrobacterium diana. Alternativamente, el vector binario recombinante puede transferirse a *Agrobacterium* mediante transformación de ácido nucleico (Höfgen y Willmitzer 1988, *Nucleic Acids Res* 16:9877).

5 La transformación de una planta por *Agrobacterium* recombinante implica habitualmente el co-cultivo de *Agrobacterium* con explantes de la planta y sigue métodos bien conocidos en la técnica. El tejido transformado se regenera típicamente en un medio de selección que porta un marcador de resistencia a antibióticos o herbicidas entre los bordes del ADN-T del plásmido binario.

10 Otro método para transformar plantas, partes de plantas y células vegetales implica propulsar partículas inertes o biológicamente activas en los tejidos y células vegetales. Véanse, p. ej., las Patentes de EE.UU. N°s 4.945.050; 5.036.006 y 5.100.792. Generalmente, este método implica propulsar partículas inertes o biológicamente activas en las células vegetales bajo condiciones efectivas para penetrar la superficie externa de la célula y permitir la incorporación dentro del interior de la misma. Cuando se utilizan partículas inertes, el vector puede introducirse en la célula recubriendo las partículas con el vector que contiene el ácido nucleico de interés. Alternativamente, una célula o células pueden estar rodeadas por el vector, de modo que el vector sea transportado a la célula por la estela de la partícula. Partículas biológicamente activas (p. ej., células de levadura secas, bacterias secas o un bacteriófago, cada una de las cuales contiene uno o más ácidos nucleicos que se busca introducir) también se pueden propulsar al tejido vegetal.

20 Por lo tanto, en realizaciones particulares de la presente invención, una célula vegetal puede transformarse mediante cualquier método conocido en la técnica y tal como se describe en esta memoria y las plantas intactas pueden regenerarse a partir de estas células transformadas utilizando cualquiera de una diversidad de técnicas conocidas. La regeneración de plantas a partir de células vegetales, cultivo de tejidos vegetales y/o protoplastos cultivados se describe, por ejemplo, en Evans et al. (Handbook of Plant Cell Cultures, Vol. 1, MacMilan Publishing Co. Nueva York (1983)); y Vasil I. R. (ed.) (Cell Culture and Somatic Cell Genetics of Plants, Acad. Press, Orlando, Vol. I (1984), y Vol. II (1986)). Métodos de selección para plantas transgénicas transformadas, células vegetales y/o cultivo de tejidos vegetales son rutinarios en la técnica y pueden emplearse en los métodos de la invención proporcionados en esta memoria.

30 Por "introducir de forma estable" o "introducido de forma estable" en el contexto de un polinucleótido introducido en una célula se pretende que el polinucleótido introducido se incorpore establemente en el genoma de la célula y, por lo tanto, la célula se transforma establemente con el polinucleótido.

35 "Transformación estable" o "transformado de forma estable", tal como se utiliza en esta memoria, significa que un ácido nucleico se introduce en una célula y se integra en el genoma de la célula. Como tal, el ácido nucleico integrado es capaz de ser heredado por la progenie del mismo, más particularmente, por la progenie de múltiples generaciones sucesivas. "Genoma", tal como se utiliza en esta memoria, también incluye el genoma nuclear y el del plástido y, por lo tanto, incluye la integración del ácido nucleico en, por ejemplo, el genoma del cloroplasto. La transformación estable, tal como se utiliza en esta memoria, también puede referirse a un transgen que se mantiene extracromosómicamente, por ejemplo, como un minicromosoma.

40 La transformación estable de una célula se puede detectar, por ejemplo, mediante un ensayo de hibridación de borrones Southern de ADN genómico de la célula con secuencias de ácido nucleico que se hibridan específicamente con una secuencia de nucleótidos de un transgen introducido en un organismo (p. ej., una planta). La transformación estable de una célula se puede detectar, por ejemplo, mediante un ensayo de hibridación de borrones Northern de ARN de la célula con secuencias de ácido nucleico que se hibridan específicamente con una secuencia de nucleótidos de un transgen introducido en una planta u otro organismo. La transformación estable de una célula también se puede detectar, p. ej. mediante una reacción en cadena de la polimerasa (PCR) u otras reacciones de amplificación tal como se conocen bien en la técnica, empleando secuencias de cebador específicas que se hibridan con la o las secuencias diana de un transgén, lo cual resulta en la amplificación de la secuencia del transgén, que puede detectarse de acuerdo con métodos estándar. La transformación también puede detectarse mediante protocolos de secuenciación y/o hibridación directa bien conocidos en la técnica.

55 El "proceso de transformación y regeneración" se refiere al proceso de introducir establemente un transgén en una célula vegetal y regenerar una planta a partir de la célula vegetal transgénica. Tal como se utiliza en esta memoria, la transformación y la regeneración incluyen el proceso de selección, mediante el cual un transgén comprende un marcador seleccionable y la célula transformada ha incorporado y expresado el transgén, de modo que la célula transformada sobrevivirá y florecerá en el desarrollo en presencia del agente de selección. "Regeneración" se refiere al crecimiento de una planta entera a partir de una célula vegetal, un grupo de células vegetales o un trozo de planta tal como un protoplasto, callo o parte de tejido.

60 Tal como se utiliza en la descripción de las realizaciones de la invención y las reivindicaciones adjuntas, las formas en singular "un", "una" y "el", "la" pretenden incluir las formas en plural también, a menos que el contexto indique claramente lo contrario.

65

Tal como se utiliza en esta memoria, "y/o" se refiere a y abarca todas y cada una de las combinaciones posibles de uno o más de los elementos enumerados asociados.

El término "aproximadamente", tal como se utiliza en esta memoria cuando se refiere a un valor medible tal como una cantidad de un compuesto, dosis, tiempo, temperatura, y similares, pretende abarcar variaciones de 20%, 10%, 5%, 1% , 0,5% o incluso 0,1% de la cantidad especificada.

Los términos "comprenden", "comprende" y/o la expresión "que comprende", cuando se utilizan en esta memoria descriptiva, especifican la presencia de características, números enteros, etapas, operaciones, elementos y/o componentes establecidos, pero no excluyen la presencia o adición de una o más de otras características, números enteros, etapas, operaciones, elementos, componentes y/o grupos de los mismos.

Tal como se utiliza en esta memoria, la expresión de transición "que consiste esencialmente en" significa que el alcance de una reivindicación debe interpretarse abarcando los materiales o etapas especificados en la reivindicación y los que no afectan de forma material a la o las características básicas y novedosas de la invención reivindicada. Por lo tanto, la expresión "que consiste esencialmente en", cuando se utiliza en una reivindicación de esta invención no pretende interpretarse como equivalente a "que comprende".

Los términos "secuencia de nucleótidos", "ácido nucleico", "secuencia de ácido nucleico", "molécula de ácido nucleico", "oligonucleótido" y "polinucleótido" se utilizan indistintamente en esta memoria para referirse a un heteropolímero de nucleótidos y abarcan tanto ARN como ADN, incluyendo ADNc , ADN genómico, ARNm, ADN o ARN sintético (*p. ej.*, sintetizado químicamente) y quimeras de ARN y ADN . La expresión molécula de ácido nucleico se refiere a una cadena de nucleótidos sin tener en cuenta la longitud de la cadena. Los nucleótidos contienen un azúcar, fosfato y una base que es una purina o una pirimidina. Una molécula de ácido nucleico puede ser de doble cadena o de cadena sencilla. En los casos de cadena sencilla, la molécula de ácido nucleico puede ser una cadena sentido o una cadena antisentido. Una molécula de ácido nucleico se puede sintetizar utilizando análogos o derivados de oligonucleótidos (*p. Ej.*, nucleótidos de inosina o de fosforotioato) . Oligonucleótidos de este tipo se pueden utilizar, por ejemplo, para preparar moléculas de ácidos nucleicos que tienen capacidades de apareamiento de bases alteradas o resistencia incrementada a las nucleasas. Secuencias de ácidos nucleicos proporcionadas en esta memoria se presentan en esta memoria en la dirección 5' a 3' , de izquierda a derecha y se representan utilizando el código estándar para representar los caracteres de nucleótidos tal como se establece en las reglas de secuencia de EE.UU., 37 CFR §§1.821 - 1.825 y Norma ST.25 de la Organización Mundial de la Propiedad Intelectual (OMPI).

Un "fragmento de ácido nucleico" es una fracción de una molécula de ácido nucleico dada. En las plantas superiores, el ácido desoxirribonucleico (ADN) es el material genético, mientras que el ácido ribonucleico (ARN) está implicado en la transferencia de información contenida en el ADN a las proteínas. Un "genoma" es todo el cuerpo de material genético contenido en cada una de las células de un organismo. A menos que se indique lo contrario, una secuencia particular de ácido nucleico de esta invención también abarca implícitamente variantes modificadas de forma conservativa de la misma (*p. ej.*, sustituciones de codones degenerados) y secuencias complementarias, así como la secuencia indicada explícitamente. Específicamente, las sustituciones de codones degenerados se pueden lograr generando secuencias en las que la tercera posición de uno o más codones seleccionados (o todos) se sustituye con residuos de base mixta y/o desoxiinosina (Batzer et al., *Nucleic Acid Res.* 19:5081 (1991); Ohtsuka et al., *J. Biol. Chem.* 260:2605-2608 (1985); y Rossolini et al., *Mol. Cell. Probes* 8:91-98 (1994)). La expresión molécula de ácido nucleico se utiliza indistintamente con genes, ADNc y ARNm codificados por un gen.

Tal como se utiliza en esta memoria, el término "gen" se refiere a una molécula de ácido nucleico capaz de utilizarse para producir ARNm, ARN antisentido, miARN y similares. Los genes pueden o no ser capaces de ser utilizados para producir una proteína funcional. Los genes pueden incluir regiones tanto codificantes como no codificantes (*p. ej.*, intrones, elementos reguladores, promotores, potenciadores, secuencias de terminación y regiones no traducidas 5' y 3'). En algunas realizaciones, un gen se refiere solo a la región codificante. Un gen puede estar "aislado", por lo que se entiende una molécula de ácido nucleico que está sustancial o esencialmente libre de componentes que normalmente se encuentran asociados con la molécula de ácido nucleico en su estado natural. Componentes de este tipo incluyen otro material celular, medio de cultivo de producción recombinante y/o diversos productos químicos utilizados en la síntesis química de la molécula de ácido nucleico.

Tal como se utiliza en esta memoria, "identidad de secuencia" se refiere al grado en que dos secuencias de polinucleótidos o péptidos óptimamente alineadas son invariantes a lo largo de una ventana de alineamiento de componentes, *p. ej.*, nucleótidos o aminoácidos. La "identidad" puede calcularse fácilmente mediante métodos conocidos que incluyen, pero no se limitan a, los descritos en: *Computational Molecular Biology* (Lesk, A. M., ed.) Oxford University Press, Nueva York (1988); *Biocomputing: Informatics and Genome Projects* (Smith, D. W., ed.) Academic Press, Nueva York (1993); *Computer Analysis of Sequence Data, Part I* (Griffin, A. M., y Griffin, H. G., eds.) Humana Press, New Jersey (1994); *Sequence Analysis in Molecular Biology* (von Heinje, G., ed.) Academic Press (1987); y *Sequence Analysis Primer* (Gribskov, M. y Devereux, J., eds.) Stockton Press, Nueva York (1991).

Tal como se utiliza en esta memoria, la expresión "porcentaje de identidad de secuencia" o "porcentaje de identidad" se refiere al porcentaje de nucleótidos idénticos en una secuencia de polinucleótidos lineal de una molécula de

polinucleótidos de referencia ("consulta") (o su cadena complementaria) en comparación con una molécula de polinucleótido de prueba ("sujeto") (o su cadena complementaria) cuando las dos secuencias están alineadas de manera óptima. En algunas realizaciones, "porcentaje de identidad" puede referirse al porcentaje de aminoácidos idénticos en una secuencia de aminoácidos.

5 Tal como se utiliza en esta memoria, la frase "sustancialmente idéntica", en el contexto de dos moléculas de ácido nucleico, secuencias de nucleótidos o secuencias de proteínas, se refiere a dos o más secuencias o subsecuencias que tienen al menos aproximadamente 70%, al menos aproximadamente 75%, al menos aproximadamente 80%, al menos aproximadamente 85%, al menos aproximadamente 90%, al menos aproximadamente 95%, al menos aproximadamente 96%, al menos aproximadamente 97%, al menos aproximadamente 98% o al menos aproximadamente 99% de identidad de nucleótidos o residuos de aminoácidos, cuando se compara y se alinea para obtener la correspondencia máxima, medida utilizando uno de los siguientes algoritmos de comparación de secuencias o mediante inspección visual. En algunas realizaciones de la invención, la identidad sustancial existe a lo largo de una región de las secuencias que tiene al menos aproximadamente 50 residuos a aproximadamente 150 residuos de longitud. Por lo tanto, en algunas realizaciones de esta invención, la identidad sustancial existe a lo largo de una región de las secuencias que es al menos aproximadamente 50, aproximadamente 60, aproximadamente 70, aproximadamente 80, aproximadamente 90, aproximadamente 100, aproximadamente 110, aproximadamente 120, aproximadamente 130, aproximadamente 140, aproximadamente 150, o más residuos de longitud. En algunas realizaciones particulares, las secuencias son sustancialmente idénticas en al menos aproximadamente 150 residuos.

10

15

20 En una realización adicional, las secuencias son sustancialmente idénticas a lo largo de toda la longitud de las regiones codificantes. Además, en realizaciones representativas, las secuencias de nucleótidos o proteínas sustancialmente idénticas realizan sustancialmente la misma función (p. ej., conferir mayor resistencia a un parásito de la planta de nematodos, reducir el crecimiento de un parásito de la planta de nematodos, reducir el desarrollo de quistes).

25 Para la comparación de secuencias, típicamente una secuencia actúa como una secuencia de referencia con la que se comparan las secuencias de ensayo. Cuando se utiliza un algoritmo de comparación de secuencias, las secuencias de ensayo y referencia se introducen en una computadora, se designan las coordenadas de subsecuencia si es necesario y se designan los parámetros del programa del algoritmo de secuencia. Luego, el algoritmo de comparación de secuencias calcula el porcentaje de identidad de secuencia para la o las secuencias de ensayo en relación con la secuencia de referencia, en función de los parámetros de programa designados.

30

El alineamiento óptimo de secuencias para alinear una ventana de comparación es bien conocido por los expertos en la técnica y puede realizarse mediante herramientas tales como el algoritmo de homología local de Smith y Waterman, el algoritmo de alineamiento de homología de Needleman y Wunsch, el método de búsqueda de similitud de Pearson y Lipman y, opcionalmente, mediante implementaciones computarizadas de estos algoritmos, tales como GAP, BESTFIT, FASTA y TFASTA disponibles como parte del GCG® Wisconsin Package® (Accelrys Inc., San Diego, CA). Una "fracción de identidad" para segmentos alineados de una secuencia de ensayo y una secuencia de referencia es el número de componentes idénticos que comparten las dos secuencias alineadas, dividido por el número total de componentes en el segmento de secuencia de referencia, *es decir*, la secuencia de referencia completa o una parte definida más pequeña de la secuencia de referencia. El porcentaje de identidad de la secuencia se representa como la fracción de identidad multiplicada por 100. La comparación de una o más secuencias de polinucleótidos puede ser con una secuencia de polinucleótidos de longitud completa o una porción de la misma, o con una secuencia de polinucleótidos más larga. Para los propósitos de esta invención, el "porcentaje de identidad" también puede determinarse utilizando BLASTX versión 2.0 para secuencias de nucleótidos traducidas y BLASTN versión 2.0 para secuencias de polinucleótidos.

35

40

45

El software para realizar análisis BLAST está disponible públicamente a través del Centro Nacional de Información Biotecnológica. Este algoritmo implica primero identificar pares de secuencias de alta puntuación (HSP) identificando palabras cortas de longitud W en la secuencia de consulta, que coinciden o satisfacen alguna puntuación T de umbral de valor positivo cuando se alinean con una palabra de la misma longitud en una secuencia de base de datos. T se conoce como el umbral de puntuación de palabras vecinas (Altschul *et al.*, 1990). Estas coincidencias iniciales de palabras vecinas actúan como semillas para iniciar búsquedas para encontrar HSP más largos que las contengan. Luego, las coincidencias de palabras se extienden en ambas direcciones a lo largo de cada una de las secuencias hasta que se pueda aumentar la puntuación de alineamiento acumulativa. Las puntuaciones acumulativas se calculan utilizando, para secuencias de nucleótidos, los parámetros M (puntuación de recompensa para un par de residuos coincidentes; siempre > 0) y N (puntuación de penalización para residuos de emparejamiento erróneo; siempre < 0). Para las secuencias de aminoácidos, se utiliza una matriz de puntuación para calcular la puntuación acumulativa. La extensión de los aciertos de palabras en cada una de las direcciones se detiene cuando la puntuación de alineamiento acumulativa cae en la cantidad X de su valor máximo alcanzado, la puntuación acumulativa llega a cero o por debajo debido a la acumulación de uno o más alineamientos de residuos de puntuación negativa, o se alcanza el final de cualquiera de las secuencias. Los parámetros del algoritmo BLAST W , T y X determinan la sensibilidad y la velocidad del alineamiento. El programa BLASTN (para secuencias de nucleótidos) utiliza por defecto una longitud de palabra (W) de 11, una expectativa (E) de 10, un corte de 100, $M = 5$, $N = -4$ y una comparación de ambas cadenas. Para las secuencias de aminoácidos, el programa BLASTP utiliza por defecto una longitud de palabra (W) de 3, una expectativa (E) de 10 y la matriz de puntuación BLOSUM62 (véase Henikoff y Henikoff, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89: 10915 (1989)).

50

55

60

65

Además de calcular el porcentaje de identidad de secuencia, el algoritmo BLAST también realiza un análisis estadístico de la similitud entre dos secuencias (véase, p. ej., Karlin y Altschul, *Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA* 90: 5873-5787 (1993)). Una medida de similitud proporcionada por el algoritmo BLAST es la probabilidad de suma más pequeña ($P(N)$), que proporciona una indicación de la probabilidad mediante la cual se produzca una coincidencia entre dos secuencias de nucleótidos o aminoácidos por casualidad. Por ejemplo, una secuencia de ácido nucleico de ensayo se considera similar a una secuencia de referencia si la probabilidad de suma más pequeña en una comparación de la secuencia de nucleótidos de ensayo con la secuencia de nucleótidos de referencia es menor que aproximadamente 0,1 a menor que aproximadamente 0,001. Por lo tanto, en algunas realizaciones de la invención, la probabilidad de suma más pequeña en una comparación de la secuencia de nucleótidos de ensayo con la secuencia de nucleótidos de referencia es inferior a aproximadamente 0,001 .

También se puede considerar que dos secuencias de nucleótidos son sustancialmente idénticas cuando las dos secuencias se hibridan entre sí en condiciones rigurosas. En algunas realizaciones representativas, dos secuencias de nucleótidos consideradas sustancialmente idénticas se hibridan entre sí en condiciones altamente rigurosas.

Las "condiciones de hibridación rigurosas" y "condiciones de lavado de hibridación rigurosas", en el contexto de los experimentos de hibridación de ácidos nucleicos, tales como las hibridaciones de Southern y Northern, dependen de la secuencia y son diferentes para parámetros ambientales distintos. Una amplia guía para la hibridación de ácidos nucleicos se encuentra en *Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology-Hybridization with Nucleic Acid Probes* parte I capítulo 2 "Overview of principles of hybridization and the strategy of nucleic acid probe assays" Elsevier, Nueva York (1993). En general, condiciones de hibridación y de lavado altamente rigurosas se seleccionan para ser aproximadamente 5°C menores que el punto de fusión térmico (T_m) para la secuencia específica a una fuerza iónica y pH definidos.

La T_m es la temperatura (a un pH y una fuerza iónica definidos) a la que el 50% de la secuencia diana se hibrida con una sonda perfectamente coincidente. Se seleccionan condiciones muy estrictas para que sean iguales a la T_m para una sonda particular. Un ejemplo de condiciones de hibridación rigurosas para la hibridación de secuencias de nucleótidos complementarias que tienen más de 100 residuos complementarios en un filtro en una transferencia Southern o Northern es formamida al 50% con 1 mg de heparina a 42°C, y la hibridación se lleva a cabo durante la noche. Un ejemplo de condiciones de lavado altamente rigurosas es NaCl 0,15 M a 72°C durante aproximadamente 15 minutos. Un ejemplo de condiciones de lavado rigurosas es un lavado de SSC 0,2x a 65°C durante 15 minutos (véase, Sambrook, *infra*, para una descripción del tampón SSC). A menudo, un lavado de rigurosidad alta va precedido por un lavado de rigurosidad baja para eliminar la señal de fondo de la sonda. Un ejemplo de lavado de rigurosidad media para un dúplex de, p. ej., más de 100 nucleótidos, es 1x SSC a 45°C durante 15 minutos. Un ejemplo de lavado de baja rigurosidad para un dúplex de, p. ej., más de 100 nucleótidos, es 4-6x SSC a 40°C durante 15 minutos. Para sondas cortas (p. ej., de aproximadamente 10 a 50 nucleótidos), las condiciones rigurosas típicamente implican concentraciones de sal de menos de aproximadamente 1,0 M de iones Na, típicamente de aproximadamente 0,01 a 1,0 M de concentración de iones Na (u otras sales) a pH 7,0 a 8,3, y el la temperatura es típicamente de al menos aproximadamente 30°C. Condiciones estrictas también se pueden lograr con la adición de agentes desestabilizadores tales como formamida. En general, una relación entre la señal y el ruido de 2x (o superior) respecto a la observada para una sonda no relacionada en el ensayo de hibridación particular indica la detección de una hibridación específica. Las secuencias de nucleótidos que no se hibridan entre sí en condiciones rigurosas siguen siendo sustancialmente idénticas si las proteínas que codifican son sustancialmente idénticas. Esto puede ocurrir, por ejemplo, cuando se crea una copia de una secuencia de nucleótidos utilizando la máxima degeneración de codones permitida por el código genético.

Los siguientes son ejemplos de conjuntos de condiciones de hibridación/lavado que pueden utilizarse para clonar secuencias de nucleótidos homólogas que son sustancialmente idénticas a las secuencias de nucleótidos de referencia de la presente invención. En una realización, una secuencia de nucleótidos de referencia se hibrida con la secuencia de nucleótidos de "ensayo" en dodecilsulfato de sodio (SDS) al 7%, NaPO₄ 0,5 M, EDTA 1 mM a 50°C con lavado en 2X SSC, SDS al 0,1% a 50°C. En otra realización, la secuencia de nucleótidos de referencia se hibrida con la secuencia de nucleótidos de "ensayo" en dodecilsulfato de sodio (SDS) al 7%, NaPO₄ 0,5 M, EDTA 1 mM a 50°C con lavado en 1X SSC, SDS al 0,1% a 50°C o en dodecilsulfato de sodio (SDS) al 7%, NaPO₄ 0,5 M, EDTA 1 mM a 50°C con lavado en 0,5X SSC, SDS al 0,1% a 50°C. En todavía realizaciones adicionales, la secuencia de nucleótidos de referencia se hibrida a la secuencia de nucleótidos de "ensayo" en dodecilsulfato de sodio (SDS) al 7%, NaPO₄ 0,5 M, EDTA 1 mM a 50°C con lavado en 0,1X SSC, SDS al 0,1% a 50°C, o en dodecilsulfato de sodio (SDS) al 7%, NaPO₄ 0,5 M, EDTA 1 mM a 50°C con lavado en 0,1X SSC, SDS al 0,1% a 65°C.

Un molécula de ácido nucleico o secuencia de nucleótidos "aislada" o un polipéptido "aislado" es una molécula de ácido nucleico, secuencia de nucleótidos o polipéptido que, por la mano del hombre, existe aparte de su entorno nativo y/o tiene una función que es diferente, está modificado, modulado y/o alterado en comparación con su función en su entorno nativo y, por lo tanto, no es un producto de la naturaleza. Una molécula de ácido nucleico aislada o un polipéptido aislado puede existir en una forma purificada o puede existir en un entorno no nativo tal como, por ejemplo, una célula huésped recombinante. Así, por ejemplo, con respecto a los polinucleótidos, el término aislado significa que está separado del cromosoma y/o la célula en la que se produce de forma natural. Un polinucleótido también se

aísla si se separa del cromosoma y/o la célula en la que se produce de forma natural y luego se inserta en un contexto genético, un cromosoma, una ubicación del cromosoma y/o una célula en la que no se produce de forma natural. Se puede considerar que las moléculas de ácido nucleico recombinante y las secuencias de nucleótidos de la invención están "aisladas" tal como se definió arriba.

5 Por lo tanto, una "molécula de ácido nucleico aislada" o "secuencia de nucleótidos aislada" es una molécula de ácido nucleico o secuencia de nucleótidos que no es contigua inmediatamente a secuencias de nucleótidos con las cuales es contigua inmediatamente (una en el extremo 5' y otra en el extremo 3') en el genoma que se produce de forma natural del organismo del que deriva. Por consiguiente, en una realización, un ácido nucleico aislado incluye algunas o todas las secuencias 5' no codificantes (p. ej., promotor) que son inmediatamente contiguas a una secuencia codificante. Por lo tanto, la expresión incluye, por ejemplo, un ácido nucleico recombinante que se incorpora en un vector, en un plásmido o virus que se replica de forma autónoma, o en el ADN genómico de un procarionte o eucarionte, o que existe como una molécula separada (p. ej., un ADNc o un fragmento de ADN genómico producido por PCR o por tratamiento con endonucleasas de restricción), independiente de otras secuencias. También incluye un ácido nucleico recombinante que es parte de una molécula híbrida de ácido nucleico que codifica un polipéptido adicional o una secuencia peptídica. Una "molécula de ácido nucleico aislada" o "secuencia de nucleótidos aislada" también puede incluir una secuencia de nucleótidos derivada e insertada en el mismo tipo de célula natural original, pero que está presente en un estado no natural, p. ej., presente en un número de copias diferente y/o bajo el control de diferentes secuencias reguladoras que la encontrada en el estado nativo de la molécula de ácido nucleico.

20 El término "aislado" puede referirse, además, a una molécula de ácido nucleico, secuencia de nucleótidos, polipéptido, péptido o fragmento que está sustancialmente libre de material celular, material viral y/o medio de cultivo (p. ej., cuando se produce mediante técnicas de ADN recombinante), o precursores químicos u otros productos químicos (p. ej., cuando se sintetizan químicamente). Además, un "fragmento aislado" es un fragmento de una molécula de ácido nucleico, secuencia de nucleótidos o polipéptido que no se produce de forma natural como un fragmento y no se encontraría como tal en el estado natural. "Aislado" no significa necesariamente que la preparación sea técnicamente pura (homogénea), sino que es lo suficientemente pura como para proporcionar el polipéptido o ácido nucleico en una forma en la que pueda utilizarse para el propósito pretendido.

25 En realizaciones representativas de la invención, una molécula de ácido nucleico, secuencia de nucleótidos y/o polipéptido "aislado" es al menos aproximadamente 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, 98%, 99% puro (p/p) o más. En otras realizaciones, un ácido nucleico, secuencia de nucleótidos y/o polipéptido "aislado" indica que al menos aproximadamente 5 veces, 10 veces, 25 veces, 100 veces, 1000 veces, 10.000 veces, 100.000 veces o más se logra un enriquecimiento del ácido nucleico (p/p) en comparación con el material de partida.

35 Secuencia de nucleótidos o secuencia de aminoácidos de "tipo salvaje" se refiere a una secuencia de nucleótidos o secuencia de aminoácidos que se produce de forma natural ("nativa") o endógena. Así, por ejemplo, un "ARNm de tipo salvaje" es un ARNm que se produce de forma natural o es endógeno al organismo. Una secuencia de nucleótidos "homóloga" es una secuencia de nucleótidos asociada de forma natural con una célula huésped en la que se introduce.

Por el término "expresar" o "expresión" de una secuencia codificante de polinucleótidos se entiende que la secuencia se transcribe y, opcionalmente, se traduce.

45 "Secuencia de nucleótidos de interés" se refiere a cualquier secuencia de nucleótidos que, cuando se introduce en una planta, confiere a la planta una característica deseada tal como resistencia a antibióticos, resistencia a virus, resistencia a insectos, resistencia a enfermedades o resistencia a otras plagas, tolerancia a herbicidas, valor nutricional mejorado, rendimiento mejorado en un proceso industrial o capacidad reproductiva alterada. La "secuencia de nucleótidos de interés" también puede ser una que se transfiere a las plantas para la producción de enzimas o metabolitos comercialmente valiosos en la planta.

50 Tal como se utiliza en esta memoria, las expresiones "unido operativamente", "unido operativamente", "asociado operativamente" o "en asociación operativa" y similares, significan que los elementos de una construcción de ácido nucleico tal como un casete de expresión o molécula de ácido nucleico están configurados de modo en cuanto a realizar su función habitual. Así, secuencias reguladoras o de control (p. ej., promotores) asociadas operativamente con una secuencia de nucleótidos son capaces de efectuar la expresión de la secuencia de nucleótidos. Por ejemplo, un promotor en asociación operativa con una secuencia de nucleótidos que codifica miR396c sería capaz de efectuar la expresión de esa secuencia de nucleótidos de miR396c.

60 Las secuencias de control no necesitan ser contiguas a la secuencia de nucleótidos de interés, siempre que funcionen para dirigir su expresión. Así, por ejemplo, las secuencias intermedias no traducidas, pero transcritas, pueden estar presentes entre un promotor y una secuencia codificante, y la secuencia del promotor todavía puede considerarse "operativamente unida" a la secuencia codificante.

65 Tal como se utiliza en esta memoria, los términos "transformado" y "transgénico" se refieren a cualquier planta, célula vegetal, callo, tejido vegetal o parte de la planta que contiene todo o parte de al menos un polinucleótido recombinante

(p. ej., heterólogo). En algunas realizaciones, todo o parte del polinucleótido recombinante se integra de manera estable en un cromosoma o elemento extracromosómico estable, de modo que se transmite a generaciones sucesivas. Para los fines de la invención, la expresión "polinucleótido recombinante" se refiere a un polinucleótido que ha sido alterado, reordenado o modificado por ingeniería genética. Ejemplos incluyen cualquier polinucleótido clonado, o polinucleótidos, que están enlazados o unidos a secuencias heterólogas. La expresión "recombinante" no se refiere a alteraciones de polinucleótidos que resultan de eventos que se producen de forma natural, tales como mutaciones espontáneas, o de mutagénesis no espontánea seguida de reproducción selectiva.

El término "introduciendo" o "introducir" en el contexto de una célula vegetal, planta y/o parte de planta significa poner en contacto una molécula de ácido nucleico con la planta, parte de planta y/o célula vegetal de tal manera que la molécula de ácido nucleico obtiene acceso al interior de la célula vegetal y/o célula de la planta y/o parte de la planta. Cuando se ha de introducir más de una molécula de ácido nucleico, estas moléculas de ácido nucleico pueden ensamblarse como parte de una sola construcción de polinucleótidos o ácidos nucleicos, o como construcciones separadas de polinucleótidos o ácidos nucleicos, y pueden ubicarse en las mismas o en diferentes construcciones de ácidos nucleicos. Por consiguiente, estos polinucleótidos pueden introducirse en células vegetales en un único evento de transformación, en eventos de transformación separados o, p. ej., como parte de un protocolo de reproducción. Por lo tanto, el término "transformación" tal como se utiliza en esta memoria, se refiere a la introducción de un ácido nucleico heterólogo en una célula. La transformación de una célula puede ser estable o transitoria. Por lo tanto, una célula vegetal, planta y/o parte de la planta transgénica de la invención puede transformarse de manera estable o transformarse de manera transitoria.

La expresión "parte de la planta", tal como se utiliza en esta memoria, incluye pero no se limita a embriones, polen, óvulos, semillas, hojas, tallos, brotes, flores, ramas, frutos, granos, espigas, mazorcas, cáscaras, tallos, raíces, puntas de raíces, anteras, células vegetales, incluyendo células vegetales que están intactas en plantas y/o partes de plantas, protoplastos de plantas, tejidos vegetales, cultivos de tejidos celulares vegetales, callos de plantas, grupos de plantas y similares. Tal como se utiliza en esta memoria, "brote" se refiere a las partes por encima del suelo, incluidas las hojas y los tallos. Además, tal como se utiliza en esta memoria, "célula vegetal" se refiere a una unidad estructural y fisiológica de la planta, que comprende una pared celular y también puede referirse a un protoplasto. Una célula vegetal de la presente invención puede estar en forma de una célula individual aislada o puede ser una célula cultivada o puede ser parte de una unidad organizada superior, tal como, por ejemplo, un tejido vegetal o un órgano vegetal.

"Transformación transitoria" en el contexto de un polinucleótido significa que un polinucleótido se introduce en la célula y no se integra en el genoma de la célula.

Tal como se utiliza en esta memoria, "introducir de forma estable", "introducido de forma estable", "transformación estable" o "transformada de manera estable" en el contexto de un polinucleótido introducido en una célula, significa que el polinucleótido introducido se integra de forma estable en el genoma de la célula y, así, la célula se transforma de manera estable con el polinucleótido. Como tal, el polinucleótido integrado es capaz de ser heredado por su progenie, más particularmente, por la progenie de múltiples generaciones sucesivas. "Genoma", tal como se utiliza en esta memoria, incluye el genoma nuclear y/o plastídico y, por lo tanto, incluye la integración de un polinucleótido en, por ejemplo, el genoma del cloroplasto. La transformación estable, tal como se utiliza en esta memoria, también puede referirse a un polinucleótido que se mantiene extracromosómicamente, por ejemplo, como un minicromosoma.

La transformación transitoria se puede detectar, por ejemplo, mediante un ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA) o transferencia Western, que puede detectar la presencia de un péptido o polipéptido codificado por una o más moléculas de ácido nucleico introducidas en un organismo. La transformación estable de una célula puede detectarse, por ejemplo, mediante un ensayo de hibridación por transferencia Southern de ADN genómico de la célula con secuencias de ácido nucleico que se hibridan específicamente con una secuencia de nucleótidos de una molécula de ácido nucleico introducida en un organismo (p. ej., una planta). La transformación estable de una célula puede detectarse, por ejemplo, mediante un ensayo de hibridación por transferencia Northern de ARN de la célula con secuencias de ácido nucleico que se hibridan específicamente con una secuencia de nucleótidos de una molécula de ácido nucleico introducida en una planta u otro organismo. La transformación estable de una célula también se puede detectar, p. ej., mediante una reacción en cadena de la polimerasa (PCR) u otra reacción de amplificación tal como se conoce bien en la técnica, empleando secuencias de cebadores específicas que se hibridan con la o las secuencias diana de una molécula de ácido nucleico, lo que resulta en la amplificación de la o las secuencias diana, que pueden detectarse de acuerdo con métodos estándar. La transformación también se puede detectar mediante secuenciación directa y/o protocolos de hibridación bien conocidos en la técnica.

La expresión "marco de lectura abierto" y el término "ORF" se refieren a la secuencia de aminoácidos codificada entre los codones de inicio y de terminación de la traducción de una secuencia codificante. Las expresiones "codón de iniciación" y "codón de terminación" se refieren a una unidad de tres nucleótidos adyacentes ('codón') en una secuencia codificante que especifica el inicio y la terminación de la cadena, respectivamente, de la síntesis de proteínas (traducción de ARNm).

"Promotor" se refiere a una secuencia de nucleótidos, habitualmente aguas arriba (5') a su secuencia codificante, que controla la expresión de la secuencia codificante proporcionando el reconocimiento de la ARN polimerasa y otros

factores necesarios para una transcripción adecuada. Las "secuencias reguladoras del promotor" consisten en elementos aguas arriba proximales y más distales. Las secuencias reguladoras del promotor influyen en la transcripción, el procesamiento o la estabilidad del ARN, o la traducción de la secuencia codificante asociada. Las secuencias reguladoras incluyen potenciadores, promotores, secuencias conductoras no traducidas, intrones y secuencias de señal de poliadenilación. Incluyen secuencias naturales y sintéticas, así como secuencias que pueden ser una combinación de secuencias sintéticas y naturales. Un "potenciador" es una secuencia de ADN que puede estimular la actividad del promotor y puede ser un elemento innato del promotor o un elemento heterólogo insertado para potenciar el nivel o la especificidad del tejido de un promotor. Es capaz de operar en ambas orientaciones (normal o invertida), y es capaz de funcionar incluso cuando se mueve aguas arriba o aguas abajo desde el promotor. El significado del término "promotor" incluye "secuencias reguladoras del promotor".

"Transformante primario" y "generación T0" se refieren a plantas transgénicas que son de la misma generación genética que el tejido que se transformó inicialmente (es decir, que no ha pasado por la meiosis y la fertilización desde la transformación). "Transformantes secundarios" y "generaciones T1, T2, T3, etc." se refieren a plantas transgénicas derivadas de transformantes primarios a través de uno o más ciclos meióticos y de fertilización. Pueden derivarse por auto-fecundación de transformantes primarios o secundarios o cruces de transformantes primarios o secundarios con otras plantas transformadas o no transformadas.

"Gen" se refiere a un fragmento de ácido nucleico que expresa ARNm, ARN funcional o proteína específica, incluidas secuencias reguladoras. La expresión "gen nativo" se refiere a un gen tal como se encuentra en la naturaleza. La expresión "gen quimérico" se refiere a cualquier gen que contiene 1) secuencias de ADN, incluidas las secuencias reguladoras y codificantes que no se encuentran juntas en la naturaleza, o 2) secuencias que codifican partes de proteínas no unidas de forma natural, o 3) partes de promotores que están contiguas de forma no natural. Por consiguiente, un gen quimérico puede comprender secuencias reguladoras y secuencias codificantes que se derivan de diferentes fuentes, o puede comprender secuencias reguladoras y secuencias codificantes derivadas de la misma fuente, pero dispuestas de manera diferente a la encontrada en la naturaleza.

Un "transgen" se refiere a una molécula de ácido nucleico que se ha introducido en el genoma por transformación y se mantiene estable. Un transgen puede comprender al menos un casete de expresión, típicamente comprende al menos dos casetes de expresión, y puede comprender diez o más casetes de expresión. Los transgenes pueden incluir, por ejemplo, genes que son heterólogos u homólogos a los genes de una planta particular a transformar. Además, los transgenes pueden comprender genes nativos insertados en un organismo no nativo o genes quiméricos. El término "gen endógeno" se refiere a un gen nativo en su ubicación natural en el genoma de un organismo. Un gen "extraño" se refiere a un gen que normalmente no se encuentra en el organismo huésped, pero que se introduce en el organismo mediante transferencia génica.

"Intron" se refiere a una sección de ADN intermedia que se produce casi exclusivamente dentro de un gen eucariota, pero que no se traduce en secuencias de aminoácidos en el producto génico. Los intrones se separan del ARNm pre-maduro a través de un proceso llamado corte y empalme, que deja los exones intactos, para formar un ARNm. Para los fines de la presente invención, la definición del término "intrón" incluye modificaciones a la secuencia de nucleótidos de un intrón derivado de un gen diana, siempre que el intrón modificado no reduzca significativamente la actividad de su secuencia reguladora 5' asociada.

"Exón" se refiere a una sección de ADN que lleva la secuencia codificante para una proteína o parte de ella. Los exones están separados por secuencias intermedias no codificantes (intrones). Para los propósitos de la presente invención, la definición del término "exón" incluye modificaciones a la secuencia de nucleótidos de un exón derivado de un gen diana, siempre que el exón modificado no reduzca significativamente la actividad de su secuencia reguladora 5' asociada.

Por consiguiente, en una realización, la presente invención proporciona un método para integrar un transgén en un sitio de escisión de nucleasa genómica en un genoma de maíz, que comprende introducir en una célula de maíz: a) una primera molécula de ácido nucleico que comprende al menos 80, al menos 90, al menos 100, al menos 110, al menos 120, al menos 130, al menos 140 o al menos 150 nucleótidos contiguos, en donde dichos nucleótidos contiguos tienen al menos 80%, al menos 85%, al menos 90%, al menos 93%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99% o 100% de identidad con un sitio diana en la secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 2 y, además, que comprende un transgen; y b) una segunda molécula de ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica una nucleasa para la escisión dirigida al sitio en un sitio de escisión de nucleasa genómica adyacente a la secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 2 que corresponde a los nucleótidos contiguos de (a), bajo condiciones en donde la expresión de la segunda molécula de ácido nucleico puede producir la nucleasa y la nucleasa puede escindir la secuencia de nucleótidos en el sitio de escisión de nucleasa genómica, por lo que el transgen se integra en el sitio de escisión diana de nucleasa genómica en el genoma del maíz.

Tal como se utiliza en esta memoria, un "sitio diana" significa una región de nucleótidos en el genoma que es el sitio seleccionado o preferido para la inserción de una secuencia de nucleótidos (p. ej., uno o más transgenes, casetes de expresión o secuencias de nucleótidos de interés) en el genoma, así como un sitio seleccionado o preferido para introducir una mutación (p. ej., una sustitución y/o una deleción y/o una inserción tal como un INDEL) en el genoma.

En algunas realizaciones, un sitio diana puede comprender un sitio de escisión de nucleasa, al que también se alude como sitio de escisión de nucleasa genómica. Un ejemplo no limitativo de un sitio diana de esta invención es el intervalo cromosómico en el cromosoma 1 definido por e incluyendo la posición del par de bases (pb) 38.860.000 a la posición del par de bases (pb) 39.105.000 según lo definido por Maíz B73 RefGen_V2 disponible en la base de datos del genoma de maíz.

Tal como se utiliza en esta memoria, el término "adyacente" o al expresión "adyacente a" con respecto a una o más secuencias de nucleótidos de esta invención significa inmediatamente al lado de (p. ej., sin secuencia intermedia) o separados de aproximadamente 1 base a aproximadamente 10.000 bases (p. ej. , 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 30, 40, 50, 100, 200, 500, 1000, 2000, 3000, 4000, 5000, 6000, 7000, 8000, 9000, o 10,000bases), incluidos cualesquiera valores incluidos dentro de este intervalo pero que no se mencionan explícitamente en esta memoria.

Un "sitio de escisión de nucleasa" o "sitio de escisión de nucleasa genómica" es una región de nucleótidos que comprende una secuencia de escisión de nucleasa que es reconocida por una nucleasa específica, que actúa para escindir la secuencia de nucleótidos del ADN genómico en una o ambas cadenas. Una escisión de este tipo por la enzima nucleasa inicia mecanismos de reparación de ADN dentro de la célula, lo que establece un entorno para que se produzca la recombinación homóloga. En los métodos de esta memoria, en los que la primera molécula de ácido nucleico comprende, por ejemplo, al menos aproximadamente 100 nucleótidos contiguos que tienen, por ejemplo, al menos un 90% de identidad con un sitio diana en el genoma de la célula, la primera molécula de ácido nucleico se integra en el genoma de la célula mediante recombinación homóloga, integrando con ello uno o más transgenes en el genoma de la célula.

En algunas realizaciones del método anterior, la primera molécula de ácido nucleico puede comprender al menos aproximadamente 100, 150, 200, 250, 300, 250, 400, 450, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1500, 2000, 2500, 3000, 3500, 4000, 4500, 5000, 7500, 10000, 15,000 o 20,000 nucleótidos, incluyendo cualquier valor dentro de este intervalo no mencionado explícitamente en esta memoria.

En algunas realizaciones del método anterior, la secuencia de nucleótidos que comprende el sitio de escisión de nucleasa genómica en el genoma del maíz puede ser la secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 2.

En algunas realizaciones del método anterior, el sitio de escisión de la nucleasa genómica se encuentra dentro de un intervalo cromosómico en el cromosoma 1 definido por y que incluye la posición del par de bases (pb) 38.860.000 a la posición del par de bases (pb) 39.015.000 según se definido por el Maíz B73 RefGen_V2, disponible en la base de datos del genoma del maíz.

En algunas realizaciones del método anterior, la nucleasa tiene especificidad de escisión para un sitio de escisión de nucleasa en la secuencia de nucleótidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO:1 (Hill-MIR604), SEQ ID NO:2 (AX-MIR604), SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:28, SEQ ID NO:66, SEQ ID NO:67 y cualquier combinación de las mismas.

En algunas realizaciones, la primera molécula de ácido nucleico y la segunda molécula de ácido nucleico pueden introducirse en la célula de maíz mediante suministro biolístico de ácido nucleico, a través de un *Agrobacterium*, por co-transformación, y/o con un vector de ADN-T en cualquier combinación y/u orden.

En algunas realizaciones, la primera molécula de ácido nucleico y la segunda molécula de ácido nucleico pueden estar presentes en una sola construcción de ácido nucleico y en algunas realizaciones, la primera molécula de ácido nucleico y la segunda molécula de ácido nucleico pueden estar presentes en construcciones de ácido nucleico separadas.

En algunas realizaciones, la primera molécula de ácido nucleico y/o la segunda molécula de ácido nucleico pueden expresarse transitoriamente en la célula de maíz.

En algunas realizaciones, la primera molécula de ácido nucleico y/o la segunda molécula de ácido nucleico pueden integrarse de manera estable en el genoma del maíz en la célula de maíz.

La presente invención proporciona, además, un método para producir una planta de maíz , parte de planta o progenie de la misma que comprende un transgén integrado en el sitio de escisión de nucleasa genómica en el genoma del maíz, que comprende regenerar una planta de maíz a partir de la célula de maíz producida por el método descrito en esta memoria. Por consiguiente, la presente invención proporciona una planta de maíz , parte de planta o progenie de la misma que comprende el transgén integrado en el sitio de escisión de nucleasa genómica en el genoma del maíz, producido por el método de esta invención.

La presente invención se basa, en algunas realizaciones, en el descubrimiento inesperado y el desarrollo de métodos rápidos (p. ej., de alto rendimiento) para identificar y enriquecer células que comprenden uno o más transgenes integrados en el genoma en un sitio diana que emplea combinaciones selectivas de ensayos de reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa (qPCR).

La presente invención proporciona, además, un método para identificar una célula y/o enriquecer una célula que comprende un transgén insertado en un sitio de escisión de nucleasa en un genoma de la célula, que comprende: a) introducir en una pluralidad de células: i) una primera molécula de ácido nucleico que comprende al menos 80, al menos 90, al menos 100, al menos 110, al menos 120, al menos 130, al menos 140 o al menos 150 nucleótidos contiguos, en donde los nucleótidos contiguos tienen al menos 80%, al menos 85%, al menos 90%, al menos 93%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99% o 100% de identidad con un sitio diana en el genoma de la célula, y que, además, comprende un transgén; y ii) una segunda molécula de ácido nucleico que codifica una nucleasa para la escisión dirigida al sitio en un sitio de escisión de nucleasa en el genoma de la célula adyacente a la secuencia de nucleótidos en el genoma de la célula que corresponde a los nucleótidos contiguos de (i), bajo condiciones en las que puede producirse la expresión de la segunda molécula de ácido nucleico para producir la nucleasa y la nucleasa puede escindirse en el sitio de escisión de nucleasa en el genoma de la célula e integrar el transgén en el sitio de escisión de nucleasa en el genoma de la célula; b) cultivar las células de (a) para producir al menos una línea celular o tejido; c) extraer una muestra de ADN genómico a partir de cada uno de las líneas celulares o tejidos de (b); d) realizar ensayos de reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa en tiempo real (qPCR) T y G en las muestras de (c), en donde los ensayos T y G comprenden, respectivamente, las siguientes sondas: i) una primera sonda que comprende una secuencia de nucleótidos que es complementaria a una secuencia de nucleótidos del sitio diana, al menos uno, al menos dos, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, al menos siete, al menos ocho, al menos nueve, al menos diez, al menos doce o al menos quince pares de bases lejos del sitio de escisión de nucleasa para llevar a cabo el ensayo T, y ii) una segunda sonda que comprende una secuencia de nucleótidos que es complementaria a una secuencia de nucleótidos del transgén para llevar a cabo el ensayo G; e) obtener un número de copias de ADN del sitio diana a partir de los resultados del ensayo T y un número de copias de ADN del transgén a partir de los resultados del ensayo G; y f) identificar y/o enriquecer para una línea celular o tejido que tiene un número de copias reducido en el ensayo T en relación con una referencia y un número de copias mayor que cero para el ensayo G, identificando y/o enriqueciendo la célula que comprende el transgén insertado en el sitio de escisión de nucleasa en el genoma de la célula.

En los métodos arriba descritos, dirigidos a identificar y/o enriquecer las células que comprenden uno o más transgenes insertados en un sitio de escisión de nucleasa en un genoma de la célula, los ensayos de qPCR pueden realizarse en un formato de alto rendimiento como es bien conocido en la técnica, de modo que se pueda analizar un gran volumen de muestras de forma rápida y simultánea. Una detección rápida y eficiente de este tipo permite la identificación y el enriquecimiento del pequeño porcentaje de células (p. ej., alrededor del 2%) entre la pluralidad de células empleadas en estos métodos, que típicamente sería un gran volumen de células.

En los métodos arriba descritos, la primera sonda (para llevar a cabo el ensayo T) puede comprender, consistir esencialmente en o consistir en una secuencia de nucleótidos que es complementaria (p. ej., al menos aproximadamente 90%, 95%, 98%, 99% o 100% complementaria) a la secuencia de nucleótidos al menos cinco (p. ej., 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20) pares de bases lejos del sitio de escisión de nucleasa y la segunda sonda (para llevar a cabo el ensayo G) puede comprender una secuencia de nucleótidos que es complementaria (p. ej., al menos aproximadamente 90%, 95%, 98%, 99% o 100% complementaria) a al menos uno del uno o más transgenes.

En algunas realizaciones de los métodos de enriquecimiento e identificación arriba descritos, además de la etapa de identificación y/o enriquecimiento para una línea celular o tejido que tiene un número de copias reducido en el ensayo T en relación con una referencia y un número de copias mayor que cero (p. ej., un número de copias de aproximadamente uno, un número de copias de aproximadamente 2 o un número de copias de aproximadamente 3) para el ensayo G, los métodos en algunas realizaciones pueden comprender, además, la etapa de desechar una línea celular o tejido que no tiene cambio en el número de copias de ADN del ensayo T en comparación con una referencia, y en algunas realizaciones, puede comprender, además, la etapa de desechar una línea celular o tejido que tenga un número de copias de cero (p. ej., un número de copias menor que uno) para el ensayo G.

Tal como se utiliza en esta memoria, "positivo" o un resultado positivo para un ensayo (p. ej., ensayo G) significa que el número de copias es mayor que cero y "negativo" para un ensayo (p. Ej., ensayo G) significa que el número de copias es cero o menos de uno.

Tal como se utiliza también en esta memoria, una "referencia" es un genoma que tiene un número de copias de gen fijo. En algunas realizaciones, la referencia puede ser un genoma de "tipo salvaje" (p. ej., un genoma de una célula que no ha tenido la primera y segunda moléculas de ácido nucleico de esta invención introducidas en él de acuerdo con los métodos de esta invención).

En realizaciones particulares de la invención, las sondas primera y segunda son sondas de fluorescencia y en algunas realizaciones, las sondas primera y segunda son sondas Taqman.

En algunas realizaciones de la invención, los ensayos de qPCR se realizan en la misma mezcla y en algunas realizaciones, los ensayos de qPCR se realizan en diferentes mezclas, en cualquier combinación.

65

En realizaciones en las que la planta es una planta de maíz, el sitio de escisión de nucleasa es un sitio de inserción de transgén MIR604 de maíz, es decir, una secuencia de nucleótidos con al menos 80%, al menos 85%, al menos 90%, al menos 93%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99% o 100% de identidad con la secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 2 .

5 En algunas realizaciones de los métodos descritos en esta memoria, la nucleasa puede ser una nucleasa no modificada por ingeniería (p. ej., una nucleasa en su forma "nativa" o de "tipo salvaje" sin modificaciones). En algunas realizaciones, la nucleasa puede ser una nucleasa modificada por ingeniería con especificidad para la diana de escisión programable. Ejemplos no limitantes de una nucleasa de esta invención incluyen la nucleasa CRISPR ARNg-Cas9, la nucleasa de dedo de zinc, la meganucleasa modificada por ingeniería y/o la nucleasa efectora TAL, individualmente o en cualquier combinación.

15 La presente invención también proporciona una línea celular o tejido que se identifica y/o enriquece mediante los métodos descritos en esta memoria, en donde la línea celular o tejido se deriva de una planta o parte de una planta. En algunas realizaciones, la línea celular o tejido se deriva de una planta monocotiledónea o parte de una planta monocotiledónea. En algunas realizaciones, la línea celular o el tejido se deriva de una planta o parte de una planta dicotiledónea. En algunas realizaciones, la línea celular o el tejido se deriva de una planta cereal o parte de una planta cereal. En realizaciones adicionales, la línea celular o el tejido se deriva de una planta de maíz o parte de una planta de maíz. Otros ejemplos no limitantes de una planta de esta invención incluyen arroz, caña de azúcar, cebada, remolacha azucarera, patata, tabaco, soja, tomate, trigo y girasol.

Además, se proporciona en esta memoria una línea celular o tejido que se identifica y/o enriquece mediante los métodos descritos en esta memoria, en donde la línea celular o el tejido se deriva de un organismo eucariota .

25 En algunas realizaciones de los métodos de enriquecimiento e identificación arriba descritos, además de la etapa de identificar y/o enriquecer una línea celular o tejido que tiene un número de copias reducido en el ensayo T en relación con una referencia y es positivo para el ensayo G, los métodos en algunas realizaciones pueden comprender, además, la etapa de desechar una línea celular o tejido que no tiene cambio en el número de copias de ADN del ensayo T en comparación con una referencia, y en algunas realizaciones, puede comprender, además, la etapa de desechar una línea celular o tejido que es negativo para el ensayo G.

Tal como se utiliza en esta memoria, "positivo" para un ensayo (p. ej., ensayo G) significa que el número de copias es mayor que cero y "negativo" para un ensayo (p. ej., ensayo G) significa que el número de copias es igual a cero.

35 Tal como se utiliza también en esta memoria, una "referencia" es un genoma u otra molécula de ácido nucleico que tiene un número de copias de genes fijo. En algunas realizaciones, la referencia puede ser un genoma de "tipo salvaje" (p. ej., un genoma de una célula que no ha tenido la primera y segunda moléculas de ácido nucleico de esta invención introducidas en él de acuerdo con los métodos de esta invención).

40 En realizaciones particulares de la invención, las sondas primera y segunda son sondas de fluorescencia y en algunas realizaciones las sondas primera y segunda son sondas Taqman.

En algunas realizaciones de la invención, los ensayos de qPCR se realizan en la misma mezcla y en algunas realizaciones, los ensayos de qPCR se realizan en diferentes mezclas, en cualquier combinación.

45 En realizaciones en las que la planta producida es una planta de maíz, el sitio de escisión de nucleasa es un sitio de inserción de transgén MIR604 de maíz , a saber, una secuencia de nucleótidos con al menos 80%, al menos 85%, al menos 90%, al menos 93%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99% o 100% de identidad con la secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 2.

50 También se proporciona en esta memoria un método de identificar una célula y/o de enriquecer una célula que comprende una mutación introducida en un sitio de escisión de nucleasa en un genoma de la célula y que carece de integración de una secuencia de nucleótidos heteróloga que codifica una nucleasa para la escisión dirigida al sitio de una secuencia de nucleótidos en el sitio de escisión de nucleasa en el genoma de la célula, que comprende: a) introducir una molécula de ácido nucleico que comprende una secuencia heteróloga que codifica una nucleasa para la escisión dirigida al sitio de la secuencia de nucleótidos en el sitio de escisión de nucleasa en el genoma de la célula en una pluralidad de células bajo condiciones en las que puede producirse la expresión de la molécula de ácido nucleico para producir la nucleasa, y la nucleasa puede escindir la secuencia de nucleótidos en el sitio de escisión de nucleasa en el genoma de la célula, introduciendo con ello una mutación en el sitio de escisión de nucleasa en el genoma de la célula sin la integración de la secuencia de nucleótidos heteróloga que codifica la nucleasa en el genoma de la célula; b) cultivar la pluralidad de células de (a) para producir una línea celular o tejido; c) extraer una muestra de ADN genómico de la línea celular o tejido de (b); d) realizar ensayos de reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa (qPCR) en tiempo real 1 y 2 en las muestras de (c), en donde los ensayos comprenden, respectivamente, las siguientes sondas: i) una primera sonda que comprende una secuencia de nucleótidos que es complementaria a la secuencia de nucleótidos que comprende el sitio de escisión de nucleasa para llevar a cabo el ensayo 1, y ii) una segunda sonda que comprende una secuencia de nucleótidos que es complementaria a la secuencia de nucleótidos

heteróloga que codifica la nucleasa para llevar a cabo el ensayo 2; e) obtener un número de copias de ADN del sitio de escisión de nucleasa a partir de los resultados del ensayo 1 y un número de copias de ADN de la secuencia de nucleótidos heteróloga que codifica la nucleasa a partir de los resultados del ensayo 2; y f) identificar y/o enriquecer una línea celular o tejido que tiene un número de copias reducido para el ensayo 1 en relación con una referencia y un número de copias igual a cero para el ensayo 2, identificando y/o enriqueciendo así la célula que comprende la mutación introducida en el sitio de escisión de nucleasa en el genoma de la célula y la falta de integración de la secuencia de nucleótidos heteróloga que codifica la nucleasa en el genoma de la célula.

En algunas realizaciones de los métodos descritos en esta memoria, la línea celular o el tejido puede derivarse de una planta o parte de planta, por ejemplo, una planta derivada de cultivo de tejido o semillas germinadas. En algunas realizaciones, la planta puede ser una monocotiledónea y en algunas realizaciones, la planta puede ser una dicotiledónea. En algunas realizaciones, la planta puede ser un cereal. En realizaciones particulares, la planta puede ser una planta de maíz. Otros ejemplos no limitantes de una planta de esta invención incluyen arroz, caña de azúcar, cebada, remolacha azucarera, patata, tabaco, soja, tomate, trigo y girasol. En algunas realizaciones, la línea celular o el tejido que se identifica y/o enriquece por los métodos descritos en esta memoria se deriva de un organismo eucariota.

En algunas realizaciones de los métodos de enriquecimiento e identificación arriba descritos, además de la etapa de identificar y/o enriquecer una línea celular o tejido que tiene un número de copias reducido en el ensayo 1 en relación con una referencia y un número de copias igual a cero (p. ej., es menor que uno) para el ensayo 2, los métodos en algunas realizaciones pueden comprender, además, la etapa de desechar una línea celular o tejido que no tiene cambios en el número de copias de ADN del ensayo 1 en relación con una referencia, y en algunas realizaciones, puede comprender, además, la etapa de desechar una línea celular o tejido que tiene un número de copias mayor que cero (p.ej., un número de copias de aproximadamente 1, un número de copias de aproximadamente 2 o un número de copias de aproximadamente 3) para el ensayo 2.

Tal como se utiliza en esta memoria, "positivo" o un resultado positivo para un ensayo (p. ej., ensayo 2) significa que el número de copias es mayor que cero (p. ej., un número de copias de aproximadamente 1, un número de copias de aproximadamente 2 o un número de copias de aproximadamente 3) y "negativo" para un ensayo (p.ej., ensayo 2) significa que el número de copias es igual a cero (p. ej., es menor que uno).

Tal como se utiliza también en esta memoria, una "referencia" es un genoma u otra molécula de ácido nucleico que tiene un número de copias de genes fijo. En algunas realizaciones, la referencia puede ser un genoma de "tipo salvaje" (p. ej., un genoma de una célula que no ha tenido la primera y segunda moléculas de ácido nucleico de esta invención introducidas en él de acuerdo con los métodos de esta invención).

En realizaciones particulares de la invención, las sondas primera y segunda son sondas de fluorescencia y en algunas realizaciones, las sondas primera y segunda son sondas Taqman.

En algunas realizaciones de la invención, los ensayos de qPCR se realizan en la misma mezcla y en algunas realizaciones, los ensayos de qPCR se realizan en diferentes mezclas, en cualquier combinación.

En algunas realizaciones de los métodos descritos en esta memoria, el tejido puede ser una planta derivada de cultivo de tejido o semillas germinadas. En algunas realizaciones, la planta puede ser una monocotiledónea y en algunas realizaciones, la planta puede ser una dicotiledónea. En realizaciones particulares, la planta puede ser una planta de maíz. Otros ejemplos no limitantes de una planta de esta invención incluyen arroz, caña de azúcar, cebada, remolacha azucarera, patata, tabaco, soja, tomate, trigo y girasol.

En algunas realizaciones de los métodos descritos en esta memoria, la nucleasa puede ser una nucleasa no modificada por ingeniería (p. ej., una nucleasa en su forma "nativa" o de "tipo salvaje" sin modificaciones). En algunas realizaciones, la nucleasa puede ser una nucleasa modificada por ingeniería con especificidad para la diana de escisión programable. Ejemplos no limitantes de una nucleasa de esta invención incluyen la nucleasa CRISPR ARNg-Cas9 (por ejemplo, una nucleasa Cas9 que comprende la SEQ ID NO: 30) nucleasa de dedo de zinc, meganucleasa modificada por ingeniería y/o nucleasa efectora TAL, individualmente o en cualquier combinación.

En realizaciones en las que la planta es una planta de maíz, el sitio de escisión de nucleasa es un sitio de inserción de transgén MIR604 de maíz, a saber, una secuencia de nucleótidos con al menos 80%, al menos 85%, al menos 90%, al menos 93%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99% o 100% de identidad con la secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 2.

La presente invención proporciona adicionalmente un kit de reactivos e instrucciones para llevar a cabo los métodos y ensayos de esta invención. En algunas realizaciones, se proporciona un kit o un paquete que comprende las composiciones, formulaciones y/o los agentes para llevar a cabo los métodos de la presente invención. Por ejemplo, un kit puede incluir medios para obtener una célula o tejido, así como medios para obtener una muestra de ácido nucleico. El kit también puede contener reactivos para llevar a cabo las etapas de los métodos de esta invención. Dichos reactivos pueden incluir sondas y/o cebadores específicos para el sitio que facilitan el aislamiento y la

caracterización bioquímica de las moléculas de ácido nucleico de esta invención. El kit puede contener uno o más recipientes separados.

Aunque los materiales de instrucción, cuando están presentes, típicamente comprenden materiales escritos o impresos, no se limitan a los mismos. La presente invención contempla cualquier medio capaz de almacenar tales instrucciones y comunicarlas a un usuario final. Dichos medios incluyen, pero no se limitan a medios de almacenamiento electrónico (p. ej., discos magnéticos, cintas, cartuchos, chips), medios ópticos (p. ej., CD ROM) y similares. Dichos medios pueden incluir direcciones de sitios de Internet que proporcionan dichos materiales de instrucción.

Cuando los componentes del kit se proporcionan en una o más soluciones líquidas, la solución líquida es preferiblemente una solución acuosa, prefiriéndose particularmente una solución acuosa estéril. Sin embargo, los componentes del kit pueden proporcionarse en forma de polvo o polvos secos. Cuando los reactivos o componentes se proporcionan en forma de un polvo seco, el polvo se puede reconstituir mediante la adición de un disolvente adecuado. Se prevé que el disolvente también se pueda proporcionar en otro recipiente. Por ejemplo, en los casos en los que los componentes del kit están en forma liofilizada, el kit puede contener opcionalmente un medio de reconstitución estéril y fisiológicamente aceptable tal como agua, solución salina, solución salina tamponada y similares.

En algunas realizaciones, los recipientes del kit pueden incluir al menos un vial, tubo de ensayo, matraz, frasco, jeringa u otros recipientes, en los que las composiciones/formulaciones de la presente invención, y cualquier otro agente deseado, se pueden colocar y repartir de manera adecuada en partes alícuotas.

En realizaciones adicionales, la presente invención proporciona un método para producir una planta, parte de planta o progenie de la misma que comprende una mutación introducida en un sitio de escisión de nucleasa en un genoma de una célula vegetal y que carece de integración de una secuencia de nucleótidos heteróloga que codifica una nucleasa para la escisión dirigida al sitio de una secuencia de nucleótidos en el sitio de escisión de nucleasa en el genoma de la célula vegetal, que comprende: a) introducir en la célula vegetal una molécula de ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos heteróloga que codifica una nucleasa para la escisión dirigida al sitio de la secuencia de nucleótidos en el sitio de escisión de nucleasa en el genoma de la célula vegetal bajo condiciones en las que la expresión de la molécula de ácido nucleico se produce transitoriamente para producir la nucleasa y la nucleasa puede escindir la secuencia de nucleótidos en el sitio de escisión de nucleasa en el genoma de la célula vegetal, introduciendo así una mutación en el sitio de escisión de nucleasa en el genoma de la célula vegetal sin integración de la secuencia de nucleótidos heteróloga que codifica la nucleasa en el genoma de la célula vegetal; y b) regenerar una planta, parte de planta o progenie de la misma a partir de la célula vegetal de (a). En otra realización, la presente invención proporciona la célula vegetal producida por el método arriba descrito. En una realización adicional, la presente invención proporciona una planta o parte de planta regenerada o derivada de la célula vegetal producida por el método arriba descrito.

En algunas realizaciones del método arriba descrito, la planta es una monocotiledónea. En otras realizaciones, la planta es una dicotiledónea. En algunas realizaciones, la planta es un cereal. En otras realizaciones, la planta es maíz. Otros ejemplos no limitantes de una planta de esta invención incluyen arroz, caña de azúcar, cebada, remolacha azucarera, patata, tabaco, soja, tomate, trigo y girasol.

En algunas realizaciones de los métodos arriba descritos, la mutación comprende al menos una sustitución de nucleótidos, la delección de al menos un nucleótido o una combinación de sustitución, delección y/o inserción, tal como, por ejemplo, un INDEL.

En algunas realizaciones de los métodos arriba descritos, la molécula de ácido nucleico es suministro biolístico de ácido nucleico, transformación mediada por Agrobacterium o cualquier método de transformación de plantas conocido en la técnica.

En algunas realizaciones de los métodos arriba descritos, la nucleasa para la escisión dirigida al sitio es una nucleasa no modificada por ingeniería. En algunas realizaciones, la nucleasa puede ser una nucleasa modificada por ingeniería con especificidad para la diana de escisión programable. En algunas realizaciones, la nucleasa es una Cas9. En algunas realizaciones, la nucleasa es una Cas9 que comprende SEQ ID NO: 30.

La presente invención proporciona adicionalmente un método para producir una planta, parte de planta o progenie de la misma que comprende un transgén introducido en un sitio de escisión de nucleasa en un genoma de una célula vegetal y que carece de integración de una secuencia de nucleótidos heteróloga que codifica una nucleasa para la escisión dirigida al sitio de una secuencia de nucleótidos en el sitio de escisión de nucleasa en el genoma de la célula vegetal, que comprende: a) introducir en la célula vegetal una molécula de ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos heteróloga que codifica una nucleasa para la escisión dirigida al sitio de la secuencia de nucleótidos en el sitio de escisión de nucleasa en el genoma de la célula vegetal bajo condiciones en las que la expresión de la molécula de ácido nucleico se produce transitoriamente para producir la nucleasa y la nucleasa puede escindir la secuencia de nucleótidos en el sitio de escisión de nucleasa en el genoma de la célula vegetal, introduciendo

así una mutación en el sitio de escisión de nucleasa en el genoma de la célula vegetal sin integración de la secuencia de nucleótidos heteróloga que codifica la nucleasa en el genoma de la célula vegetal; y b) regenerar una planta, parte de planta o progenie de la misma a partir de la célula vegetal de (a) . En otra realización, la presente invención proporciona la célula vegetal producida por el método arriba descrito. En una realización adicional, la presente invención proporciona una planta o parte de planta regenerada o derivada de la célula vegetal producida por el método arriba descrito.

En algunas realizaciones del método arriba descrito, el transgén puede comprender al menos uno, al menos dos, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, al menos siete, al menos ocho, al menos nueve, al menos diez, o diez o más casetes de expresión.

En algunas realizaciones del método arriba descrito, el sitio de escisión de nucleasa es o está adyacente a una secuencia de nucleótidos que tiene al menos 80%, al menos 85%, al menos 90%, al menos 93%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99% o 100% de identidad con la secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 2.

En algunas realizaciones de los métodos arriba descritos, la planta es una monocotiledónea. En otras realizaciones, la planta es una dicotiledónea. En algunas realizaciones, la planta es un cereal. En otras realizaciones, la planta es maíz. Otros ejemplos no limitantes de una planta de esta invención incluyen arroz, caña de azúcar, cebada, remolacha azucarera, patata, tabaco, soja, tomate, trigo y girasol.

En algunas realizaciones de los métodos arriba descritos, la primera molécula de ácido nucleico y la segunda molécula de ácido nucleico se introducen al mismo tiempo, por ejemplo mediante co-transformación, suministro de ácido nucleico biolístico o transformación mediada por Agrobacterium. En algunas realizaciones, la primera molécula de ácido nucleico y la segunda molécula de ácido nucleico son moléculas separadas. En algunas realizaciones, una sola molécula o construcción de ácido nucleico comprende la primera molécula de ácido nucleico y la segunda molécula de ácido nucleico arriba descrita.

En algunas realizaciones de los métodos arriba descritos, la nucleasa para la escisión dirigida al sitio es una nucleasa no modificada por ingeniería. En algunas realizaciones, la nucleasa puede ser una nucleasa modificada por ingeniería con especificidad para la diana de escisión programable. En algunas realizaciones, la nucleasa es una Cas9. En algunas realizaciones, la nucleasa es una Cas9 que comprende SEQ ID NO: 30.

La presente invención proporciona, adicionalmente, un método para modificar un sitio diana en el genoma de una célula vegetal, que comprende: a) introducir en la célula vegetal un primer ácido nucleico que comprende al menos 100 nucleótidos contiguos, en donde los al menos 100 nucleótidos contiguos tienen al menos 90% identidad con un sitio diana en el genoma de la célula, y que, además, comprende un transgén; y b) una segunda nucleasa que codifica una molécula de ácido nucleico para la escisión dirigida al sitio en un sitio de escisión de nucleasa en el genoma de la célula adyacente a la secuencia de nucleótidos en el genoma de la célula que corresponde a los al menos 100 nucleótidos contiguos de (a), en donde la nucleasa es una nucleasa Cas9 modificada que comprende la SEQ ID NO: 30, bajo condiciones en las que puede producirse la expresión de la segunda molécula de ácido nucleico para producir la nucleasa y la nucleasa puede escindir en el sitio de escisión de nucleasa en el genoma de la célula y modificar el sitio diana en el genoma de la célula vegetal. En otra realización, la presente invención proporciona la célula vegetal producida por el método arriba descrito. En una realización adicional, la presente invención proporciona una planta o parte de planta regenerada o derivada de la célula vegetal producida por el método arriba descrito.

En algunas realizaciones del método arriba descrito, la planta es una monocotiledónea. En otras realizaciones, la planta es una dicotiledónea. En algunas realizaciones, la planta es un cereal. En otras realizaciones, la planta es maíz. En algunas realizaciones, el maíz es transgénico. En realizaciones adicionales, el maíz transgénico es el evento MIR604. Otros ejemplos no limitantes de una planta de esta invención incluyen arroz, caña de azúcar, cebada, remolacha azucarera, patata, tabaco, soja, tomate, trigo y girasol.

En algunas realizaciones de los métodos arriba descritos, la modificación del sitio diana comprende al menos una sustitución de nucleótidos, la delección de al menos un nucleótido o una combinación de sustitución, delección y/o inserción, tal como, por ejemplo, un INDEL. En otras realizaciones, la modificación del sitio diana es una inserción, tal como una inserción transgénica .

En algunas realizaciones de los métodos arriba descritos, la molécula de ácido nucleico es suministro biolístico de ácido nucleico, transformación mediada por Agrobacterium o cualquier método de transformación de plantas conocido en la técnica.

También se describe un método para integrar un transgén en un sitio de escisión de nucleasa genómica en un evento genoma de maíz transgénico MIR604, que comprende introducir en un evento célula de maíz MIR604: a) una primera molécula de ácido nucleico que comprende al menos 100 nucleótidos contiguos, en donde dichos al menos 100 nucleótidos contiguos tienen al menos un 90% de identidad con un sitio diana en una secuencia de nucleótidos seleccionada del grupo que comprende SEQ ID NO:133, SEQ ID NO: 134, SEQ ID NO: 135, SEQ ID NO: 136, SEQ

ID NO: 137, SEQ ID NO: 138, y SEQ ID NO: 139, y que, además, comprende un transgén; y b) una segunda molécula de ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica una nucleasa para la escisión dirigida al sitio en un sitio de escisión de nucleasa genómica adyacente a una secuencia de nucleótidos con al menos un 90% de identidad con una secuencia de nucleótidos seleccionada del grupo que comprende SEQ ID NO:133, SEQ ID NO: 134, SEQ ID NO: 135, SEQ ID NO: 136, SEQ ID NO: 137, SEQ ID NO: 138, y SEQ ID NO: 139, que corresponde a los al menos 100 nucleótidos contiguos de (a), bajo condiciones en las que puede producirse la expresión de la segunda molécula de ácido nucleico para producir la nucleasa y la nucleasa puede escindir la secuencia de nucleótidos en el sitio de escisión de nucleasa genómica, por lo que el transgen se integra en el sitio de escisión diana de nucleasa genómica en el genoma del maíz.

La presente invención proporciona, además, un método para producir una planta de maíz, parte de planta o progenie de la misma que comprende un transgén integrado en un sitio de escisión de nucleasa genómica en un evento genoma de maíz MIR604, que comprende regenerar una planta de maíz a partir de la célula de maíz producida por el método descrito en el párrafo anterior. La presente invención proporciona, además, una planta de maíz, parte de planta o progenie de la misma que comprende un transgén integrado en un sitio de escisión de nucleasa genómica en el evento genoma de maíz MIR604, producido por el método arriba descrito.

La presente invención se describirá ahora con referencia a los siguientes ejemplos. Debe apreciarse que estos ejemplos no pretenden limitar el alcance de las reivindicaciones de la invención, sino más bien que están destinados a ser ilustrativos de determinadas realizaciones. Se pretende que cualquier variación en los métodos ejemplificados que se le ocurra al experto en la técnica caiga dentro del alcance de la presente invención.

EJEMPLOS

Ejemplo 1. Regiones alrededor del sitio de inserción MIR604 del transgén como un potencial puerto seguro

Los siguientes criterios definidos artificialmente se utilizan para identificar potenciales regiones de puerto seguro genómico del maíz que son adecuadas para la integración del transgén fijado como objetivo y la expresión estable: (1) Regiones que contienen principalmente secuencias únicas, por lo que es adecuado para realizar una integración fijada como objetivo mediada por recombinación homóloga; (2) Regiones que no forman parte de un gen funcional conocido, incluidas las que codifican miARN; Idealmente, estas regiones deben ser al menos de 2 Kb aguas arriba de cualquier marco de lectura abierto conocido o 1 Kb aguas abajo de la región 3' no traducida (3'-UTR) de un gen; así, la integración del transgén no interrumpirá ninguna secuencia de genes endógena ni afectará la función de genes endógenos vecinos; (3) Regiones que no están cerca de regiones heterocromáticas con secuencias altamente repetitivas, tales como regiones pericentroméricas que pueden dar como resultado una expresión inestable de transgenes o silenciamiento potencial de transgenes insertados; (4) Regiones que no contienen elementos conocidos que actúan en *cis*, tales como potenciadores o represores, de modo que el patrón y el nivel de expresión transgénica se alteran inesperadamente cuando se insertan. (5) Regiones que tienen datos empíricos que muestran una buena expresión del transgén.

Se identifican varias regiones candidatas utilizando los criterios anteriores en el genoma del maíz, por ejemplo, en el cromosoma 1 entre las posiciones 38,555,000 y 38,605,000, entre las posiciones 38,640,000 y 38,715,000, y entre las posiciones 38,860,000 y 39,015,000 (Maíz B73 RefGen_V2). Dado que los eventos transgénicos comerciales tienen generalmente una buena expresión transgénica, los sitios de inserción de eventos comerciales también se examinan por su potencial para servir como puertos candidatos seguros. Sin embargo, casi todos ellos no cumplen con los criterios anteriores, excepto el evento de rasgo de resistencia del gusano de la raíz evento MIR604. Curiosamente, resulta que el inserto transgénico en MIR604 está ubicado en el cromosoma 1 entre las posiciones 39,014,056 y 39,014,148 cerca del final de la posición 39,015,000. Las regiones que flanquean el sitio de inserción MIR604 son únicas, ya que es el único de los muchos examinados que cumple con todos los criterios de puerto seguro. Dado que el evento MIR604 ha estado en el mercado durante varios años, la región alrededor del sitio de inserción es un candidato ideal como puerto seguro para la inserción de transgenes adicionales. Sin embargo, se muestra antes de que el transgen insertado en los loci transgénicos generados previamente también puede conducir a la variación de la expresión (Day et al. "Transgene integration into the same chromosome location can produce alleles that express at a predictable level or alleles that are differentially silenced *Genes and Develop.* 14:2869-2880 (2000)). Es importante verificar la hipótesis de que la región del sitio de inserción MIR604 es un buen puerto seguro para la expresión de nuevos alelos transgénicos en el mismo locus creado mediante transformación dirigida al sitio utilizando diferentes nucleasas dirigidas al sitio y enfoques de suministro.

Ejemplo 2. Clonación de las secuencias genómicas que flanquean el sitio de inserción de MIR604 en Hill

El evento transgénico MIR604 se generó a partir del vector binario pNOV2130 utilizando la transformación mediada por *Agrobacterium* de embriones inmaduros de maíz A188 utilizando manosa como selección. Las variedades de maíz que contienen el transgén MIR604 se cultivan ampliamente en los Estados Unidos. El evento MIR604 contiene la inserción de una sola copia de ADN-T de pNOV2130 en el genoma del maíz. Las secuencias del sitio de inserción

de MIR604 y sus regiones flanqueantes se describen en la Patente de EE.UU. N° 8.354.519, incorporada en su totalidad en esta memoria, y son como en la SEQ ID NO: 1.

Ejemplo 3. Clonación de secuencias cromosómicas correspondientes a las secuencias del locus 1 del puerto seguro (sitio de inserción MIR604) de una variedad de maíz de élite transformable NP2222

Las secuencias originales del sitio de inserción de MIR604 (SEQ ID. NO: 1) se derivaron de la variedad de transformación no élite A188. Es deseable insertar el transgen directamente en una variedad de transformación de élite. Sin embargo, las secuencias de la variedad diana de transformación de élite podrían ser diferentes a las de A188 y, por lo tanto, no serán reconocidas por las nucleasas dirigidas al sitio diseñadas utilizando las secuencias genómicas de A188. Para obtener secuencias genómicas correspondientes a las regiones flanqueantes del sitio de inserción MIR604 en la variedad de transformación de maíz de élite NP2222 (Patente de EE.UU. N° 9.133.474), los cebadores de PCR se diseñaron en base a secuencias flanqueantes del sitio de inserción MIR604 A188 y se utilizaron para amplificar las regiones correspondientes a partir de NP2222. Las secuencias amplificadas se secuenciaron y se ensamblan en un contig que se utilizó para el ensamblaje de lecturas de secuenciación profunda del genoma completo de Hi-Seq alrededor del sitio de inserción. Finalmente, se obtuvieron las secuencias genómicas NP2222, denominadas AX_MIR604, que corresponde al sitio de inserción A188 MIR604 y son como en la SEQ ID NO: 2. La comparación de secuencias demuestra que existen diferencias significativas en las secuencias genómicas entre NP2222 y A188, incluyendo muchos InDeles (inserciones/deleciones) y sustituciones de nucleótidos.

Ejemplo 4. Inserción fijada como objetivo de transgenes en el puerto seguro del sitio de inserción MIR604 mediada por la nucleasa CRISPR-Cas9 programable

Ejemplo 4.1. Introducción a las nucleasas CRISPR-Cas9 para mediar en la inserción fijada como objetivo

Inserción fijada como objetivo de secuencias transgénicas para reemplazar tramos cortos de secuencias de ADN (reemplazo del alelo) o insertar fragmentos grandes de ADN (inserción del transgén) puede estar mediada por roturas en el ADN introducidas por nucleasas CRISPR-Cas9 a través de recombinación homóloga (Shan et al., *Nature Biotechnology* 31:686-688 (2013); Wang et al., *Cell* 153:910-918 (2013); Yang et al., *Cell* 154:1370-1379 (2013); Puchta y Fauser, *Plant Journal* 78:727-741 (2014); Chen y Gao, *Plant Cell Rep.* 33:575-583 (2014)). En este ejemplo, las nucleasas CRISPR-Cas9 se utilizan para mediar en la inserción de moléculas de ADN grandes en la diana de puerto seguro cromosómica deseado en plantas de maíz. El sitio de inserción del evento MIR604 en la línea de maíz NP2222 se eligió como el puerto seguro de expresión transgénica provisional para estudiar la inserción transgénica mediada por Cas9/ARNg.

Ejemplo 4.2. Selección de secuencia diana del puerto seguro de candidatos (MIR604)

Las regiones de puerto seguro putativas en y alrededor del sitio de inserción MIR604 se escanean para detectar sitios de escisión potenciales de Cas9 utilizando la regla de 5'-G/A-(N)₁₈₋₂₀-NGG-3' en ambas cadenas, de modo que las secuencias del molde diana A(N)₁₈₋₂₀ y G(N)₁₈₋₂₀ que preceden al motivo de la secuencia 5'-NGG-3' se puedan colocar convenientemente bajo el control de un promotor de ADN PolIII como prOsU3 y prOsU6 del arroz, respectivamente. Muchas secuencias pueden identificarse como potenciales dianas de escisión de Cas9-ARNg alrededor del sitio de inserción de MIR604. Por ejemplo, las siguientes secuencias diana potenciales se identificaron para la escisión mediada por Cas9: 5'-AGTGC AGTGC AGTGC AGGAC AGG-3' (SEQ ID. NO:3), 5'-ACTAA TCGTG CTTCA CGCAC AGG-3' (SEQ ID. NO:4), 5'-AGGCA CAGCA CGTAG TAGAC AGG-3' (SEQ ID. NO:5); 5'-ACATG TCGAT CCGAC GACGA CCG-3' (SEQ ID. NO:6), 5'-AGTTT TATTA TAATC CGAA ACGG-3' (SEQ ID. NO:7), 5'-AATCC GAAAC GGAGC ACGCA CCG-3' (SEQ ID. NO:8), 5'-AAACG GAGCA CGCAC GGCGG TGG-3' (SEQ ID. NO:9), 5'-GGAGC ACGCA CGGCG GTGG AGG-3' (SEQ ID. NO:10), 5'-ATCCA AAGCT ACATC CGTGC AGG-3' (SEQ ID. NO:11), 5'-GTGCA GTGCA GTGCA GTGC AGG-3' (SEQ ID. NO:12), 5'-GGACA GGACC TCCTT TGTTT AGG-3' (SEQ ID. NO:13), 5'-GCGTG CGCAG AGCG CTGCT CCG-3' (SEQ ID. NO:14), 5'-GCGTC ATCCA TGTGT TC TGG-3' (SEQ ID. NO:15), 5'-GTCCA TCTCC ATTCA CTGGT T CCG-3' (SEQ ID. NO:16), 5'-AATGC CTGCA GAAGA GGCCG TGG-3' (SEQ ID. NO:17). De manera similar, también se identificaron las secuencias diana de la otra cadena, por ejemplo: 5'-GCGGC CGGCA CGTTG CTAAC C AGG-3' (SEQ ID. NO:18), 5'-AGAGA AGAAA AATTC GTCCA TGG-3' (SEQ ID. NO:19), 5'-GGCCT CTTCT GCAGG CATT TGG-3' (SEQ ID. NO:20), 5'-AAGGA ACCCG AACCA GTGAA TGG-3' (SEQ ID. NO:21), 5'-ATCGG TCCTAA ACAA GG AGG-3' (SEQ ID. NO:22), 5'-GGATG CAGCT TTGGC AACG AGG-3' (SEQ ID. NO:23), 5'-GTCGC GCAGC GCTCC TGCA CCG-3' (SEQ ID. NO:24), 5'-GCTCC TGCAC GGATG TAGCT T TGG-3' (SEQ ID. NO:25), 5'-GGATG TAGCT TTGGA TTGC TGG-3' (SEQ ID. NO:26), 5'-AAATA AAAAA ATCGG ATTAAGG-3' (SEQ ID. NO:27).

Una de las secuencias arriba enumeradas, 5'-AGTGC AGTGC AGTGC AGGAC AGG-3' (SEQ ID NO:3), que está situada muy próxima al sitio de inserción MIR604, se eligió como una secuencia diana para el ensayo de inserción de transgenes mediado Cas9-ARNg. Las secuencias (20 pb) que preceden al motivo PAM de reconocimiento de Cas9 (5'-NGG-3'), 5'-AGTGC AGTGC AGTGC AGGAC-3' (SEQ ID NO:28, conocido también como xMIR604FR2) se utilizaron para construir el vector de expresión de ARNs utilizando el promotor PolIII de arroz prOsU3 en el siguiente ejemplo.

Ejemplo 4.3. Diseño de CRISPR-Cas9 y ARN guía y vectores de expresión

Ejemplo 4.3.1. Optimización de Cas9 para la expresión en células de maíz

5 Con el fin de lograr una buena expresión en células de maíz, el gen Tipo II Cas9 de *Streptococcus pyogenes* SF370 se optimizó con codones de maíz preferidos (cBCas9Nu-01, SEQ ID NO:29) . Una señal de localización nuclear también se incorporó en el extremo C de Cas9 para mejorar su fijación como objetivo al núcleo (Cas9Nuc, SEQ ID NO:30). Para expresar la proteína Cas9 modificado (Cas9Nuc) en células de maíz, el gen Cas9 optimizado de maíz (cBCas9Nu-01, SEQ ID NO:29) se colocó bajo el control del promotor de ubiquitina-1 de maíz (prUbi1-10), seguido de una secuencia de terminador (tNOS).

Ejemplo 4.3.2. ARN guías (ARNg) para mediar en la modificación del puerto seguro del sitio de inserción MIR604: diseño de ARNg y su expresión

15 Para la escisión fijada como objetivo de la secuencia diana del puerto seguro nº 1 (sitio de inserción MIR604), (5'-AGTGC AGTGC AGTGC AGGAC AGG-3', SEQ ID NO:3), se diseñaron ARNcr de al menos 17 nucleótidos (nt) de longitud frente a la secuencia diana genómica del maíz (5'-AGTGC AGTGC AGTGC AGGAC-3', SEQ ID NO:28,) que precede a 5'-NGG-3' para el reconocimiento de la diana mediado por Cas9. Por ejemplo, ARNcr de 17 nt (5'-GC AGTGC AGTGC AGGAC-3', SEQ ID NO:31), 18-nt (5'-TGC AGTGC AGTGC AGGAC-3', SEQ ID NO:32), 19- nt (5'-GTGC AGTGC AGTGC AGGAC-3', SEQ ID NO:33), 20-nt (5'-AGTGC AGTGC AGTGC AGGAC - 3', SEQ ID NO:28) o 21-nt (5'-C AGTGC AGTGC AGTGC AGGAC - 3', SEQ ID NO:34) se pueden utilizar para guiar la escisión de Cas9 del puerto seguro nº 1 (sitio de inserción MIR604). El ARNcr diana se suministró conjuntamente con ARNtrac y la proteína Cas9 o ARNm para mediar en la escisión del sitio diana. Preferiblemente, la molécula de ARNcr se fusiona con la molécula de ARNtrac covalentemente para formar un ARN de guía única (ARNgs) . Los ARNg pueden sintetizarse químicamente o producirse por transcripción *in vitro*. Los ARNg producidos *In vitro* se pueden utilizar directamente para el suministro físico, tal como el bombardeo biolístico con ARN de Cas9 o proteína para mediar en la escisión diana y la modificación diana dirigida por homología si se suministra conjuntamente el oligonucleótido del donante de reparación. Más preferiblemente, ARNg se produce *in planta* a partir de un casete de expresión de ADN que comprende un promotor de ARN polimerasa III (PolIII), por ejemplo, los promotores de arroz U3 o U6 (prOsU3 y prOsU6). Para prOsU3, el sitio de inicio de la transcripción comienza con un nucleótido A, mientras que para prOsU6, el sitio de inicio de la transcripción comienza con el nucleótido G (Shan et al., (2013) *Nature Biotechnology* 31: 686-688; Xie y Yang, (2013) *Molecular Plant* 6:1975-1983). Por ejemplo, para producir ARNg que fija como objetivo la secuencia de puerto seguro nº 1 (sitio de inserción MIR604) (5'-AGTGC AGTGC AGTGC AGGAC AGG-3', SEQ ID NO:3), oligonucleótidos de ADN de 19-nt (5'-GTGC AGTGC AGTGC AGGAC-3', SEQ ID NO:33) or 20-nt oligonucleotides (5'-AGTGC AGTGC AGTGC AGGAC - 3', SEQ ID NO:28) se fusionaron a las secuencias de ADN que codifican el armazón de ARNtrac y las secuencias de terminación PolIII (5'-GTTTT AGAGC TAGAA ATAGC AAGTT AAAAT AAGGC TAGTC CGTTA TCAAC TTGAA AAAGT GGCAC CGAGT CCGTG CTTTT TTTTT-3', SEQ ID NO:35) (Mali et al. (2013). *Science* 339: 823-826) para formar una secuencia codificante para un ARN de guía única (ARNgs) denominado rBsgRNA-01 (SEQ. ID NO: 36), que se colocó bajo el control del promotor de la polimerasa III del arroz U3 (prOsU3) o U6 (prOsU6). Para este ejemplo, el casete de expresión comprendía prOsU3 y secuencias codificantes para el ARNg rBsgRNA-01, que comprende el ARN diana de xMIR604FR2 de 20 nt (SEQ ID NO: 28) fusionado con ARNtrac (SEQ ID NO: 37). El casete de expresión que comprende el promotor prOsU3 y rBsgRNA-01 ARNg se clonó en un vector de transformación biolística junto con el casete de expresión de Cas9. Este vector de transformación biolística se conoce como 22169.

Ejemplo 4.4. Generación de eventos de inserción fijados como objetivo en el puerto seguro del sitio de inserción MIR604

Ejemplo 4.4.1. Vector donante de construcción para inserción fijada como objetivo mediante recombinación homóloga

50 Un vector donante de fijación como objetivo de genes (al que se alude como 21942) se construyó insertando casetes de expresión para 2 genes de control de insectos (eCry3.1Ab y mCry3A) y el gen marcador seleccionable PMI entre dos brazos de homología (xJHAX-03, SEQ ID NO:38 y xJHAX-04, SEQ ID NO:39). Desde el extremo 5', la secuencia de ácido nucleico donante comprende xJHAX-03 operativamente enlazado a un casete de expresión eCry3.1Ab, que está operativamente enlazado a un casete de expresión mCry3A, que está operativamente enlazado a un casete de expresión cPMI, que está operativamente enlazado a xJHAX-04 (**Fig. 2**). Los dos brazos de homología (xJHAX-03 y xJHAX-04) tienen secuencias idénticas a parte de las secuencias de puerto seguro nº 1 (sitio de inserción MIR604) (SEQ ID NO: 2) y son para guiar la inserción fijada como objetivo de las secuencias del donante al sitio de escisión de Cas9 en el locus diana utilizando recombinación homóloga (**Fig. 2**).

Ejemplo 4.4.2. Generación de eventos de inserción fijados como objetivo en el puerto seguro del sitio de inserción MIR604 con bombardeo biolístico

65 Para la modificación de la secuencia del gen diana mediada por la reparación dirigida por homología, una molécula de ADN donante necesita ser suministrada conjuntamente con Cas9 y ARNg. Para generar potenciales eventos que

portan eventos de inserción fijados como objetivo al locus de puerto seguro nº 1, el plásmido de ADN de un vector (22169) que porta un casete de expresión para Cas9Nuc y ARNGs se mezcló con un fragmento de vector 21942 que comprende la secuencia de ácido nucleico donante (**Fig. 2**), que comprende los casetes de expresión y brazos de homología descritos en el ejemplo 4.4.1. El ADN (vector Cas9Nuc y ARNGs con secuencia de ácido nucleico donante) se precipitó luego sobre partículas de oro y se utilizó para bombardear embriones de maíz inmaduros (línea NP2222). Métodos para el bombardeo de embriones inmaduros de maíz, la regeneración del tejido por inducción de callos y métodos de enraizamiento se han descrito previamente (Wright et al., *Plant Cell Reports* 20:429–436 (2001)). Brevemente, se aislaron embriones inmaduros de espigas inmaduras cosechadas en aproximadamente 9-11 días después de la polinización y se pre-cultivaron durante 1 a 3 días en medios osmóticos. Embriones pre-cultivados fueron luego bombardeados con el ADN descrito anteriormente utilizando el sistema de suministro de partículas biolístico BioRad PDS-1000. Los embriones bombardeados se incubaron luego en medios de inducción de callos y luego se pasaron a medios de selección de manosa. Los callos resistentes a manosa se transfirieron a medios de regeneración para inducir la formación de brotes. Los brotes se sub-cultivaron luego en medios de enraizamiento. Luego, las muestras se recolectaron de las plantas enraizadas para los ensayos Taqman para detectar mutaciones en el sitio diana para enriquecer los potenciales eventos de inserción fijados como objetivo (descritos en esta memoria) y se realizaron PCR de unión para identificar las plantas potenciales que contenían la inserción fijada como objetivo (**Fig. 2 y Fig. 3**). Eventos de inserción específicos putativos identificados se caracterizaron además por PCR más detallada, secuenciación y análisis Southern para la confirmación (**Fig. 5**). La **Tabla 1** muestra un experimento (MZET134300) que resultó en la recuperación de un evento de inserción fijado como objetivo MZET134300A679A. En este experimento, más del 80% de los eventos transgénicos positivos para casetes de expresión de ácido nucleico donante (384 de 473 eventos) contienen modificaciones en la secuencia del sitio diana xMIR604FR2 (SEQ ID NO: 28). Las reacciones PCR se realizaron en un subconjunto de eventos y se identificó un evento de inserción fijado como objetivo limpia a través de recombinación homóloga por doble retrocruzamiento en ambos brazos de homología. La secuenciación de ADN adicional y el análisis de transferencia Southern confirmaron que el evento fue un evento de inserción fijado como objetivo limpia, lo que significa que este evento comprende una copia única de la secuencia de ácido nucleico donante descrita en el ejemplo 4.4.1, específicamente los casetes de expresión eCry3.1Ab, mCry3A y PMI, está libre de cadena principal, muestra evidencia de un evento de recombinación homóloga por doble retrocruzamiento y no tienen integración del vector de ADN que comprende la nucleasa. Este ejemplo demuestra que el sitio de inserción MIR604 es un buen sitio diana para la inserción fijada como objetivo.

Tabla 1 Experimentos de fijación de objetivo en maíz con nucleasa ARNGs-Cas9 en la secuencia diana del locus de puerto seguro nº 1 (sitio de inserción de MIR604) xMIR604FR2 (SEQ ID NO: 28)

ID Experimento	ADN utilizado para el bombardeo	Nº de embriones	Eventos transgénicos totales	Eventos con mutación del sitio diana	Eventos con potencial inserción fijada como objetivo	Eventos con inserción fijada como objetivo limpia confirmada
MZET134300	22169, 21942 (1:1, 8 x10 ¹⁰ moléculas de cada uno)	3620	473	384	29	1

Para determinar la eficacia de la modificación del genoma mediada por ARNGs-Cas9, los autores de la invención analizaron la presencia de mutaciones en todas las 473 plantas transgénicas descritas en la Tabla 1, utilizando ensayos Taqman de alto rendimiento tal como se describe en los Ejemplos posteriores. Dado que la transformación se realiza a través del suministro conjunto de construcciones de donante de reparación y nucleasa Cas9, esperaron ver la secuencia de ácido nucleico donante en plantas transgénicas que no contienen el vector de expresión Cas9Nuc. De hecho, de las 473 plantas PMI-positivas para la secuencia de ácido nucleico donante, 301 de ellas (63,6%) tienen y 172 de ellas (36,4%) no tienen un vector de expresión de nucleasa Cas9 co-integrado, respectivamente (Tabla 2). 83 plantas (17,5%) sin un vector de expresión de nucleasa Cas9Nuc (22169) co-integrado tienen su sitio diana (xMIR604FR2, SEQ ID NO: 28) modificado en un alelo (7 plantas) o en ambos alelos (76 plantas) del genoma del maíz (**Tabla 2**).

Además, los autores de la invención analizaron la presencia de mutaciones en plantas regeneradas que escaparon del proceso de selección de manosa o escaparon de la transformación que no contienen casetes de expresión de secuencia de ácido nucleico donante. Como era de esperar, de 471 escapes, solo 2 plantas son positivas para el vector de expresión de nucleasa Cas9Nuc y ambas de estas 2 plantas tienen mutaciones bialélicas en la diana genómica (**Tabla 2**). Sorprendentemente, un alto porcentaje de plantas de escape (23,9%, 112 de 469 plantas) negativas para cualquier transgén (casetes de expresión de secuencia de ácido nucleico del donante o vector de expresión Cas9Nuc) tienen mutaciones en la secuencia diana del puerto seguro nº 1 (sitio de inserción MIR604) xMIR604FR2 (SEQ ID NO: 28). 37 de estos 112 eventos tienen mutaciones bialélicas, es decir, ambas copias de la secuencia xMIR604FR2 (SEQ ID NO: 28) en el genoma del maíz están mutadas. Los 75 eventos restantes tienen

mutación en una de las copias de la secuencia. Este sorprendente resultado indica que la expresión transitoria de la nucleasa Cas9 y el ARNGs en las células de maíz es suficiente para generar mutaciones en las dianas cromosómicas. Además, la selección es opcional para obtener plantas mutantes. Si se rastrea un número suficiente de plantas regeneradas, los mutantes fijados como objetivo pueden identificarse fácilmente a través del suministro transitorio y la expresión de la proteína Cas9Nuc y el ARNG o los ARNG en células vegetales.

Tabla 2 Desglose de diferentes tipos de eventos en plantas regeneradas con mutagénesis fijada como objetivo mediada por ARNG-Cas9 en la secuencia diana del locus de puerto seguro nº 1 (sitio de inserción de MIR604) xMIR604FR2 (SEQ ID NO: 28)

Experimento MZET13430	Número	Porcentaje
Dianas de embriones inmaduros totales	3620	
Plantas regeneradas totales	944	
Plantas (PMI) positivas de ácido nucleico donante	473	13,1% ¹
(Transformantes)		
- Eventos sin modificación del sitio diana	89	
- Eventos con modificación del sitio diana	384	81,2%
□ Eventos con modificación monoalélica	20	
o Modificación monoalélica con co-integración de vector de Cas9	13	
o Modificación monoalélica sin co-integración de vector de Cas9	7	
□ Eventos con modificación bialélica	364	
o Modificación bialélica con co-integración de vector de Cas9	288	
o Modificación bialélica sin co-integración de vector de Cas9	76	
Plantas (PMI) negativas de ácido nucleico donante	471	13,0% ²
(Escapes)		
- Eventos sin modificación del sitio diana	357	75,8%
- Eventos con modificación del sitio diana	114	24,2%
□ Eventos con modificación monoalélica	75	15,9%
o Modificación monoalélica con co-integración de vector de Cas9 (22169)	0	
o Modificación monoalélica sin co-integración de vector de Cas9 (22169)	75	15,9%
□ Eventos con modificación bialélica	39	8,3%
o Modificación bialélica con co-integración de vector de Cas9 (22169)	2	
o Modificación bialélica sin co-integración de vector de Cas9 (22169)	37	7,9%
Número total de eventos con mutaciones en el sitio diana	498	52,7%

¹La frecuencia de transformación es 13,1%

²La frecuencia de escape es 13,0%

Ejemplo 4.4.3. Generación de eventos de inserción fijados como objetivo en el puerto seguro del sitio de inserción MIR604 con transformación mediada por *Agrobacterium*

La inserción fijada como objetivo de transgenes en el locus de puerto seguro también se puede generar con donantes de ADN y vectores de expresión para la nucleasa Cas9 y el ARNGs suministrado a través de *Agrobacterium*. Métodos de transformación mediada por *Agrobacterium* se han descrito en otra parte (Ishida et al., *Nat. Biotechnol.* 14:745–750 (1996)). Brevemente, se construyen vectores binarios para suministrar ADN de donante y casetes de expresión de Cas9 y ARNGs. ADN donante puede ser introducido en el mismo vector binario como casetes de expresión de Cas9 y ARNGs, o se puede introducir en ADN-T separado en el mismo vector binario, o puede introducirse en vectores binarios separados que pueden ser transformados en a la misma cepa de *Agrobacterium* o en cepas separadas de *Agrobacterium* y suministradas juntas mediante co-transformación. Para construir un vector binario para el suministro mediado por *Agrobacterium* de Cas9 y ARNGs, se inserta un fragmento de ADN que contiene los casetes de expresión de Cas9 y ARNGs en la cadena principal del vector binario para formar pB-Cas9-U3-xMIR604FR2.

De manera similar, un vector donante binario se construye insertando un fragmento de ácido nucleico que contiene brazos de homología (xJHAX-03 y xJHAX-04), un casete de expresión eCry3.1Ab, un casete de expresión mCry3A y un casete de expresión de marcador PMI en un vector binario. Ambos vectores binarios se introducen en la cepa LBA4404 de *Agrobacterium* que contiene un plásmido helper mediante electroporación. Cepas de *Agrobacterium* que contienen estos vectores binarios se mezclan y luego se utilizan para co-infectar embriones inmaduros de maíz. Los embriones infectados se cultivan conjuntamente con células de *Agrobacterium* durante 2-4 días y luego se utilizan para inducir callos. Los callos se seleccionan con medios que contienen manosa y los callos resistentes a la manosa se regeneran en plántulas utilizando un método similar a Negrotto et al. *Plant Cell Rep.* 19:798–803 (2000). Se toman muestras de plántulas enraizadas para ensayos de qPCR Taqman para enriquecer los potenciales eventos de inserción fijada como objetivo tal como se describe en los Ejemplos posteriores y luego se llevan a cabo análisis de PCR de unión para identificar eventos de inserción fijados como objetivo tal como se muestra en la **Fig. 2** y la **Fig. 3**. Los supuestos eventos de inserción fijados como objetivo identificados se caracterizan adicionalmente en detalle por análisis Southern y secuenciación de productos de PCR.

Ejemplo 5. Inserción fijada como objetivo de secuencias de transgenes en el puerto seguro del sitio de inserción MIR604 mediada por nucleasas TALE (TALEN)

Ejemplo 5.1. Selección de la diana de reconocimiento de TALEN frente a secuencias AX -MIR604

Las secuencias diana se seleccionaron de AX_MIR604 (SEQ ID NO: 2) para el diseño TALEN. La **Tabla 3** enumera las secuencias seleccionadas, sus nombres y números de identificación.

Tabla 3. Secuencias diana de TALEN seleccionadas basadas en secuencias genómicas de NP2222 (SEQ ID NO: 2)

Nombre de diana TALEN	Secuencia (5' a 3')	Longitud	Identificador de secuencia
MIR604A1FW1	TTGCT ACTCC ATGTG ACT	18	SEQ ID NO:40
MIR604A1RV1	TTGTC ATATT CTTTT T	16	SEQ ID NO:41
MIR604A2FW1; también conocido como mir604Fw1	TACAC GTACT AATCG TGCT	19	SEQ ID NO:42
MIR604A2RV1; aka. mir604Rv1	TCCTG TCTAC TACGT GCT	18	SEQ ID NO:43
MIR604A2RV2	TTGTT CCTGT CTA CT ACT ACGT	19	SEQ ID NO:44
MIR604A3FW1	TTGGT CTTTG ATGAG GTGAT	20	SEQ ID NO:45
MIR604A3RV1	TCGAC ATGTA CAAAG TAGGT	20	SEQ ID NO:46
MIR604A4FW1	TTCGG AAACA TCCTT TAAT	19	SEQ ID NO:47
MIR604A4RV1	TTATA ATAAA ACTAA TATT	19	SEQ ID NO:48
MIR604A5FW1	TAATA AATAA ATAAA TAAAT	20	SEQ ID NO:49
MIR604A5RV1	TTGGA TTGCT GGATA ATGT	19	SEQ ID NO:50
MIR604A6FW1	TCGTT GCCAA AGCTG CAT	18	SEQ ID NO:51
MIR604A6RV1	TCCTG TCCTG CACTG CACT	19	SEQ ID NO:52
MIR604A7FW1; aka. mir604Fw2	TGCAT CCGTG CAGTG CAGT	19	SEQ ID NO:53
MIR604A7RV1; también conocido como mir604Rv2	TCCTA AACAA AGGAG GT	17	SEQ ID NO:54
MIR604A8FW1	TAGGA CGCGA TGCTG CT	17	SEQ ID NO:55
MIR604A8RV1	TGCGC ACGCA AGTGT CGT	18	SEQ ID NO:56
MIR604A9FW1	TCCAT CTCCA TTCAC TGGT	19	SEQ ID NO:57
MIR604A9RV1	TTCTG CAGGC ATTTG GCAT	19	SEQ ID NO:58
MIR604A10FW1	TTTTT TTCTC TTCTC GAT	18	SEQ ID NO:59
MIR604A10RV1	TAACC AGGCT AGCTT CGTT	19	SEQ ID NO:60
MIR604A11FW1	TAAGC TACAA AAGAA CGC	18	SEQ ID NO:61
MIR604A11RV1	TGTTT CGCGG CCGGC CCT	18	SEQ ID NO:62
MIR604A12FW1	TTTCC GTCCT GGCCT GTC	18	SEQ ID NO:63
MIR604A12RV1	TCGTC CGACG ACGAT CGAT	19	SEQ ID NO:64
MIR604Rv2-LT	TCCTA AACAA AGGAG GTCC	19	SEQ ID NO:65

Ejemplo 5.2. Diseño de nucleasas de fusión TALEN contra secuencias de puerto seguro del sitio de inserción MIR604 seleccionadas

La especificidad de unión al ADN de TALEN está diseñada contra las secuencias diana en la **Tabla 3**. Como ejemplo, aquí está el diseño de dos pares de TALEN heterodiméricos para escindir secuencias diana MIR604AXA2 (*también*

5 conocidas como MIR604FR1, SEQ ID NO:66, 5'-TACAC GTACT AATCG TGCTT CACGC ACAGG CACAG CACGT AGTAG ACAGG A-3') y MIR604AXA7 (también conocido como MIR604FR2, SEQ ID NO:67, 5'-TGCAT CCGTG CAGTG CAGTG CAGTG CAGGA CAGGA CCTCC TTTGT TTAGG A-3'). Monómeros individuales TALEN que reconocen 2 dianas, MIR604A2FW1 (también conocido como mir604Fw1, 5'-TACAC GTACT AATCG TGCT-3', SEQ ID NO:42) y MIR604A2RV1 (también conocido como mir604Rv1, 5'-TCCTG TCTAC TACGT GCT-3', SEQ ID NO:43) dentro de la secuencia MIR604AXA2, se ensamblaron individualmente. Para TALEN contra MIR604A2FW1 (también conocido como mir604Fw1, 5'-TACAC GTACT AATCG TGCT-3', SEQ ID NO:42), la especificidad que determina di-residuos dentro de las repeticiones RVD (siglas inglesas de Repetición-Variable Di-residuos) son como las siguientes,

Posición RVD	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
Residuo RVD	N/D	NI	HD	NI	HD	NN	NG	NI	HD	NG	NI	NI	NG	HD	NN	NG	NN	HD	NG
Nucleótido diana	T	A	C	A	C	G	T	A	C	T	A	A	T	C	G	T	G	C	T

10 Para TALEN contra MIR604A2RV1 (también conocido como mir604Rv1, 5'-TCCTG TCTAC TACGT GCT-3', SEQ ID NO:43), la especificidad que determina di-residuos dentro de las repeticiones DVR son como las siguientes,

Posición RVD	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
Residuo RVD	N/D	HD	HD	NG	NN	NG	HD	NG	NI	HD	NG	NI	HD	NN	NG	NN	HD	NG
Nucleótido diana	T	C	C	T	G	T	C	T	A	C	T	A	C	G	T	G	C	T

15 Los autores de la invención construyeron tres versiones de cada uno de los TALEN que contienen los RVD que reconocen mir604Fw1 (SEQ ID NO: 42), una primera versión de longitud completa que mantiene la mayoría de las secuencias de proteínas efectoras de TAL, tales como T3SS N-terminal y los NLS después de la región de repetición RVD (cTNmir604Fw1-01, SEQ ID NO:68), una segunda versión más corta que ha separado el T3SS N-terminal (cTNmir604Fw1-02, SEQ ID NO:69) y una tercera versión corta con eliminaciones en el T3SS N-terminal y también NLS después de la región de repetición RVD (cTNmir604Fw1-03, SEQ ID NO:70). De manera similar, construyeron
 20 tres versiones de cada uno de los TALEN que contienen los RVD que reconocen mir604Rv1 (SEQ ID NO: 43), una primera versión de longitud completa que mantiene la mayoría de las secuencias de proteínas efectoras de TAL, tale como T3SS N-terminal y los NLS después de la región de repetición RVD (cTNmir604Rv1-01, SEQ ID NO:71), una segunda versión más corta que ha separado el T3SS N-terminal (cTNmir604Rv1-02, SEQ ID NO: 72) y una tercera versión corta con deleciones en el T3SS N-terminal y también NLS después de la región de repetición DVR
 25 (cTNmir604Rv1-03, SEQ ID NO: 73). Las secuencias de aminoácidos de estas nucleasas modificadas se muestran en SEQ ID NO:68 (cTNmir604Fw1-01), SEQ ID NO:69 (cTNmir604Fw1-02), SEQ ID NO:70 (cTNmir604Fw1-03), SEQ ID NO:71 (cTNmir604Rv1-01), SEQ ID NO:72 (cTNmir604Rv1-02) y SEQ ID NO:73 (cTNmir604Rv1-03).

30 Monómeros individuales TALEN que reconocen otros 2 secuencias diana, MIR604A7FW1 (también conocida como mir604Fw2, 5'-TGCAT CCGTG CAGTG CAGT-3', SEQ ID. NO:53) y MIR604A7RV1 (también conocida como mir604Rv2, 5'-TCCTA AACAA AGGAG GT-3', SEQ ID NO:54) dentro de MIR604AXA7 (también conocida como secuencia mir604FR2, SEQ ID. NO:67), también se ensamblaron individualmente. Para los TALEN contra MIR604A7FW1 (también conocida como mir604Fw2, 5'-TGCAT CCGTG CAGTG CAGT-3', SEQ ID NO:53), la especificidad que determina los di-residuos dentro de las repeticiones RVD son las siguientes,

35

Posición RVD	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
Residuo RVD	N/D	N	H	N	N	H	H	N	N	N	H	NI	N	N	N	H	NI	N	NG
Nucleótido diana	T	G	C	A	T	C	C	G	T	G	C	A	G	T	G	C	A	G	T

Para TALEN contra MIR604A7RV1 (también conocida como mir604Rv2, 5'-TCCTA AACAA AGGAG GT-3', SEQ ID NO:54), la especificidad que determina di-residuos dentro de las repeticiones DVR son como las siguientes,

Posición RVD	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
Residuo RVD	N/D	HD	HD	NG	NI	NI	NI	HD	NI	NI	NI	NN	NN	NI	NN	NN	NG

Nucleótido diana	T	C	C	T	A	A	A	C	A	A	A	G	G	A	G	G	T
---------------------	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

Los autores de la invención construyeron tres versiones de cada uno de los TALEN que contiene los RVD que reconocen mir604Fw2 (SEQ ID NO: 53), una primera versión de longitud completa (cTNmir604Fw2-01, SEQ ID NO.74) que mantiene la mayoría de las secuencias de proteínas efectoras de TAL, tales como el T3SS N-terminal y los NLS después de la región de repetición RVD, una segunda versión más corta (cTNmir604Fw2-02, SEQ ID NO.75) que ha separado el T3SS N-terminal y una tercera versión corta (cTNmir604Fw2-03, SEQ ID NO. 76) que tiene delecciones en el T3SS N-terminal y también NLS después de la región de repetición RVD. De manera similar, construyeron tres versiones de cada uno de los TALEN que contiene los RVD que reconocen MIR604Rv2 (SEQ ID NO: 50), una primera versión de longitud completa (cTNmir604Rv2-01, SEQ ID NO.77) que mantiene la mayoría de las secuencias de proteínas efectoras TAL, tales como el T3SS N-terminal y los NLS después de la región de repetición RVD, una segunda versión más corta (cTNmir604Rv2-02, SEQ ID NO.78) que ha separado el T3SS N-terminal y una tercera versión corta (cTNmir604Rv2-03, SEQ ID NO.79) con delecciones en el T3SS N-terminal y también NLS después de la región de repetición RVD.

Para la escisión de la secuencia MIR604AXA7 (también conocida como mir604FR2, SEQ ID NO. 67), se ensamblaron otro par de TALENS que tienen secuencias de aminoácidos ligeramente diferentes y especificidad de reconocimiento: cTNmir604Fw2-05 (SEQ ID NO.80) que contiene los RVD que reconocen mir604Fw2 (SEQ ID NO:53) and cTNmir604Rv2-04 (SEQ ID NO.81) que contienen los RVD que reconocen MIR604Rv2-LT (SEQ ID NO:65, 5'-TCCTA AACAA AGGAG GTCC-3'), respectivamente. Las secuencias de aminoácidos de estas nucleasas modificadas están en SEQ ID NO.74 (cTNmir604Fw2-01), SEQ ID NO.75 (cTNmir604Fw2-02), SEQ ID NO.76 (cTNmir604Fw2-03), SEQ ID NO.77 (cTNmir604Rv2-01), SEQ ID NO.78 (cTNmir604Rv2-02), SEQ ID NO.79 (cTNmir604Rv2-03), SEQ ID NO.80 (cTNmir604Fw2-05) y SEQ ID NO.81 (cTNmir604Rv2-04).

Ejemplo 5.3. Ensamblaje de TALEN contra secuencias de locus de inserción AX-MIR604

Secuencias de proteínas nucleasa de fusión TALE artificiales (SEQ ID NO: 68 a SEQ ID NO.81) se volvieron a traducir en secuencias codificantes de ADN utilizando codones preferidos de plantas para maximizar la expresión en maíz y otras plantas monocotiledóneas. Algunos de los ejemplos se muestran aquí. Por ejemplo, SEQ ID NO: 82 es la secuencia codificante de ADN para la secuencia de proteína cTNmir604Fw1-01 (SEQ ID NO: 68) y SEQ ID NO: 84 es la secuencia codificante de ADN para la secuencia de proteína cTNmir604Rv1-01 (SEQ ID NO: 71). Las secuencias de ADN de nucleasa de fusión artificial se ensamblaron luego a partir de una colección de fragmentos que contenían diferentes repeticiones de RVD, promotor y terminador para formar casetes de expresión TALEN directamente después de la digestión y el ligamiento de enzimas de Tipo IIs tal como se describe (Cermak et al., *Nucleic Acid Research* 39(12):e82 (2011); Zhang et al., *Nature Biotech* 29:149-154 (2011)). Por ejemplo, la construcción de informador ensamblada MIRA2R1FLA-GUUS contiene la secuencia TALEN ensamblada TLNMR604A2RV1 (SEQ ID NO: 84) que codifica cTNmir604Rv1-01 (SEQ ID NO: 71) bajo el control del promotor de ubiquitina de maíz (prZmUbi1-10) y también tiene un casete de sustrato de ensayo de recombinación GUS no funcional que contiene una repetición directa del fragmento GUS y una repetición invertida de la secuencia de reconocimiento TALEN de 18 pb MIR604A2RV1 (también conocida como mir604Rv1, 5'-TCCTG TCTAC TACGT GCT-3', SEQ ID NO:43). De manera similar, las construcciones de expresión que contienen otros TALEN ensamblados se ensamblan de manera similar. En muchos casos, casetes de expresión para un par de TALEN, p. ej., cTNmir604Fw1-01 (SEQ ID NO:68) y cTNmir604Rv1-01 (SEQ ID NO:71) que reconocen y escinden una secuencia diana MIR604AXA2 (también conocida como MIR604FR1, 5'-TACAC GTACT AATCG TGCT T CACGC ACAGG CAC AG CACGT AGTAG ACAGG A-3', SEQ ID NO:66, solo se muestra la cadena superior), se colocan en el mismo vector de transformación con el fin de coordinar su expresión simultánea en el tejido diana durante la transformación.

Ejemplo 5.4. Ensayo transitorio para la actividad TALEN contra secuencias de ADN AX_MIR604

La construcción ensamblada MIRA2R1FLA-GUUS que contiene la secuencia ensamblada TALEN (SEQ ID NO: 84) que codifica cTNmir604Rv1-01 (SEQ ID NO: 71) bajo el control del promotor de ubiquitina del maíz (prZmUbi1-10) y el casete de sustrato de ensayo de recombinación GUS no funcional fueron bombardeados en embriones de maíz inmaduros. La repetición directa del fragmento GUS también contiene una repetición invertida de la secuencia de reconocimiento cTNmir604Rv1-01 TALEN mir604Rv1 (5'-TCCTG TCTAC TACGT GCT-3', SEQ ID. NO:43). De manera similar, las construcciones de expresión que contienen secuencias de ADN que codifican cTNmir604Fw1-01, cTNmir604Fw1-02, cTNmir604Fw1-03, cTNmir604Rv1-02, cTNmir604Rv1-03, o los pares correspondientes de ellas, fueron bombardeadas en embriones de maíz junto con sus sustratos diana. En muchos casos, los casetes de expresión para un par de TALEN que reconocen y escinden una secuencia diana, p. ej., cTNmir604Fw1-01 and cTNmir604Rv1-01 para MIR604AXA2 (también conocida como mir604FR1, SEQ ID NO:66), se dispusieron en el mismo vector de transformación en orden para coordinar su expresión simultánea en el tejido diana. 1 a 4 días después del bombardeo, los embriones de maíz transformados se colocaron en solución X-Gluc durante la noche para detectar histoquímicamente la actividad de GUS. La actividad de GUS solo es visible cuando la repetición GUUS se somete a recombinación intramolecular. La co-expresión de un par de TALEN (cTNmir604Fw1-01 y cTNmir604Rv1-01) que reconocen la diana MIR604FR1 (SEQ ID NO: 66) aumenta en gran medida el número de puntos azules (Fig.

4, tratamiento FR1), lo que sugiere que la secuencia diana es escindida por el par de TALEN heterodiméricos para aumentar la frecuencia de recombinación homóloga.

Ejemplo 5.5. El locus cromosómico de maíz que contiene los sitios de reconocimiento diana se escinde a alta frecuencia mediante TALEN artificiales

Para testar la escisión de la secuencia diana cromosómica mir604FR2 (SEQ ID NO: 67) por TALEN expresados en células de maíz, se utilizaron dos pares diferentes de TALEN. El primer par de TALEN estaba en un vector de expresión único (21321) que comprendía secuencias de ácido nucleico que codificaban la expresión de cTNmir604Fw2-03 y cTNmir604Rv2-03, y el segundo par de TALEN estaba en un solo vector de expresión (21998) que comprendía secuencias de ácido nucleico que codifican la expresión de cTNmir604Fw2-05 y cTNmir604Rv2-04. Los vectores de expresión (21321 y 21998) fueron cada uno co-suministrados por transformación biolística en embriones de maíz junto con el vector donante 21942 descrito en el Ejemplo 4.4.1. Los embriones transformados se seleccionaron en manosa para recuperar plantas transgénicas estables. Se analizaron plantas transgénicas estables para detectar la presencia de mutaciones en la región diana utilizando el ensayo Taqman qPCR y/o la secuenciación de productos de PCR. Los resultados en la **Tabla 4** demuestran que para los dos pares de TALEN para el sitio diana MIR604FR2 (5'-TGCAT CCGTG CAGTG CAGTG CAGTG CAGGA CAGGA CCTCC TTTGT TTAGG A- 3', SEQ ID NO:67) resultó en un alto porcentaje de mutación en transformantes estables cuando los vectores de expresión TALEN se se suministran a células vegetales con un método biolístico. Tanto la versión de longitud completa como la versión truncada de TALEN pueden mediar de manera eficiente en la mutagénesis fijada como objetivo en los loci diana.

Curiosamente, los autores de la invención también detectaron mutaciones del locus del sitio de inserción MIR604 del sitio diana mir604FR2 (5'-TGCAT CCGTG CAGTG CAGTG CAGTG CAGGA CAGGA CCTCC TTTGT TTAGG A- 3', SEQ ID NO:67) en muchas plantas de escape de selección de manosa regenerada. Por ejemplo, en experimentos de co-transformación con vector TALEN vector 21321 y de 21942 donante (**Tabla 4**), 14 de las plantas generadas, a saber, MZET130501B017A, MZET130501B038A, MZET130501B027A, MZET130501B031A, MZET130501A012A, MZET130501B041A, MZET130501B096A, MZET130402A030A, MZET130501B044A, MZET130501B057A, MZET130501B084A, MZET130501B130A, MZET130501B045A, MZET130704C003A, contenían una mutación en la secuencia diana mir604FR2, pero no albergaban transgenes detectables de los vectores donantes o de expresión de TALEN y, por lo tanto, eran escapes de la selección de manosa. En estas plantas de escape, aproximadamente el 5% de ellas tienen mutaciones en el sitio diana mir604FR2 y algunas de ellas tienen los dos alelos de las secuencias diana mir604FR2 mutadas. Por lo tanto, es un enfoque viable recuperar plantas con mutaciones en sitios diana mediante el suministro transitorio de TALEN y luego la regeneración de plantas no transformadas directamente sin selección. Las plantas mutantes se pueden identificar mediante el rastreo de la población de regenerantes con ensayos adecuados tales como la PCR.

Para analizar la escisión del locus diana cromosómico por TALEN expresados en células de maíz suministradas por *Agrobacterium*, se construyeron 4 vectores binarios diferentes (21631, 21632, 21633 y 21634) que contienen casetes de expresión de diferentes pares de TALEN. Los cuatro vectores binarios comprenden la secuencia de ácido nucleico donante que comprende casetes de expresión para eCry3.1Ab, mCry3A y PMI. 21631 y 21633 , además, comprenden secuencias de ácidos nucleicos que codifican la expresión de cTNmir604Fw1-01 y cTNmir604Rv1-01; 21632 y 21634 comprenden, adicionalmente, secuencias de ácidos nucleicos que codifican la expresión de cTNmir604Fw2-01 y cTNmir604Rv2-01. 21631 y 21632 tienen los casetes de expresión TALEN y el donante que fija como objetivo genes en un ADN-T, mientras que 21633 y 21634 los tienen en dos ADN-T separados. Se espera que la expresión del par de TALEN en 21631 y 21633 dé como resultado la escisión de la secuencia diana cromosómica MIR604AXA2 (*también conocida como*). MIR604FR1, 5'-TACAC GTACT AATCG TGCTT CACGC ACAGG CACAG CACGT AGTAG ACAGG A-3', SEQ ID NO:66) en el genoma de maíz. De manera similar, la expresión del par de TALEN en 21632 y 21634 debería dar como resultado la escisión de la secuencia diana cromosómica MIR604AXA7 (*también conocida como*) MIR604FR2, 5'-TGCAT CCGTG CAGTG CAGTG CAGTG CAGGA CAGGA CCTCC TTTGT TTAGG A- 3', SEQ ID NO:67) en el genoma del maíz. Estos vectores se transformaron en embriones de maíz mediante el método de transformación mediado por *Agrobacterium*. Se analizaron plantas transgénicas estables para detectar la presencia de mutaciones en la región diana utilizando el ensayo Taqman qPCR y/o la secuenciación de productos de PCR. Los resultados en la **Tabla 4** muestran que para ambos pares de TALEN para el sitio diana MIR604FR1 (SEQ ID NO:66) y MIR604FR2 (SEQ ID NO:67) dieron como resultado un alto porcentaje de mutación en transformantes estables cuando se suministraron mediante transformación mediada por *Agrobacterium* (**Tabla 4**).

Tabla 4 Alta tasa de mutagénesis de las secuencias diana mir604FR1 (SEQ ID NO: 66) y mir604FR2 (SEQ ID NO: 67) en el locus del sitio de inserción cromosómico MIR604 nativo en transformantes estables derivados de la co-transformación de un vector de expresión TALEN y un vector donante que contiene el gen marcador seleccionable PMI

Locus diana	Método de suministro	Vector de nucleasa	Donante	Nº de experimentos	Explantes totales	Nº de eventos estables	Nº de eventos con mutación del sitio diana	Frecuencia de mutación (% de transformantes)
-------------	----------------------	--------------------	---------	--------------------	-------------------	------------------------	--	--

Diana FR2 del sitio de inserción MIR604	Biolística	21321	21942	7	6279	132	46	34,8%
Diana FR2 del sitio de inserción MIR604	Biolística	21998	21942	2	7845	519	148	28,5%
Diana FR1 del sitio de inserción MIR604	Agrobacterium	21631	21631	3	4521	492	134	27,2%
Diana FR1 del sitio de inserción MIR604	Agrobacterium	21633	21633	3	5305	1024	218	21,3%
Diana FR2 del sitio de inserción MIR604	Agrobacterium	21632	21632	3	4633	673	316	47,0%
Diana FR2 del sitio de inserción MIR604	Agrobacterium	21634	21634	2	5764	990	247	24,9%

Ejemplo 5.6. Inserción fijada como objetivo de secuencias transgénicas en el locus cromosómico NP2222 correspondiente al sitio de inserción MIR604 mediado por TALEN ensamblados

5 Embriones inmaduros cultivados de la línea endogámica de élite de maíz NP2222 se transformaron conjuntamente con el vector donante de fijación de objetivo 21942 y el vector de expresión TALEN 21321 o 21998 utilizando bombardeo de partículas (**Tabla 4** y **Tabla 5**). El vector donante de fijación de objetivo 21942 contiene casetes de expresión génica de rasgos flanqueados por regiones de homología (xJHAX-03 y xJHAX-04) que flanquean el sitio de escisión de TALEN (SEQ ID NO: 67) en el sitio de inserción de MIR604. La **Tabla 5** muestra los resultados del análisis para la potencial inserción dirigida en el sitio de escisión MIR604FR2 (SEQ ID NO: 67). Se obtienen cuatro eventos que muestran productos de PCR esperados para la recombinación homóloga de doble cadena de 519 eventos estables PMI-positivos (**Tabla 5**). De estos, un evento único se identificó como un evento limpio, lo que significa que comprende una única copia de la secuencia de ácido nucleico donante descrita en el ejemplo 4.4.1, específicamente los casetes de expresión eCry3.1Ab, mCry3A y PMI, está libre de cadena principal, muestra evidencia de un evento de recombinación homóloga de doble retrocruzamiento y no tiene integración del vector de ADN que comprende la nucleasa.

Tabla 5 Inserción dirigida de casetes de expresión mCry3A, eCry3.1Ab y PMI en el locus de puerto seguro nativo (locus del sitio de inserción MIR604 nativo) mediada por la escisión de la secuencia FR2 por TALEN

Método de suministro	Vector de nucleasa	Donante	Número de Expl.	Explantos totales	eventos positivos	eventos fijados como objetivo	Eventos de bajo número de copias intactas
Biolística	21998:	21942	2	7845	519	4	1

20 En los experimentos anteriores, la transformación se realizó utilizando bombardeo de partículas de embriones inmaduros cultivados. Sin embargo, los embriones inmaduros o callos derivados de embriones cultivados también pueden utilizarse como dianas. La transformación también se puede hacer utilizando un método de suministro de genes mediado por *Agrobacterium*, tal como se muestra en la **Tabla 4** utilizando tejidos diana como embriones inmaduros, embriones cultivados o callos derivados de embriones cultivados. Por ejemplo, la transformación mediada por *Agrobacterium* y la recuperación de eventos como resultado de la inserción fijada como objetivo mediada por TALEN en el sitio diana se puede hacer utilizando la selección de manosa de la manera descrita en la técnica (Patente de EE.UU. N° 7.935.862, por ejemplo), en donde, por ejemplo, los embriones inmaduros NP2222 se utilizan como dianas de transformación.

Ejemplo 6. Inserción fijada como objetivo de transgenes en el puerto seguro (sitio de inserción MIR604) mediada por meganucleasas modificadas

Ejemplo 6.1. Selección de secuencia diana cromosómica de maíz para el diseño de meganucleasas modificadas

La inserción fijada como objetivo de secuencias transgénicas para reemplazar tramos cortos de secuencias de ADN (reemplazo de alelos) o insertar un fragmento grande de ADN (inserción transgénica) también puede estar mediada por recombinación homóloga utilizando roturas de ADN introducidas por meganucleasas modificadas (Puchta y Fauser, *Plant Journal* 78:727–741 (2014); Chen y Gao, *Plant Cell Rep.* 33:575–583 (2014)). El presente ejemplo muestra si las roturas inducidas por meganucleasas modificadas pueden utilizarse para mediar en la inserción de moléculas de ADN grandes en la diana de puerto seguro cromosómico deseado en plantas de maíz. Para comparar su efectividad contra TALEN y CRISPR-Cas9, se eligió el locus de puerto seguro nº 1 (sitio de inserción del evento MIR604) como el sitio de inserción del transgen. Por lo tanto, aunque no está limitada por la metodología, la presente solicitud enseña la inserción transgénica mediada por 3 plataformas de nucleasas, a saber, TALEN, meganucleasa y ARNGs-Cas9. Secuencias del locus nº 1 de puerto seguro de maíz (también conocido como sitio de inserción del evento MIR604) (SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2) se rastrearon en busca de dianas óptimas para el diseño de meganucleasas modificadas utilizando tecnologías en la técnica, p. ej., utilizando la metodología racional de diseño de proteínas para diseñar meganucleasas modificadas con especificidad de escisión alterada basada en la meganucleasa I-Crel de la familia LAGLIDADG (Patente de EE.UU. Nº 8.021.867). Las variantes de meganucleasa I-Crel modificadas diseñadas racionalmente que escinden la secuencia diana con alta eficiencia y con una escisión mínima fuera de diana se seleccionan para mediar en la inserción fijada como objetivo de transgenes en el locus de puerto seguro. Las secuencias de ADN que codifican nuevas variantes de meganucleasas se colocan bajo el control del promotor de ubiquitina-1 de maíz (prUbi1-10), seguido por el terminador NOS y el casete de expresión se subclona en una cadena principal de vector de transformación biolística.

Para testar la actividad *in planta* de la variante de meganucleasa I-Crel modificada para escindir la secuencia diana cromosómica del maíz y su capacidad para mediar en la inserción fijada como objetivo a través de la recombinación homóloga, el vector de expresión de meganucleasa se bombardea conjuntamente con el vector donante 21942 de fijación de objetivo en embriones de maíz inmaduros. Brevemente, el vector de ADN plasmídico que porta el casete de expresión para la meganucleasa modificada se mezcla con un fragmento del vector 21942 que codifica la secuencia de ácido nucleico del donante y se precipita sobre partículas de oro. La secuencia de ácido nucleico donante del vector 21942 contiene regiones desde xJHAX-03 hasta xJHAX-04, incluido el gen marcador PMI y dos casetes de genes tal como se describe en el Ejemplo 4.4.1. Los embriones inmaduros se aíslan de espigas inmaduras cosechadas aproximadamente 9-11 días después de la polinización y se pre-cultivan durante 1 a 3 días en medio osmótico. Los embriones pre-cultivados se bombardean luego con partículas de oro con vectores de ADN coprecipitados (fragmento 21942 y el plásmido de expresión de meganucleasa) utilizando el sistema de suministro de partículas biolísticas BioRad PDS-1000. Métodos para el bombardeo de embriones inmaduros de maíz, la regeneración de tejidos por inducción de callos y los métodos de enraizamiento son conocidos en la técnica (por ejemplo, Wright et al. 2001, *Plant Cell Reports* 20:429–436 (2001)). Los embriones bombardeados se incuban luego en medios de inducción de callos y luego se trasladan a medios de selección de manosa. Los callos resistentes a manosa se transfieren a medios de regeneración para inducir la formación de brotes. Los brotes se subcultivan en medios de enraizamiento. Luego se recolectan muestras de plantas enraizadas para ensayos de PCR y Taqman para identificar plantas potenciales que contienen la inserción fijada como objetivo. Los supuestos eventos de inserción fijada como objetivo identificados se caracterizan adicionalmente por una PCR más detallada, secuenciación y análisis Southern para su confirmación. Además de los eventos transformados de manera estable, los autores de la invención analizaron también la presencia de mutaciones en plantas regeneradas que escaparon a la selección de manosa, es decir, escapes de transformación que no contienen transgén alguno del donante de inserción fijado como objetivo o el vector de meganucleasa. Se identifican las plantas de escape que son negativas para cualquier transgén, pero que tienen mutaciones en la secuencia diana del puerto seguro nº 1 (sitio de inserción MIR604). La expresión transitoria de la meganucleasa en las células de maíz es suficiente para generar mutaciones en las dianas cromosómicas. Además, la selección es opcional para obtener plantas mutantes. Si se rastrea un número suficiente de plantas regeneradas, los mutantes fijados como objetivo pueden identificarse fácilmente a través del suministro transitorio y la expresión de meganucleasa en células vegetales.

Ejemplo 6.2. Generación de eventos de inserción fijados como objetivo en el locus del puerto seguro del sitio de inserción MIR604 mediada por meganucleasas modificadas

Los dos brazos de homología, a saber, xJHAX-03 (SEQ ID NO: 38) y xJHAX-04 (SEQ ID NO: 39), del vector donante 21942 tienen secuencias idénticas al puerto seguro nº 1 (sitio de inserción MIR604 SEQ ID NO: 1 y SEQ ID NO: 2) y se utilizan para guiar la inserción fijada como objetivo de secuencias de vector donante al sitio de escisión de la meganucleasa modificada en el locus diana utilizando recombinación homóloga. Las reacciones de PCR también se realizan en un subconjunto de eventos que es probable que fijen como objetivo la inserción basada en el análisis de Taqman. Los eventos identificados para tener una inserción dirigida en el locus diana utilizando pares de cebadores de PCR que abarcan las uniones de recombinación se analizan mediante secuenciación de ADN detallada y análisis de transferencia Southern para confirmar que ha ocurrido la inserción fijada como objetivo.

Ejemplo 6.3. Generación de eventos de inserción fijados en el locus del puerto seguro nº 1 (sitio de inserción MIR604) con transformación mediada por *Agrobacterium* mediada por meganucleasas modificadas

La inserción fijada como objetivo de transgenes en el locus de puerto seguro también se puede generar con vectores donantes de ADN y de expresión para la meganucleasa suministrada a través de *Agrobacterium*. Métodos de transformación mediada por *Agrobacterium* se han descrito bien en la técnica (por ejemplo, Ishida et al., *Nat. Biotechnol.* 14:745–750 (1996)). El casete de expresión de meganucleasa y el ADN donante pueden colocarse en vectores binarios separados o en el mismo vector binario y luego co-transformarse en células vegetales. El ADN donante y la meganucleasa se pueden suministrar conjuntamente utilizando vectores binarios separados. El vector binario 22445 se construye insertando la secuencia de ácido nucleico donante del vector 21942 (a saber, los tres casetes de expresión enlazados operativamente a xJHAX-03 (SEQ ID NO: 38) y xJHAX-04 (SEQ ID NO: 39), tal como se describe en el Ejemplo 4.4.1), en un vector binario útil para la transformación mediada por *Agrobacterium*. También se construye un vector binario para el suministro conjunto tanto de la secuencia de ácido nucleico donante como del casete de expresión de meganucleasa a partir de un único vector binario, en donde la secuencia de ácido nucleico donante y el casete de expresión de meganucleasa están cada uno operativamente enlazados a las secuencias del borde derecho e izquierdo, de modo que comprenden dos ADN-T separados en un solo vector binario. Estos vectores binarios se transforman en la cepa LBA4404 de *Agrobacterium* (pVGW7) mediante electroporación y luego se utilizan para la transformación de embriones inmaduros de maíz. Para la transformación mediada por *Agrobacterium*, la cepa de *Agrobacterium* que comprende el vector binario que comprende 2 ADN-T se utiliza para infectar embriones inmaduros de maíz. Alternativamente, cepas de *Agrobacterium* que contienen dos vectores binarios se mezclan y luego se utilizan para co-infectar embriones inmaduros de maíz. Los embriones infectados se cultivan conjuntamente con células de *Agrobacterium* durante 2-4 días y luego se utilizan para inducir callos. Los callos se seleccionan con medios que contienen manosa y los callos resistentes a manosa se regeneran en plántulas. Se toman muestras de plántulas enraizadas para análisis Taqman y PCR para identificar eventos de inserción fijados como objetivo tal como se describió arriba para la transformación biolística. Las reacciones PCR también se realizan en un subconjunto de eventos que es probable tengan la inserción fijada como objetivo basada en el análisis de Taqman. Los eventos identificados que tienen una inserción fijada como objetivo en el locus diana utilizando pares de cebadores de PCR que abarcan las uniones de recombinación se analizan mediante secuenciación de ADN detallada y análisis de transferencia Southern para confirmar que ha ocurrido la inserción fijada como objetivo.

30 **Ejemplo 7. Caracterización molecular de la inserción fijada como objetivo de secuencias transgénicas en el locus genómico AX_MIR604**

Eventos de inserción fijados como objetivo identificados mediante ensayos de PCR se caracterizaron adicionalmente por una secuenciación más detallada y un análisis de transferencia Southern para confirmación. Por ejemplo, los eventos positivos para las PCR de unión (**Fig. 2 y Fig. 3**) tal como se esperaba de la recombinación homóloga que ocurre en uno o ambos brazos homólogos se obtuvieron del rastreo de eventos estables PIM-positivos (tal como se muestra en la **Tabla 1** y la **Tabla 5**). Se realizaron análisis de PCR solapantes detallados utilizando cebadores que abarcan uniones de inserción dirigidas que comprenden las regiones genómicas flanqueantes AX_MIR604 (SEQ ID NO: 2) (xJHAX-03 y xJHAX-04) y parte del vector donante de transformación. La presencia de una señal de PCR positiva sugiere que las nucleasas dirigidas al sitio de hecho median en la inserción fijada como objetivo en el locus del puerto seguro MIR604 (SEQ ID NO: 2) en el sitio de escisión del ADN de MIR604FR2 (5'-TGCAT CCGTG CAGTG CAGTG CAGTG CAGGA CAGGA CCTCC TTTGT TTAGG A- 3', SEQ ID NO:67). El análisis detallado de la transferencia Southern demostró que, de hecho, la inserción de pilas de genes ocurrió en el locus diana del puerto seguro del sitio de inserción MIR604 a través de una recombinación homóloga de doble retrocruzamiento tal como se muestra por la presencia del tamaño esperado (**Fig. 5**, pistas 4, 5, 6 y 8). Las pistas 4, 5, 6 y 8 tienen una banda de ~ 28 Kb como era de esperar para el producto de recombinación doble del vector donante con un fragmento diana cromosómico de ~ 18 Kb. Otro evento del mismo experimento en la pista 7 (**Fig. 5**) tiene una copia de inserción que probablemente sea de una única recombinación de retrocruzamiento y tiene reordenamientos adicionales, ya que el tamaño de la banda recombinante es mucho mayor que el tamaño esperado de ~ 28 Kb.

50 **Ejemplo 8. Expresión génica y resistencia a insectos de eventos transgénicos obtenidos por tecnologías de inserción fijada como objetivo**

Eventos de inserción fijados como objetivo (MZET130403A067A, MZET134406B450A, MZET134504B010A, MZET134505A104A, MZET134711A236A, MZET140508A344A, MZET140807A856A, MZET140913A741A, MZET140913A594A, MZET130403A067A, MZET131500A128A) se evalúan para la expresión del transgén por ensayos de qPCR y ELISA. Como control, eventos de integración aleatoria derivados del vector donante (21942 o 22445) también se analizan para determinar la expresión del gen rasgo. El nivel de expresión también se compara con una línea de maíz (AX5707DW) con el locus MIR604 introgresado. Dado que el transgen insertado contiene genes de resistencia al gusano de la raíz del maíz occidental mCry3Aa y eCry3.1Ab, los eventos transgénicos y su progenie se evalúan con respecto al rendimiento de la resistencia a los insectos al cultivarlos en macetas infectadas con el gusano de la raíz del maíz.

65 **Ejemplo 9. Ensayo de alto rendimiento para identificar plantas con mutaciones fijadas como objetivo en secuencias deseables**

Actualmente, los mutantes fijados como objetivo se identifican utilizando uno de los siguientes métodos. El primer método es la amplificación por PCR de la región diana, seguida de la digestión con enzimas de restricción y electroforesis en gel si la secuencia mutada contiene un sitio de restricción (Lloyd et al. 2005, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102:2232–37 (2005); Zhang et al, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 107:12028–33 (2010)). Este método es simple, pero requiere la presencia de un sitio de restricción adecuado y, por lo tanto, no se puede utilizar para la mayoría de las dianas. Un segundo método es la amplificación por PCR de la región diana, seguida de secuenciación Sanger o secuenciación profunda (Gross et al., *Hum. Genet.* 105:72–78 (1999); Shukla et al., *Nature* 459:437-41 (2009); Townsend et al., *Nature* 459:442–45 (2009)). Un enfoque de secuenciación es definitiva y sensible, pero tarda más tiempo y el rendimiento puede ser limitado por la capacidad. Un tercer enfoque es la amplificación por PCR de la región diana, seguida de desnaturalización, reasociación y electroforesis capilar (Li-Sucholeik et al., *Electrophoresis* 20:1224–1232 (1999); Larsen et al., *Hum. Mutat.* 13:318–327 (1999)) o la cromatografía líquida de alto rendimiento desnaturalizante para detectar cambios de pares de bases mediante análisis heterodúplex (McCallum et al., *Nature Biotechnology* 18:455 – 457). Estos métodos están limitados por el rendimiento y las mutaciones identificadas necesitan ser verificados adicionalmente mediante secuenciación. Un cuarto método es la amplificación por PCR de la región diana, seguida de desnaturalización, formación de heterodúplex/reasociación de la cadena, digestión con nucleasa específica de emparejamiento erróneo (tales como endonucleasa CEL1 y T7) y electroforesis en gel (Oleykowski et al., *Nucleic Acids Res.* 26:597–4602 (1998); Colbert et al., *Plant Physiol.* 126:480-484 (2001); Lombardo et al., *Nat. Biotechnol.* 25:1298–306 (2007)), por ejemplo utilizando kit de ensayo de nucleasa Surveyor™ disponible comercialmente (Transgenomic, Gaithersburg, MD, EE.UU.; Qiu et al., *BioTechniques* 36:702-707 (2004)). Sin embargo, los ensayos basados en gel no son tan sensibles como la secuenciación de ADN de alto rendimiento y solo pueden detectar mutaciones con una frecuencia de 1% o más. Por lo tanto, todavía existe la necesidad de un método simple y de alto rendimiento para identificar mutaciones inducidas de secuencias diana. Adicionalmente, todos los enfoques anteriores de identificar un mutante potencial en un sitio diana se basan en la presencia de una nueva señal de una manera cualitativa, ya sea una nueva banda en un gel o un nuevo pico en un cromatograma que es diferente de la secuencia de referencia de tipo salvaje.

Los autores de la invención desarrollaron un enfoque alternativo para identificar mutaciones potenciales. El método mide la reducción de la secuencia del sitio diana de tipo salvaje en células o tejidos que han sido tratados con una nucleasa dirigida al sitio de forma cuantitativa en comparación con una muestra de referencia, tal como se muestra en la **Fig. 6**. En una muestra de ADN aislada de tejidos de tipo salvaje (WT), no hay reducción del número de copias de ADN de la secuencia diana. Típicamente, la llamada al número de copias en el tejido WT es de 2 copias para un gen de copia única en un organismo diploide. Por ejemplo, el gen ADH en el maíz WT tiene 2 copias. Si una de las copias está mutada, solo queda una copia de la secuencia del sitio diana de tipo salvaje (WT). Si ambas copias de las secuencias diana están mutadas, el número de copias de la secuencia diana M se convierte en cero (**Fig. 6**). Por lo tanto, al realizar ensayos cuantitativos de reacción de polimerasa para medir los cambios en el número de copias de la secuencia diana, es posible detectar si hay una mutación presente en las muestras de ADN comparando el resultado con el de una muestra de referencia tal como el tejido WT. Este enfoque cuantitativo difiere significativamente de los métodos conocidos previamente.

El número de copias del gen diana puede analizarse mediante varias técnicas de reacción cuantitativa de polimerasa (qPCR). Generalmente, la qPCR se realiza de tal manera que el ADN amplificado se detecta y mide cuantitativamente a medida que avanza la reacción, o en "tiempo real". Por lo tanto, la qPCR también se conoce como PCR en tiempo real. Existen varios enfoques potenciales para la detección en tiempo real de productos en la qPCR: (1) Medición de producto de PCR con colorantes fluorescentes no específicos (tales como SYBR® verde) que se intercalan con cualquier ADN de cadena doble; este método de detección es adecuado cuando se está estudiando un único amplicón, ya que el colorante se intercalará en cualquier ADN de cadena doble generado. (2) Medición de producto de PCR basado en la secuencia diana específica de unión de sondas de oligonucleótidos marcadas covalentemente con una etiqueta informadora fluorescente, tal como en sondas TaqMan®, Molecular Beacons™ o cebadores Scorpion. El oligonucleótido propiamente dicho no tiene fluorescencia significativa, pero fluoresce ya sea cuando se reasocia al molde (tal como en Molecular Beacons™) o cuando el colorante se recorta a partir del oligonucleótido durante la extensión (como en sondas TaqMan®). La ventaja de las sondas fluorescentes es que pueden utilizarse en ensayos multiplex para la detección de varias secuencias diana en la misma reacción. Con sondas TaqMan®, una sonda de oligonucleótidos específicos para la secuencia diana se construye con un informador fluorescente en un extremo y un aceptor (quencher) de fluorescencia en el extremo opuesto. La proximidad del informador al aceptor impide la detección de su fluorescencia. La sonda de oligonucleótidos fluorescentes se descompone por la actividad de exonucleasa 5' a 3' de la polimerasa Taq, por lo que la etiqueta fluorescente ya no está cerca del aceptor y, por lo tanto, permite una emisión de fluorescencia sin aceptor, que puede detectarse después de la excitación con un láser (Groves, *J Biomol. Tech.* 10:11–16 (1999)). Un aumento en el número de copias del producto de PCR en cada uno de los ciclos de PCR da como resultado un aumento proporcional en la fluorescencia debido a la descomposición de la sonda y la liberación del informador.

Como un ejemplo, los autores de la invención han diseñado un método basado en la sonda Taqman® para detectar específicamente una la mutación dirigida a la secuencia del sitio de inserción MIR604 genómico de maíz que contiene el sitio de escisión de la fijación de objetivo de ARNg de la nucleasa CRISPR-Cas9 SEQ ID NO:3 (5'-AGTGC AGTGC AGTGC AGGAC AGG-3') y la secuencia diana de escisión del par de TALEN (cTNmir604Fw2-01/cTNmir604Rv2-01) (SEQ ID NO:67, 5'-TGCAT CCGTG CAGTG CAGTG CAGTG CAGGA CAGGA CCTCC TTTGT TTAGG A-3'). Tal

como se muestra en la **Fig. 7**, un ensayo Taqman de qPCR en tiempo real para detectar mutaciones dentro de la secuencia diana SEQ ID NO: 67 consiste en dos cebadores, un cebador FW, 5'-CACAC CTCGT TGCCA AAGC-3' (SEQ ID NO:92) y un cebador RV, 5'-CATCG CGTCC TAAAC AAAGG A-3' (SEQ ID NO:93), y una sonda Taqman[®] marcada con fluorescencia (5'-CCTGT CCTGC ACTGC-3', SEQ ID NO: 94) que se hibrida con la secuencia del sitio diana de escisión de nucleasa (5'-GCAGT GCAGG ACAGG-3', SEQ ID NO:95, el sitio diana M tal como se muestra en la **Fig. 6**).

Ejemplo 10. Generación de plantas con mutaciones fijadas como objetivo en secuencias deseables sin inserción transgénica

Utilizando el ensayo específico para la diana tal como se esboza arriba y en la **Fig. 6** y la **Fig. 7** y los ensayos Taqman de qPCR para otras secuencias diana, las plantas de maíz regeneradas a partir de embriones inmaduros tratados con nucleasas TALE modificadas o ARNg-Cas9 tal como se describió previamente en el Ejemplo 4 y el Ejemplo 5 fueron analizados en cuanto al número de copias de diferentes secuencias diana. La **Tabla 6** muestra el resultados.

La sonda MGB Taqman[®] marcada con fluorescencia que comprende la secuencia 5'-CCTGT CCTGC ACTGC-3' (SEQ ID No.94) para el ensayo 4 (Mir604 JHAX Fw2/Rv2_MGB) es para detectar el número de copias de la secuencia de sitio de escisión de nucleasa intacta (5'-GCAGT GCAGG ACAGG-3', SEQ ID NO:95) correspondiente a la secuencia diana M en la **Fig. 6**. Una llamada de número de copias "bajo" tiene 1 copia. Una llamada de número de copias "medio" tiene 2 copias. Una llamada de número de copias "alto" tiene 3 o más copias. En plantas de maíz WT y plantas regeneradas sin mutación en el sitio diana, la llamada al número de copias con el Ensayo 4 (la última columna en la Tabla 6, Mir604 JHAXFw2/Rv2_MGB) es " Media " (2 copias). En este conjunto de 20 plantas, 11 plantas (55%) no tienen mutación en la secuencia diana genómica (SEQ ID NO:95, 5'-GCAGT GCAGG ACAGG-3'), pero 6 plantas (30%) tienen mutaciones en una copia de las secuencias diana (llamada de copia baja), y 3 plantas (15%) tienen ambas copias de las secuencias diana mutadas (la llamada de copia es 0). Dado que los ensayos qPCR pueden multiplexarse, se realizan varios otros ensayos para detectar secuencias de transgenes al mismo tiempo. En este conjunto de plantas, 7 de las 20 plantas contienen inserciones de transgenes detectables (positivas para los Ensayos 1 a 3). De las 9 plantas con mutaciones de secuencia diana, 5 (MZET130501B027A, MZET130501B031A, MZET130501B038A, MZET130501B044A y MZET130501B045A) de ellas no contienen inserciones de transgenes detectables, incluyendo 1 planta (MZET130501B027A) que tiene ambas copias de la secuencia diana mutada (mutaciones bialélicas u homocigóticas). Este experimento demostró claramente que las mutaciones fijadas como objetivo en secuencias deseables pueden generarse de manera eficiente sin inserción de transgenes mediante la expresión transitoria de una nucleasa dirigida al sitio. Adicionalmente, los mutantes pueden identificarse eficazmente utilizando ensayos de qPCR en tiempo real de alto rendimiento que contienen al menos una sonda de ensayo que se hibrida con el sitio de escisión de la nucleasa.

Tabla 6 Determinación del número de copias de la secuencia diana (SEQ ID NO: 67) en plantas de maíz regeneradas a partir de un experimento de transformación biolística utilizando ensayos Taqman qPCR

ID Planta	ID Construcción	Ensayo 1 ¹ : cTNmir604Fw2-03	Ensayo 2 ² : cPMI-09	Ensayo 3 ³ : mCry3A	Ensayo 4 ⁴ : Mir604 JHAX Fw2/Rv2_MGB
MZET130501B026A	21321 21942	0	0	0	Med
MZET130501B027A	21321 21942	0	0	0	0
MZET130501B028A	21321 21942	0	Alta	Alta	Baja
MZET130501B029A	21321 21942	0	0	0	Med
MZET130501B030A	21321 21942	0	0	0	Med
MZET130501B031A	21321 21942	0	0	0	Baja
MZET130501B032A	21321 21942	0	Baja	Baja	0
MZET130501B033A	21321 21942	0	Alta	Alta	0
MZET130501B034A	21321 21942	0	Baja	Baja	Med
MZET130501B035A	21321 21942	0	0	0	Med
MZET130501B036A	21321 21942	0	0	0	Med
MZET130501B037A	21321 21942	0	0	0	Med
MZET130501B038A	21321 21942	0	0	0	Baja
MZET130501B039A	21321 21942	0	Baja	Baja	Med
MZET130501B040A	21321 21942	Baja	Alta	0	Med

MZET130501B041A	21321 21942	0	0	0	Med
MZET130501B042A	21321 21942	0	Alta	Alta	Baja
MZET130501B043A	21321 21942	0	0	0	Med
MZET130501B044A	21321 21942	0	0	0	Baja
MZET130501B045A	21321 21942	0	0	0	Baja

¹El Ensayo 1 (cTNmir604Fw2-03) es para detectar la inserción del vector de expresión de nucleasa TALE dirigida al sitio (21321)

²El Ensayo 2 para detectar el gen marcador selectivo insertado cPMI-09 presente en el vector donante (21942)

³El Ensayo 3 para detectar el gen de control de insectos insertado mCry3A presente en el vector donante (21942)

⁴El Ensayo 4 (Mir604 JHAX Fw2/Rv2_MGB) es para detectar el número de copias de la secuencia diana intacta (5'-GCAGT GCAGG ACAGG-3', SEQ ID NO:95) que se hibrida a la sonda Taqman que comprende secuencias 5'-CCTGT CCTGC ACTGC-3', (SEQ ID NO:94)

Ejemplo 11. Ensayos y estrategias de alto rendimiento para enriquecer plantas con potencial inserción fijada como objetivo en loci genómicos deseables

Para identificar potenciales eventos transgénicos que contengan inserción fijada como objetivo en el locus de puerto seguro del sitio de inserción MIR604, los autores de la invención desarrollaron un enfoque de alto rendimiento para enriquecer mutaciones potenciales. El método implica el uso de un ensayo (Ensayo T en la Fig. 8A) para identificar una planta que tiene una reducción en el número de copias de la secuencia diana (Diana T). La sonda fluorescente para la diana T de ensayo está ubicada lejos de la sonda fluorescente de la diana M de ensayo (Fig. 8A) que detecta el número de copias del sitio de escisión de nucleasa dirigida al sitio M (también en la Fig. 6) por al menos 5 nucleótidos en la región del locus diana. Cabe señalar que la sonda de ensayo T puede asentarse dentro del mismo amplicón que la sonda de ensayo M. Sin embargo, debe estar tan lejos de M como sea posible, siempre que esté dentro de la región reemplazada por la inserción fijada como objetivo de secuencias transgénicas (como se muestra en la Fig. 8A, región que contiene el gen de interés (GOI). Dado que la inserción fijada como objetivo reemplaza habitualmente a determinadas secuencias en el locus diana que no sea el sitio de escisión de nucleasa (M), mientras que los eventos no fijados como objetivo que están lo más probablemente modificados en el sitio de escisión de nucleasa por NHEJ habitualmente tendrían deleciones del sitio diana más pequeñas. Si una planta tiene un número reducido de copias en el sitio de escisión de nucleasa (Diana M), pero no tiene una llamada del número de copias reducida (es decir, tipo salvaje) en la región diana más alejada (Diana T), es muy probable que esta planta tenga solo una pequeña delección y ninguna inserción fijada como objetivo en el locus diana (Los tipos de evento a, b y c en la Fig. 8A y la Fig. 8B) se pueden desechar independientemente de la llamada al número de copias de Diana M o Diana G. Los eventos pueden enriquecerse adicionalmente al observar los resultados del Ensayo G. Cualquier planta negativa para GOI (Ensayo G), es decir, los tipos de evento d y e en la Fig. 8A sin transgén pueden descartarse adicionalmente. El resto de las plantas, es decir, los tipos de eventos de d a i en las Figs. 8B con señal GOI positiva se eligen como plantas candidatas con potencial inserción fijada como objetivo en el locus diana y estos eventos se caracterizan, además, por reacciones de PCR específicas para uniones de recombinación tal como se muestra en la Fig. 2.

Ejemplo 12. Uso de ensayos de qPCR de alto rendimiento para el enriquecimiento de eventos transgénicos candidatos con inserción fijada como objetivo en el sitio de inserción MIR604 del locus de puerto seguro genómico

Los resultados de la llamada al número de copias de diferentes secuencias diana se obtuvieron utilizando el Ensayo 1 específico para la diana (Tabla 7, correspondiente al ensayo T en la Fig. 8), Ensayo 2 para el sitio de escisión de nucleasa (Tabla 7, correspondiente a la diana M en la Fig. 8) y otras secuencias de transgenes (Ensayos 3 a 7 en la Tabla 7, correspondientes al ensayo G en la Fig. 8) a partir de plantas de maíz regeneradas a partir de embriones inmaduros tratados con TALEN modificado tal como se describió previamente en el Ejemplo 5.

La Tabla 7 muestra los resultados del ensayo de algunas plantas de maíz representativas obtenidas de experimentos de fijación de objetivo con suministro conjunto del vector de expresión de nucleasa TALE 21321 y el vector donante 21942. En este experimento, el Ensayo 1 que corresponde al ensayo T de la Fig. 8 tiene una secuencia de la sonda Taqman de 5'-CTCGT TGCCA AAGCT GCATC CGT-3' (SEQ ID NO:97) que se encuentra 18 bases alejada del sitio de escisión de nucleasa (SEQ ID NO:67 , 5'-TGCAT CCGTG CAGTG CAGTG CAGTG CA/GGA CAGGA CCTCC TTTGT TTAGG A-3', en donde "/" indica la posición de escisión potencial). Todas las plantas que tienen una llamada del número de copias "Med" para la diana (Ensayo 1) pueden desecharse independientemente de los resultados de otros ensayos, ya que no existe un reemplazo de las secuencias diana mediado por recombinación homóloga (SEQ ID NO: 67). En algunos eventos (MZET130501A012A y MZET130501B033A), el Ensayo 1 tiene una llamada al número de copias mayor que el Ensayo 2, significa que la delección alrededor del sitio de escisión de la nucleasa es relativamente pequeña en la región diana. Al utilizar los resultados de otros ensayos (Ensayo 3 a Ensayo 7), se puede

obtener un enriquecimiento adicional desechando plantas que no tienen genes de interés (GOI). Si se desean eventos de inserción fijada como objetivo de alta calidad, se pueden desechar las plantas positivas para el vector de expresión de la nucleasa (Ensayo 6), y/o de la cadena principal del vector (Ensayo 7), y que tienen más de una copia del vector donante (Ensayos 3 a 5). Al utilizar este método de enriquecimiento, solo un subconjunto de las plantas transgénicas totales de un experimento de inserción fijada como objetivo necesitará ser analizado más a fondo por otros ensayos tales como PCR de unión (**Fig. 2** y **Fig. 3**) y análisis de transferencia de ADN (**Fig. 5**) para identificar eventos de inserción fijados verdaderamente como objetivo. Por ejemplo, los eventos MZET131500A118A y MZET131500A128A (**Fig. 5**) se identificaron siguiendo el proceso de enriquecimiento anterior de un conjunto de 334 plantas en el experimento de inserción fijado como objetivo MZET131500A.

Tabla 7 Ensayos Taqman de eventos transgénicos y uso de los resultados del ensayo para enriquecer potenciales eventos de inserción fijados como objetivo de plantas de maíz regeneradas derivadas de un experimento de transformación biolística utilizando ensayos de qPCR Taqman.

ID Planta	Ensayo 1 sitio de inserción de MIR604 Fw2/Rv2	Ensayo 2 Mir604 JHAX Fw2/Rv2_MGB	Ensayo 3 prCMP-04	Ensayo 4 cPMI-09	Ensayo 5 cWrang r-01	Ensayo 6 cTNmir 604Fw2-03	Ensayo 7 xprLac Z-01-01	Nota
MZET130402A 039A	Med	Med	0	0	0	0	0	Desechar #*
MZET130402A 040A	0	0	Alta	Med	Alta	0	0	Mantener y
MZET130402A 055A	Med	Med	Baja	Baja	Baja	Baja	0	Desechar #
MZET130402A 056A	Med	Med	0	0	0	0	0	Desechar n ^o *
MZET130501A 012A	Baja	0	0	0	0	0	0	Desechar*
MZET130501A 013A	Med	Med	0	0	0	0	0	Desechar n ^o *
MZET130501B 031A	Baja	Baja	0	0	0	0	0	Desechar*
MZET130501B 032A	0	0	Baja	Baja	Baja	0	0	Mantener y
MZET130501B 033A	Baja	0	Alta	Alta	Alta	0	0	Mantener y
MZET130501B 034A	Med	Med	Baja	Baja	Baja	0	0	Desechar n ^o *
MZET130501B 050A	Baja	Baja	Baja	Baja	Med	0	0	Mantener y
MZET130501B 061A	Med	Med	0	0	0	0	0	Desechar n ^o *
MZET130501B 062A	0	0	Baja	Baja	Med	0	0	Mantener y
MZET130501B 063A	Med	Med	0	0	0	0	0	Desechar*
MZET130501B 064A	0	0	Baja	Baja	Baja	0	0	Mantener y
MZET130501B 065A	Med	Med	Baja	Baja	Baja	0	0	Desechar n ^o
MZET130501B 066A	Med	Med	0	0	0	0	0	Desechar n ^o
MZET130501B 135A	0	0	Baja	Baja	Med	Baja	0	Mantener y
MZET130501B 136A	Med	Med	0	0	0	0	0	Desechar*
MZET130704B 006A	Med	Med	0	0	0	0	0	Desechar*
MZET130704B 007A	0	0	Alta	Alta	Alta	0	0	Mantener y
MZET130704B 008A	0	0	Baja	Baja	Baja	0	0	Mantener y

MZET130704B 009A	Med	Med	0	Med	Med	0	0	Desechar n ^o *
MZET130704B 030A	0	0	0	Baja	Baja	0	0	Desechar [*]
MZET130704B 031A	Med	Med	0	0	0	0	0	Desechar n ^o
MZET130704B 032A	Med	Med	0	0	0	0	0	Desechar n ^o
MZET130704B 033A	0	0	Baja	Baja	Baja	0	0	Mantener y
MZET130704B 036A	Med	Med	0	Baja	0	0	0	Desechar n ^o
Propósito del ensayo	Estado región diana	Sitio escisión de nucleasa	Casete 1 del GOI de vector donante	Casete 2 del GOI de vector donante	Casete 3 del GOI de vector donante	Vector de expresió n de nucleas a	Cadena principal del vector	
# Para ningún cambio de diana; * Para ninguna inserción GOI (intacta); & Para ensayos de PCR de unión adicionales para identificar eventos de inserción fijados como objetivo								

Ejemplo 13 Apilamiento de genes fijados como objetivo y reemplazo de secuencias de transgenes en el locus transgénico MIR604

5 Ejemplo 13.1 Secuencias de inserción de ADN-T del evento comercial de maíz MIR604

El evento MIR604 de maíz contiene una inserción de una sola copia de ADN-T de pNOV2130 en el genoma del maíz. La inserción de ADN-T y sus secuencias genómicas flanqueantes fueron clonadas y se muestran en la **Fig. 9**. La secuencia del gen marcador PMI (cPMI-01, Seq ID No. 98) está presente en el inserto de ADN-T del transgén ubicado junto a la región genómica de maíz flanqueante MIR604LBFS1.

15 Ejemplo 13.2 Selección de secuencias del sitio diana TALEN en el locus transgénico del evento MIR604

Con el fin de apilar casetes de genes de rasgos adicionales en el locus transgénico MIR604, los autores de la invención concentraron su esfuerzo en las regiones únicas del transgén. El gen PMI (cPMI-01, SEQ ID No. 98) es una diana deseable, ya que es un gen marcador seleccionable y ya no es necesario después de que se complete la generación de plantas transgénicas. Se puede utilizar un nuevo casete de gen marcador seleccionable para reemplazar el casete PMI utilizando MIR604_RBFS1 o el casete de expresión génica mCry3A y MIR604_LBFS1 como regiones de homología. Han elegido 3 secuencias diana (Seq. ID No. 99 a 101) en el gen PMI para diseñar y ensamblar TALEN para demostrar la viabilidad de la inserción de genes en el locus transgénico MIR604. Secuencia_Diana_PMI n^o 1 contiene las siguientes secuencias, 5'- TTAAC TCAGT GCAAA ACTAT GCCTG GGGCA GCAAA ACGGC GTTGA CTGAA- 3' (SEQ ID No.99), Secuencia_Diana_PMI n^o 2 tiene las siguientes secuencias 5'- TCTCC ATTCA GGTTT ATCCA AACAA ACACA ATTCT GAAAT CGGTT TTGCC AAA - 3', SEQ ID No. 100) y Secuencia_Diana_PMI n^o 3 contiene las siguientes secuencias, 5'- TGCAC ATCCG GCGAT TGCTC ACTTT TTACA ACAGC CTGAT GCCGA ACGTT TAA -3' (SEQ ID No. 101).

25 Ejemplo 13.3 Diseño y ensamblaje de genes de nucleasa de fusión TALEN contra las secuencias del gen PMI

Los TALEN se diseñaron para la escisión fijada como objetivo del transgen PMI en las secuencia diana n^o 1 y n^o 3 (SEQ ID No. 99 y 101) .

35 Por ejemplo, un par de TALEN para escindir la secuencia diana PMI n^o 1 (SEQ ID No. 99) se diseñaron para TsPMIFW1 (5'- TTA ACT CAG TGC AAA ACT -3', SEQ ID No.102) y TsPMIRV1 (5'- TTC ACT CAA CGC CGT TTT -3', SEQ ID No.103). La molécula TALEN TLN_PMIFW1a (SEQ ID No. 108) fue diseñada para unirse a la secuencia diana TsPMIFW1 (5'- TTA ACT CAG TGC AAA ACT -3', SEQ ID No. 102) y la molécula TALEN TLN_PMIRV1a (5'- TTC AGT CAA CGC CGT TTT-3', SEQ ID No.109) fue diseñada para reconocer la secuencia diana TsPMIRV1 (SEQ ID No. 103). De manera similar, se diseñó otro par de TALEN contra TsPMIFW3 (5'- TGC ACA TCC GGC GAT TGC T -3', SEQ ID No.106) y TsPMIRV3 (5'- TTA AAC GTT CGG CAT CAG -3', SEQ ID No.107) para la escisión de la Secuencia Diana de PMI n^o 3 (SEQ ID No. 101). La molécula TALEN TLN_PMIFW3 (SEQ ID No.110) fue diseñada para unirse a la secuencia TsPMIFW3 (5'- TGC ACA TCC GGC GAT TGC T -3', SEQ ID No. 106) y la molécula TALEN TLN_PMIRV3 (SEQ ID No.111) fue diseñada para unir la secuencia TsPMIRV3 (5'- TTA AAC GTT CGG CAT CAG -3', SEQ ID No. 107). Las secuencias codificantes de proteínas de las proteínas TALEN diseñadas TLN_PMIFW1a

(SEQ ID No. 108), TLN_PMIRV1a (SEQ ID No. 109), TLN_PMIFW3 (SEQ ID No.110) y TLN_PMIRV3 (SEQ ID No.111) se tradujeron de nuevo a secuencias de ADN. Las moléculas de ADN que codifican estos TALEN se ensamblaron tal como se describe en ejemplos anteriores. Las secuencias de ADN del gen TALEN cTNPMIFW1a (SEQ ID No. 112), cTNPMIRV1a (SEQ ID No. 113), cTNPMIFW3-02(SEQ ID No. 114) y cTNPMIRV3-02 (SEQ ID No.115) codifican TLN_PMIFW1a (SEQ ID No.108), TLN_PMIRV1a (SEQ ID No. 109), TLN_PMIFW3 (SEQ ID No.110) y TLN_PMIRV3 (SEQ ID No.111), respectivamente.

Ejemplo 13.4 Vector de expresión TALEN y construcción del vector donante fijador de objetivo

Secuencias de ADN, cTNPMIFW3-02 (SEQ ID No. 114) y cTNPMIRV3-02 (SEQ ID No. 115) se introdujeron en casetes de expresión, cada uno impulsado por un promotor constitutivo. Los dos casetes de expresión génica TALEN se introdujeron luego en una cadena principal de vector binario para formar el vector binario 22840. El vector donante 22842 comprende la secuencia de ácido nucleico donante, que comprende un casete de expresión génica insecticida y un casete génico de tolerancia al glifosato entre dos secuencias de homología (xMIR604-01 y xMIR604-02). El casete del gen de tolerancia al glifosato comprende el gen *ZmEPSPS*, cuya presencia se puede utilizar para identificar una inserción exitosa de la secuencia de ácido nucleico donante. Las dos secuencias de homología (xMIR604-01 y xMIR604-02) son idénticas a las secuencias que flanquean la secuencia diana TALEN, es decir, Secuencia_Diana_PMI nº 3 (SEQ ID No. 101). La inserción fijada como objetivo de secuencias donantes del vector 22872 mediante recombinación homóloga en el locus transgénico MIR604 mediado por la escisión de TALEN se ilustra en la Fig. 10.

Ejemplo 13.5 Apilamiento de genes de rasgos adicionales en un locus transgénico de un evento comercial (MIR604) e inactivación de un transgen innecesario

El evento MIR604 de maíz se cultiva ampliamente para controlar el gusano de la raíz del maíz occidental (WCR) (Que et al., 2010, *GM Crops*. 1, 220-229). El transgén MIR604 contiene un gen marcador seleccionable PMI para la generación del evento transgénico (Fig. 9). El gen PMI no ofrece beneficio agronómico alguno y ya no es necesario después de la generación del evento. Sin embargo, se puede utilizar como plataforma de aterrizaje para la inserción de otros casetes de genes de rasgos en el locus MIR604. Para demostrar dicha utilidad, el locus transgénico MIR604 se introgresó en una línea de transformación de maíz de élite (NP2222) para formar una nueva línea de receptor transgénico NP2222DW. La línea NP2222DW se utilizó como huésped de transformación para la generación de eventos de inserción fijados como objetivo a través de la inserción mediada por nucleasa dirigida al sitio en el gen PMI mediante recombinación homóloga. Embriones inmaduros derivados de plantas NP2222DW autofecundadas o cruzadas por hermanos fueron co-infectados con la cepa LBA4404 de *Agrobacterium* recA-minus (portadora del plásmido helper pVGW7) que contiene el vector binario 22840 (que comprende casetes de expresión TALEN) o 22872 (que comprende la secuencia de ácido nucleico donante, que comprende dos casetes de expresión). La generación de eventos transgénicos a partir de embriones inmaduros infectados fue como se describe, excepto que se utilizó glifosato como selección (Negrotto et al. (2000), *Plant Cell Rep.* 19, 798–803). Los callos derivados de embriones inmaduros infectados se seleccionaron en 2 mM de glifosato. Las plantas se regeneraron en medios que contenían glifosato 0,2 mM. Las plantas seleccionadas con glifosato se muestrearon determinando el número de copias de transgenes y la escisión del sitio diana con ensayos Taqman.

Plantas con escisión de secuencia diana se analizaron adicionalmente por PCR en cuanto a la integración fijada como objetivo con cebadores que se extienden a través de uniones de recombinación (Fig. 10). Por ejemplo, para la amplificación de la unión de recombinación que implica xMIR604-02, se utilizó el par de cebadores (P1/P2), FE4796 (SEQ ID NO: 127)/FE4793 (SEQ ID NO: 128) y la reacción produciría un producto de PCR de 2,13 Kb si ocurrió la recombinación. También se utilizó otro par de cebadores, FE35036 (SEQ ID NO: 129)/FE35037 (SEQ ID NO: 130) con un producto de 2,5 kb para la identificación de potenciales recombinantes fijados como objetivo que implican la región de homología de xMIR604-02. Para la amplificación de la unión de recombinación que implica xMIR604-01, se utilizó un par de cebadores (P3/P4), FE35034 (SEQ ID NO: 131)/FE35035 (SEQ ID NO: 132) y se espera que la reacción PCR produzca un producto de 2 Kb si existe recombinación homóloga. La Tabla 8 muestra varios experimentos de inserción fijada como objetivo que recuperaron eventos fijados como objetivo utilizando la selección de glifosato ("eventos *ZmEPSPS* positivos de"). Estos experimentos demostraron que las secuencias de ADN que contienen genes de rasgos adicionales se pueden insertar eficientemente en el locus MIR604 de evento comercial existente mediante recombinación homóloga mediada por TALEN. Debe señalarse que otras nucleasas dirigidas al sitio, incluidas la meganucleasa modificada, la nucleasa de dedo de zinc o CRISPR-Cas9 se pueden utilizar para sustituir a TALEN en el vector 22840 arriba mencionado para escindir las secuencias del gen PMI para mediar en la inserción fijada como objetivo. De manera similar, se pueden utilizar otros métodos de suministro de genes, incluido el bombardeo biolístico de partículas, la transformación mediada por monocristales, la electroporación y la transformación de protoplastos mediada por PEG para introducir el vector de expresión de nucleasa dirigido al sitio y las moléculas de ADN donante.

Tabla 8. Inserción fijada como objetivo de casetes de expresión flanqueadas por secuencias homólogas en el vector donante 22872 en el locus transgénico MIR604 mediado por TALEN expresado desde el vector 22840 suministrado por infección por *Agrobacterium*

Experimento	Secuencia Diana	ID Vector de nucleasa	ID Vector donante	Explantos totales	Eventos ZmEPSPS -positivos	Eventos con mutaciones del sitio diana cPMI-01*	Nº de eventos fijados como objetivo**
MZET144515	cPMI-01	22840	22872	1682	53	10	2
MZET151723	cPMI-01	22840	22872	2676	252	ND	9
MZET151818	cPMI-01	22840	22872	4500	307	ND	4
MZET152212	cPMI-01	22840	22872	3680	628	236	8
MZET152311	cPMI-01	22840	22872	4150	808	277	12

*Basado en la llamada al número de copia de la secuencia fijada como objetivo (cPMI-01) según lo determinado por el ensayo qPCR Taqman. ** Según lo identificado por las reacciones PCR con cebadores que abarcan las uniones de recombinación (**Fig. 10**)

5 Ejemplo 13.6 Apilamiento de genes de rasgos adicionales en el locus transgénico MIR604 reemplazando el casete de genes PMI o el transgen completo

La región genómica que alberga el transgén MIR604 es una ubicación preferida para la expresión del gen de rasgo. Además de insertar transgenes adicionales en el gen PMI, todo el locus transgénico MIR604 se puede utilizar como una plataforma de aterrizaje para la inserción de otros casetes de genes de rasgos reemplazando parte de las secuencias transgénicas o el inserto completo de ADN-T. Similar a la inserción fijada como objetivo en el gen PMI anterior (Ejemplo 13.5), la línea NP2222DW se utilizó como huésped de transformación para la generación de eventos de inserción dirigida a través de la inserción mediada por nucleasa dirigida al sitio en el locus MIR604 mediante recombinación homóloga. Para reemplazar solo el casete PMI, el gen mCry3A y la región LBFS se utilizaron como secuencias de homología en el vector donante (**Fig. 11**). El mismo vector de expresión TALEN (22840) puede suministrarse a las células de maíz NP2222DW junto con el donante que contiene un casete de expresión insecticida (IC) y un marcador seleccionable (tal como casetes de expresión PMI, ZmEPSPS o PAT) (**Fig. 11**). Además, se pueden utilizar una o más nucleasas dirigidas al sitio para introducir roturas cromosómicas en las secuencias de casete PMI. Por ejemplo, se pueden utilizar dos o más ARN de guía única (ARNgs) junto con la proteína Cas9 para escindir la secuencia del casete PMI simultáneamente para separar todo el casete de expresión de PMI (**Fig. 11**). Embriones inmaduros se colocan en medios de inducción de callos y luego los callos se seleccionan en medios que contienen bialafos. La generación de eventos transgénicos a partir de embriones inmaduros infectados es, por ejemplo, tal como se describió anteriormente para manosa o glifosato, en donde el bialafos también puede utilizarse como agente de selección. Las plantas seleccionadas se muestrean para determinar el número de copias transgénicas y la escisión del sitio diana con ensayos Taqman. Las plantas con escisión de la secuencia diana se analizan adicionalmente mediante PCR para la integración fijada como objetivo con cebadores que abarcan las uniones de recombinación (**Fig. 11**).

Para reemplazar todo el inserto de ADN-T de MIR604, tanto RBFS como LBFS se insertan en la molécula donante para servir como secuencias de homología para mediar en la inserción de nuevos casetes de genes de rasgos (por ejemplo, casetes de expresión de genes insecticidas (IC) 1, 2 y un casete de expresión de un marcador de selección (PAT, por ejemplo) como el tercer casete mediante recombinación homóloga (**Fig. 12**). Los embriones inmaduros aislados de espigas NP2222DW autofecundadas o cruzados por hermanos fueron co-infectados con la cepa LBA4404 de *Agrobacterium* recAminus (portadora del plásmido helper pVGW7) que contiene el vector binario 22840 y el vector de ADN donante que comprende los casetes de expresión IC 1, 2 y el casete de expresión PAT. De manera similar, se puede utilizar más de una nucleasa dirigida al sitio simultáneamente para escindir más de una secuencia transgénica MIR604. Por ejemplo, se pueden utilizar dos o más ARN de guía única (ARNgs) junto con la proteína Cas9 para escindir la secuencia de ADN-T dentro del transgén MIR604 (por ejemplo, secuencias proximales LB y RB y/o casetes PMI y mCry3A) simultáneamente para separar al menos un casete de expresión del inserto de ADN-T MIR604 (**Fig. 12**). Embriones inmaduros infectados se colocan en medios de inducción de callos y luego los callos se seleccionan en medios que contienen bialafos. La generación de eventos transgénicos a partir de embriones inmaduros infectados es, por ejemplo, tal como se describió anteriormente para manosa o glifosato, en donde el bialafos también puede utilizarse como agente de selección. Las plantas seleccionadas se muestrean para determinar el número de copias transgénicas y la escisión del sitio diana con ensayos Taqman. Las plantas con escisión de la secuencia diana se analizan adicionalmente mediante PCR para la integración fijada como objetivo con cebadores que abarcan las uniones de recombinación (**Fig. 12**). Debería ser obvio para los expertos en la técnica que se pueden utilizar otros métodos de suministro de genes, incluido el bombardeo biolístico de partículas, la transformación mediada

por monocristales, la electroporación y la transformación de protoplastos mediada por PEG, para introducir el vector de expresión de nucleasa dirigido al sitio y las moléculas de ADN donante.

Ejemplo 14 Apilamiento de genes fijado como objetivo y reemplazo de loci transgénicos que contienen un gen marcador seleccionable no funcional

Ejemplo 14.1 Diseño y ensamblaje de TALEN para realizar roturas cromosómicas en loci transgénicos que contienen un gen marcador seleccionable no funcional

Es conocido en la técnica que las secuencias transgénicas pueden insertarse en loci de maíz y arroz transgénicos que contienen un gen PMI marcador truncado no funcional seleccionable, utilizando la transformación mediada por *Agrobacterium* y aprovechando las roturas de ADNdc creadas por la expresión de meganucleasa I-Ceu I nativa (Patente de EE.UU. N° 7.935.862). Sin embargo, la inserción fijada como objetivo, mediada por meganucleasas nativas está limitada por el hecho de que un sitio de escisión de nucleasas previamente modificado tiene que insertarse primero en el locus del transgén. Aquí, los autores de la invención quieren probar si las nuevas nucleasas dirigidas al sitio del diseñador tales como TALEN pueden diseñarse contra secuencias elegidas al azar dentro del locus transgénico existente para mediar en la inserción fijada como objetivo de secuencias de transgenes adicionales, para superar esta limitación. Para lograr esto, se diseñaron dos pares de TALEN contra una secuencia diana seleccionada al azar(5'- ATAGA GATCC TCTAG AGTCG ACCAT GGTGA TCACT GCAGG CATGC AAGCT TGT -3', SEQ ID. No. 116, solo se muestra la cadena superior) dentro del locus transgénico de eventos transgénicos pNOV5025. Se eligieron dos secuencias dentro de este tramo de ADN como sitios de unión de TALEN, 5'- ATAGA GATCC TCTAG AGT -3' (*también conocido como* rPMIFw1, SEQ ID No. 117, solo se muestra la cadena superior) y 5'- ACAAG CTTGC ATGCC TGC -3' (*también conocido como*. rPMIRv1, SEQ ID No. 118, solo se muestra la cadena inferior). Un par de TALEN consiste en un TALEN de longitud completa (cTNrPMIFw1-01, SEQ ID No. 119) diseñado contra la secuencia diana rPMIFw15'- ATAGA GATCC TCTAG AGT -3' (SEQ. ID. No.117) y otro TALEN de longitud completa (cTNrPMIRv1-01, SEQ ID No. 120) diseñado contra la secuencia diana rPMIRv1 5'- ACAAG CTTGC ATGCC TGC -3' (SEQ ID No.118). El segundo par de TALEN consiste en un TALEN truncado (cTNrPMIFw1-02, SEQ. ID No. 121) diseñado contra la secuencia diana rPMIFw1, 5'- ATAGA GATCC TCTAG AGT -3' (SEQ. ID. No. 117) y otro TALEN truncado (cTNrPMIRv1-02, SEQ. ID. No. 122) diseñado contra la secuencia diana rPMIRv1, 5'- ACAAG CTTGC ATGCC TGC -3' (SEQ ID No.118).

Ejemplo 14.2 Vectores de expresión y transformación de TALEN para secuencias de locus diana PMI truncadas

Las secuencias de ADN de nucleasa de fusión artificial se ensamblaron luego a partir de una colección de fragmentos que contenían diferentes repeticiones de RVD, promotor y terminador para formar casetes de expresión TALEN directamente después de la digestión y el ligamiento de enzimas de Tipo IIs tal como se describe (Cermak et al, 2011, Nucleic Acid Research 39(12):e82; Zhang et al., 2011, Nature Biotech 29:149-154). Se hicieron varios vectores de expresión (21438, 21792 y 21793) para TALEN contra secuencias diana de PMI truncadas. El vector 21438 comprende casetes de expresión para TALEN cTNrPMIFw1-01 y cTNrPMIRv1-01. El vector 21792 comprende casetes de expresión para TALEN cTNrPMIRv1-01 y cTNrPMIFw1-01. El vector 21793 comprende casetes de expresión para TALEN cTNrPMIRv1-02 y cTNrPMIFw1-02. Inicialmente, se utilizó un vector donante de fijación de objetivo existente pNOV5045 (Patente de EE.UU. N° 7.935.862) para probar la inserción fijada como objetivo. Más tarde, también se construyeron y utilizaron vectores donantes adicionales de fijación de objetivo 21779 y 22173 para experimentos de inserción fijada como objetivo (Tabla 9). Los vectores donantes pNOV5025, 21779 y 22173 contienen la región 5' complementaria del casete PMIintron para restaurar la función PMI y también otras secuencias de interés y regiones de homología. Tras la escisión de las secuencias diana cromosómicas por TALEN, la secuencia del vector donante puede integrarse en el sitio diana mediante recombinación homóloga.

Ejemplo 14.3 Inserción fijada como objetivo de transgenes en loci transgénicos que contienen un gen PMI truncado no funcional mediado por TALEN

Loci transgénicos seleccionables se generaron a partir del vector diana pNOV5025 (descrito en la Patente de EE.UU. N° 7.935.862) utilizando la transformación mediada por *Agrobacterium* en la línea de maíz NP2222 como se describe utilizando PPO como marcador seleccionable. Para probar el efecto de la inserción dirigida mediada por TALEN en estos loci pNOV5025, se suministró conjuntamente un vector donante (pNOV5045, 21779 o 22173) a tejidos embrionarios de maíz inmaduros junto con un vector de expresión TALEN (21438, 21792 o 21793). Después del suministro de genes y de la recuperación de tejidos, los tejidos diana transformados se colocaron en medios de cultivo que contenían agente de selección de manosa para recuperar eventos con inserción fijada como objetivo, es decir, células con el gen PMI funcional reconstituido tal como se describe (Patente de EE.UU. N° 7.935.862). Los eventos de inserción fijados como objetivo mediante recombinación homóloga deberían ser resistentes a la manosa. Para diferenciar los eventos verdaderamente fijados como objetivo de los escapes de selección, los tejidos (callos u hojas) de los supuestos eventos resistentes a la manosa se analizaron primero por PCR utilizando cebadores que abarcan una unión de inserción fijada como objetivo. La presencia de una señal de PCR positiva sugiere la inserción fijada como objetivo, mediada por TALEN, en los loci transgénicos pNOV5025. Los eventos positivos se analizan adicionalmente mediante el método de análisis de transferencia Southern para confirmar que estos eventos tienen una inserción verdaderamente fijada como objetivo tal como se describe (Patente de EE.UU. N° 7.935.862) . La Tabla 9

5 muestra los resultados de varios experimentos de inserción fijada como objetivo. Los resultados demuestran que los genes de rasgos útiles pueden insertarse de forma reproducible en loci transgénicos predeterminados mediante la reconstitución de un gen marcador seleccionable a una frecuencia útil utilizando diferentes vectores de expresión TALEN y donantes de fijación de objetivo. Tanto la versión completa como la versión truncada de TALEN pueden mediar en la inserción fijada como objetivo en los loci transgénicos.

Tabla 9 Experimentos de inserción fijada como objetivo de loci diana transgénicos pNOV5025 con diferentes vectores donantes mediados por la expresión de TALEN

Locus diana	Vector de nucleasa	Donante	Nº Experimentos	Explantos totales	Eventos fijados como objetivo	Eventos LC intactos
Loci transgénicos pNOV5025 con embriones F1 PMI truncada	21438: TALEN FL	pNOV5045 GUS + tPMI	8	6536	0	0
Líneas transgénicas de pNOV5025 con embriones F2 PMI truncada	21438: TALEN FL	21779: tPMI	7	11521	4	4
Líneas transgénicas de pNOV5025 con embriones F2 PMI truncada	21792: TALEN FL	21779: tPMI	3	8590	1	1
Líneas transgénicas de pNOV5025 con embriones F2 PMI truncada	21793; TALEN dNC	21779: tPMI	5	10180	1	1

LISTA DE SECUENCIAS

<110> Syngenta Participations, AG
 Chen, Zhongying
 5 Kim, Myoung
 Que, Qiudeng
 Chilton, Mary-Dell
 Zhong, Heng
 Gu, Weining
 10 Jiang, Yaping

<120> Métodos y composiciones para identificar y enriquecer células que comprenden modificaciones genómicas específicas para el sitio

15 <130> 80484-WO-REG-ORG-P-1

<150> 62/096442
 <151> 2014-12-23

20 <160> 139

<170> PatentIn versión 3.5

<210> 1
 25 <211> 1582
 <212> ADN
 <213> Zea mays

<400> 1
 30 cgagcagtag aaaaaaaaa caacgccaag agatggcaga gtcaacaacc gatcacagta 60
 cgtatcgcacacatcaag attttaagaa cgacccccg gctggccaat ggccacttc 120
 ttgcccggtc ccgacagcgg acacggcgcc atgccctccg cgccgcacga gcgaggtgtc 180
 35 gtgagaaccg gcaaaaaaaaa aaaaaaaaaat catccaagt gcgctgaagt gaagtcctt 240
 cccccggtt tccttgcccc tggccgttac ccattggcg cgcattctt tcttgcccc 300
 40 ccggccggcc gctcgtcgc ctttgattc ttcaaagcc gctgatggga tcgtggcgaa 360
 cacaccacc acccgtctt gcccaaagcg acccggcaca ggccgcgccc gcttactaa 420
 ccactagcgc ttgtactaat aaaatggtt ctagcgttg ttgctctct ttttcttt 480
 45 ttgccggtt cttcggagcc gtgtggacag cgtccagtcc agcaggcata ggggtgtctc 540
 ggccgcccggcc gtccgacgac gatcgatctc catgagattc cgcgacaggc caggacggaa 600
 50 agctgggccc ttctaccaa ttcgctcgg agccggaaca agattccctc cccaatcat 660
 ttgacgcgc ctttcttcg ccaccctcg tggccgtgt tcgcccctc tatctcttc 720
 55 ccgtgacgcg ttcttttga gcttagcggc cggcacgttg ctaaccaggc tagcttcgtt 780

ES 2 785 329 T3

cgttttaat ctgcctatcg agaagagaag aaaaattcgt ccatggggcc acggcctctt 840
 ctgcaggcat ttggcagaac cagtgaatgg agatggacgg atgctgctca gatacgcagt 900
 5 caaacctgcc ggcgaaatta cggggggagc tggctggctg gctggacgcc agagcacaca 960
 tggatgacgc ggcacggcag ctagccgagc aggcgctctg cgcacgcaag tgtcgtgccg 1020
 atctcgacc agcagcatcg cgtcctaaac aaaggaggtc ctgtcctgca ctgcactgca 1080
 10 cggatgcagc tttggcaacg aggtgtgtcg cgacgcctc ctgcacggat gtagctttgg 1140
 attgctggat aatatctcg gcaagcatcg tatttatta tttaattat tatttatta 1200
 15 tttattacga cgtccaccgc tgtgcgtgct ccgtttcgga ttataataaa actaatatta 1260
 aataaaaaaa tcgattaaa ggatgtttcc gaaataaaga tctccaccac aggagcgaag 1320
 gaaaagagaa acgaaatggt gttgcgatta tacggcggct ccgtcgtcgt cggatcgaca 1380
 20 tgtaaaaagt acgtgcacaa aaggcaaagc aaaatcacct catcaaagac caaaagcggg 1440
 gcaaagaata gatactaaat ccacatattt tttttgttc ctgttacta tgtgctgtgc 1500
 25 ctgtgcgtga agcagcagta gtacgtgtag tcactgtca tattctttt agtgtctgt 1560
 cactagtcac atggagtagc aa 1582
 30 <210> 2
 <211> 17176
 <212> ADN
 <213> Zea mays
 35 <400> 2
 ccattaaatc gacgaaagca actagatcct gattttgatt acgattacga ttgacgagta 60
 tggatcatga ttttattgca tttttatga ttttattgca tttttatta ttttattgct 120
 40 gatttatgta ctaactgtt tttgttaaaa taggatgtca aagaaaatga agtctttagc 180
 tcgtagtttg cttgggtcga ggaggagctc gaggagcagc tcgaggggtg aggattcagt 240
 ttttcagggc acaggttcta ccatgagcag acggagagcg ctggcagaac attgcctcc 300
 45 acaagatgta agttagttgt taaattacat tatttgagtt acttaattat gtatgatgta 360
 agttatttgt ttcattagat gctgaaattg aggaaccagt ggtagaggat catgcaagag 420
 50 atgatgttga agatgatggt ggagataatg tgggagatga tgctggagac gacgctggtg 480
 gggattctgg ggctggggat tctggggctg gtggagattc tcagctggg tctggaactt 540
 ctcgagttaa gagaacgagg aagctgcatt ttgttgacc acctccagag cttccaccgg 600
 55 aatctcgggt tgtaataaag cctagtggaa agtgagtac atatctttgc ttaaatgta 660

ES 2 785 329 T3

ttgaaagtta tgtttaatt tctacattga tttctgtttg caggacttgg atcgacgact 720
 5 cgttcacagg cacaggacac tacaggcagg tgaacatggt tcttgtaat ctgttcgctc 780
 tgcactggcc tggctctgtg actttgccta ctggcgagtc tgtccccgcc accacttggg 840
 agcattatcg ctatggtgct tgtagaacgt ttggcaacac acaggcacta gtttgggatg 900
 10 cattctgggt atgactgtt tatactattt tagttattcc atatatgttt gcttttatga 960
 taacactatg gttttgcag aaacggtaca agttgccgga cgatggatca tatgatatga 1020
 acgctcgta cgtgtttgag ttaacgca acgatgctg tgcatatgca atgtactatg 1080
 15 cacgaattca ggctataaag gcatggtaca gagcaaatgc tgatgatcga ccgatgcca 1140
 atacaaggc cgagtgtgca tcaattact tgacggagga gcaataccta gaggtaaaca 1200
 20 ggttgttcc tctcatatcg cacaaagcca tgtatttctg tgctttattt aaaaattttg 1260
 atgtaggtgt cgggtccgtg gatggccacc cgaccagacg gttatcgggc attgtgcaga 1320
 tggtaggctt cccctgactt tcgtgccatt tccgaaagga acaggggaaa ccgtgggact 1380
 25 gagtcgttcc acaactacgg cggatgatgt catgtgcgct tggtaagcg aatggttaagt 1440
 cacagtttgt cgtaactttg aatcacatag caaatgtgct attataactt ttatgtacag 1500
 30 gaagtcaaat ccggccgtac gccacggat gtggagggtg atatgcaagg gcatagggcc 1560
 ataggggttc tgatcctcag aatcctgatg tttatgcac tcagacggcc accgaccgtc 1620
 tagtgagttt tgatactct attatgtgtg ttgatattgt ttgcaagggc ataggggta 1680
 35 tgcacttata tttgatattg tttgctcca ggcttcgat gggcaggaga tggttcaacg 1740
 ccatggggag gactacgatt ggaggagcca gccaatcgac cctcagacag catatgctag 1800
 40 cgcaggagga caagctcatg gacggtgaga ttatttgatt tggtttcaa aattgtcatc 1860
 atatgcttgc gattcaactg agccatgagt tactatacta agtgcattgt tctcttctg 1920
 aggttgggta ttttgattc tacgattgat tccagagagc tgagacgccc tggacgacaa 1980
 45 tccacatcgt cgtcttaca gtcgtcccgt tcacgatcag cagccatga gatagagctt 2040
 gcagtgttgc gtcaacaggc agagtacat caatcagtct tgagggaaca attggagtac 2100
 50 cagaggcaac aatctgaata ccagagacaa caagccgagt accagaagaa gagggacgag 2160
 tattatgcaa gcctccaggc ccaaaatcaa gctcttctct cggttaagttg aagtaacatt 2220
 ttgtagctta ttttcaaaa cacttgatgt gtatcttgtt tgttcaacaa tgacttgat 2280
 55 ataatttga gcaactagcc caacaagcgg gcgtcccgat gccgacatat gggatgccgc 2340

ES 2 785 329 T3

ctccggactt tgcaactgca atgccaatgt tggcgctcc acctccacct cgcctccgc 2400
ctacgtcaca attccctatg gtatgtacac atatgctgtg gtgacatggt catagatgct 2460
5 ttatgtgttt aatgaacaa ctgagtgggt actatttcat gtgcttgtgt tatagggatt 2520
tcagacacca cccgcttcag ttgccgcacc tggagatggg tctgggcaag acgacacaac 2580
10 acattcgtgg gtcaacaacc tattcaacac gcagagtcca gccggaggag gtggctactt 2640
gaaccatcca gacgatggat atgattgatg tgtcgtgatg tttatttatg aaacactttg 2700
caacacttgt ttgtgagaca caatttcagt ttgcaacaac cgtcgaacct atatgtgat 2760
15 gttaaattg tgaatgttat tatttatgtg agaattttg tgatttgaa tacttattag 2820
aatgtgtata tttgtgattg tgaatgtgaa tgtgtatatg tgcataatc tgttttcgtt 2880
20 ttgtaaatgt cagattttt aaaaaacaga attttgtga aattctgtaa tttgttatgt 2940
ccgacggcct agtggtagcc gtcggacata acacatggtt atgtccgacg gcattaacta 3000
ccgtcggaca taagggatgc ttatgtccga cggcctagtg gtagccgtcg gacttaatcc 3060
25 tgtggggccc acattccgac cggtaaaacg gttgggattt gttatctccg acgggcacac 3120
gcagccgtcg gagatagctt atgtccgacg gctgccgtcg gacattgcac tatttccgac 3180
30 gagttatctc cgacggctta aagccgtcgg agataaggct ttccctcgg aaataatcta 3240
tttccgacgg tttattcctt atgtccgacg gttttggcca tcggacgttt ctccgtttac 3300
tgtagtggaa gggagtgcag tagaagtgca atggccta atgtcctcacc ataaaaaaaa 3360
35 caaagtcaa atcttcaga tttatttact ctggagtag catagcatag gtgtacaagg 3420
gaagtgccta taataatggt acaagatac tcacctctc atacctgccg tctcactgac 3480
40 aggaaacggt aggtggcaag ttgtaagct tttcggttt agccatgtcc gatcccatgt 3540
gtggatcctg tactgtacat cgacatgcga catcttggtt ggcctatctg atctttaatg 3600
tcgccgcga cagagaggag atccggtctc atgaagtggc tccgagatt cctcaagggg 3660
45 ccgaagcccg gcgaaccgag ccgccggcgg cccaggtgg cggccgggga agaggaggac 3720
gcgctttggc accaacgacc agctagacca aagtactac tactaccact gtactagtga 3780
50 ctgagtctct ccttcttct tctacagttc gtctctgtct ctccaatgg ctctttgatc 3840
tatccaaaca tgccgtttca cagcttcaca tccgattcaa ctgcatcca ttgcagtgcc 3900
atcttaaaact cttagctccg aaaaaggaag ttgctaaaga ctagtacaat atctttcttc 3960
55 gctgtttcca gatcgtacca cctaggaacg agaatgagga actagtggac cgtgccattg 4020

ES 2 785 329 T3

ccgagcctct tgcaaggct gtcaaaccgc ccagaggtag taccgtagat ggacgaatcc 4080
 agatacacat tccatgtcag catggtataa atttctctga aaccgtttca tccctgcatc 4140
 5 ccgttgctgt aaattgctgc gccagagaaa acccataggg gagaagacag caacgacgac 4200
 gaagatctgg caagagccgt acaggacagt ctgaatatga acccttacac gccttacaac 4260
 10 ccctatccac cctctcaggc ccaacctaga gggcacaggt caaccgctat cacaatcacc 4320
 atttactggc accctaagat attctctaac gcgcaaagc agctcaatgc cgtcagtgtc 4380
 cgtgctgcag ggtatgcgga ggctgcaagc atgagatagg gcgtggccat tacttgagct 4440
 15 gcatgggcat ttactggcac cctcagtgtc tccgctgcag gtctgcggt caccttatcc 4500
 gtgagaccga ggtaattaag ctcttgcatc ttctttcacc gtggaagtgt gttacagtgt 4560
 20 taccagagat gagatcatat ccgttattct tttcgtcgtg ccttccagtt caccttgctg 4620
 ggtgcggatt cgtaccacaa gctgtgctac aaggagctgc atcatccaaa atcgcacgctc 4680
 tgccttcagt ttgtaaggcc tcgtgtcctc ggaaaacctg agcgatctgc actacagact 4740
 25 gataaactgc gtacgcgta gcatttttac accgtgccgt ctcgtcagtg taatgagagg 4800
 ctcatctttt gtagatgtgt ttctgcagat cccaacgaac gggagtggct tgatagagta 4860
 30 cagagcccac ccgttctggg gccagaagta ttgcccttcg catgagcgcg acaggacgcc 4920
 acgttgctgc agctgtgaga aatggagggt acaggtacag atactagata gaaaatgtgg 4980
 tcgcagtccg atcactcgtt tcaaaactag gttgtacatt gcctgatcat attcaagggc 5040
 35 atcacttttc gttgtgatt gtgcagccaa ggaacacgaa gtacatgtcg ctgggagacg 5100
 gacgcggcct gtgcatgaa tgctgggat ctgcagtgat ggacacgagc gagtgccagc 5160
 40 ctctgtacca ttctatcaga gactactacg aggggatgga catgagactg gaccagcaga 5220
 taccgtgct ctggttgag cggcaagcgc tcaacgaagc catggaaggg gagagtaaag 5280
 tgagtgttc ttctggttct gcccttttt tttgtgtg tttctgcaa acgtacagcc 5340
 45 ttcggaaaca ctaacgctga ccgcatctgc gaaatccagg gcccacgcca catgcctgag 5400
 actaggggcc tatgtctgtc cgaggagcgg actgtgagca gtgtaagtgt tcaacaactc 5460
 50 aagctgtggc ggttactgct gggatgctta gccacaatg cgacagttc tgctcttctg 5520
 actgtgtgtt acttctgcag atacttagga ggcccagaat tgggtgaaac aaccggttac 5580
 tagacatgag aactcgcca cagaagctga ctaggagatg tgaagtact gcaatacttg 5640
 55 tctgtatgg cctccccagg tctggcaatt tttttttat ctctggagtc tggaggacat 5700

ES 2 785 329 T3

cactttttg tacctaccgg attcaaac tgcggttctt ctcacgttct gtgaccggtg 5760
 5 gtgtcgtcgt ttgtgtcaca acgctattgc aggctactga caggttccat cctcggccat 5820
 gagctgatgc acgggtggct gcgtctcaaa ggtacatccg tatatggatg gatggacaaa 5880
 acatttcata cacccattta tcactttat ttatgaattt tcttgaaaag ctctaccgga 5940
 10 tcgtactttt cattcaggtt accgaaacct aaacgcggag gtggaagaag gcatatgcca 6000
 ggtcatgtct tacttgtggc tggaatcaga gattcttccg tcacctcga ggcacgcga 6060
 gccttcata tcctatccag caacatcatc cgagaaagg ggaatatctc ataccgggaa 6120
 15 gaagctgggc gagttctta tgcaccagat tgccaatgac acgtcgacgg cctatggtga 6180
 cgggttcaga actcgtacg ctgccgtcaa caagtatggc cttcgccaaa cactgagcca 6240
 20 tatacgcta acaggaggtt tcctgtata ataagagtga aaaaaacata aatgtccat 6300
 gcatgatcat atcgatatca aaaggtata tacatattgg gatgaagtg gctatggaac 6360
 actggatgca tagtgattca atttcgtga ctttgagtt ttcaaagagg taatgctgga 6420
 25 gtaaatacaga aagtaaacc gtataaagca tggttgagac gattgtttac tctatagtga 6480
 tgcattgctac atgcatggcc aagaagagag caacgggcca taggaccatc gttattacc 6540
 30 atcgttgta atcaaattha gggctagata aatagtaaac catctatagg aacatccaga 6600
 gtcaatctac tctatgatc ataccgacca gggcggtatc taggtaaaat aaccattgat 6660
 gcatctcca ttaaattata gtatcatcaa cctattaag tgctaacaat catacattt 6720
 35 aatgaagatt attaaaatcc attggtgtca catgacacca caaaaatggc ctatgaccgc 6780
 ccctgatacc gacaaacct gaaaaattg taactgagaa ctgatgacca tacacatgaa 6840
 40 catgaattag gactttcaaa gagtccaatc aaagtaaaca attagactaa gcatgtaaga 6900
 tagggtgcca gatgtgtat caggctttg agcacatgtg caactgtat gtcgtggaac 6960
 gtgacaaccg gtcaaggaat gcgcatgtga cggtgtaaaa tcaatataac aacatgaaga 7020
 45 acaatcataa gtataggtg aaactacaca tgataactag tatactttc taacaacaat 7080
 gattagtaca atatgtacc tggtaaagt gtagacacat tagagatgc attagaacgg 7140
 50 catggcgctt actttaaaaa atgttagaga agcggttatg gtcaaacaga atattatgtg 7200
 aatgctgggg aagatgaaca aatctatac acagaaacga aggaaccaa taggatcagc 7260
 ggagagtaca gtgccaacgc gcgacgaaac gaggaagcca gaaaggcacc gccgatgcc 7320
 55 cgcaccgct gactgtcgaa ggcgccgtg agcgtccga catcgaagga gtttattca 7380

ES 2 785 329 T3

aaaatgggac gaccaacatt gcgctttca cattgtttc ctaacgttgac actctttcac 7440
 5 atatggcacc gagacacgca atcttgtga caccgctcgt agtccgggcc gggcagtgag 7500
 gtcttacctg tcgtggtttc agaaaccggg gataataaga tttgtttcg gtaaggacgc 7560
 agcgcggact cactctgaat ggtcagagga ctcaatgatg gatctgagac aaggggttat 7620
 10 actggttag gcttgcgcc tagtccaatg ttgatcatag tattgcttag agcgtgttac 7680
 agttgagtgc tcgatctag aagatggggg ttgtcttct ctttatagc tcaaggatag 7740
 atcttacaat gagacttga ttctgttgg gtcgagctca gcttctact tctgggtgac 7800
 15 gtagctctc cggtatcgc tgctgggtcg tgcgccatcg tatccctgt atggcgtcgc 7860
 gtcttatccg ttcgccgat gagtcttct agctattctg atgcaaact agtgggtcct 7920
 20 ggtgggtctc gcagagtcgg tttgtgtga ggttagggg cgtcttagt acaacttcat 7980
 ctccatcat tccctatcgc tcacctcca gcatgcgtag gcgtacgctt cgtacagcgt 8040
 attaccgct ccctctgga ctctggtat gtaggtcact gtagagacc aatgctgggt 8100
 25 tgattgtcc caccgctcag cgaggatgct ctctagaatg tatctggcgt cgtgattggc 8160
 agaggcctc ggtactgctc ccatggttca gacgtggctt ggtggtgac tgctcatcg 8220
 30 tgctgacgtg actgatagt actaggtcgg ctcttacct ctatagatg gctcgtaga 8280
 aagtccattg tcacttctg ggggtgctc gcatgtagt tgatcgtaa atccgctcg 8340
 tcgagtgtc cgataatgt gctcggcggg cgggtatga gtagtccga cctcaccggg 8400
 35 ttgtcggca atccgcctc gccgattgc tcggtgaac ggttggctcg cagccccacc 8460
 tcgccaggtt gtttgacaca cgtgtggc tggtgggg tcgtcagag ccctttggg 8520
 40 ctttttggg caccggtt ctggtaccc acaataccg agctagatg ccacatttc 8580
 ccctacctc ctcccgct cggcgacaa gcccaggatc ctggtgtaat gggcgagga 8640
 gaagcagttc ttgacggagg agaccagctc catgatccc acaaaatga aggagacaac 8700
 45 cgaggctac ctggcgtca ccatcaataa cactgttgc accgtccag tctatttcaa 8760
 tgagtccag cgccagacta ccaaaaact gcgcgtatc tccgcctc accgtatgc 8820
 50 gcatcatcaa cgagccacc actgtcga tcacctacgg gctcacaag aatcgagca 8880
 gcaacaacga gaataatgc gtcatctcg acctgacgg cgttacctt gacgtcgcgc 8940
 tccggcggct aaggaccga ctgccgaca gggcatgagt ggcgccgaga tggaagagaa 9000
 55 gaggagcaca aatggcgtc gtcggcaaag acaagagaa ctgagcgtg agtggaggaa 9060

ES 2 785 329 T3

ggggcaaatg tgtaactcca gcttggatat gactccactg accagattac gagcgacatc 9120
 aactagattg tgtgtctcag tggctcagtg ccattttttg aggtttgggt gccaatattt 9180
 5 tttcgtagtg gaaggcaccg cgcccatcgg gttttgggag ccaaacgcca aaccgctcg 9240
 cctcatattc cgcaacgtac agcggtttca tgggctggtt gaagggcccg gccgcaaacc 9300
 10 aaccgagtcg ggccgacgcc ctgggagatc cgacggctg gtctggcca agcaacctgg 9360
 tgggttggtg ccaggttaca gcctgggctg atctgtggac ggtggaccat gcaagttgt 9420
 actgggcttg caagttgta ctgggcctac tggaacagtc atagcccgtg ccgtcgtggt 9480
 15 gaccgtcgtg cgcgccgat ctggcagact gggcaggtcg ctgctccgtg ctgtttgtgg 9540
 atgcaatgca actatgcaag agtgatcacg gaaaacggac ggagcctgtc tgcctgttg 9600
 20 cgacgtagta caagcgctg aacagtgacg ctacgctatg ccacgagcct acgagtggta 9660
 ggtagtagta cactggtcag aatccagcag tgcaccacg ccgctgctga ctttgctgat 9720
 gagagggagg ggtcgagcga gtctgtgta aacctgaac cccgccgggg ctttcagtac 9780
 25 gtacgatacc acgagcagta gaaaaaaca cgccaagatg gcagagtcaa caaccgatca 9840
 cagtacgtat cgattcaca tcaagattt aagaacgacc cccggctggc caatggcagg 9900
 30 ccacttggtt gcccgtgcc gacagaggga cacggcgcca tgcctccgc gccgcacgga 9960
 cgaggtgtcg tgagaaccgg caaaaaaaaa aatcatcgca agtgcgctga agtgaagtgc 10020
 cttccccgc gtttcttgc ccttgccggg taccatttg gcgccgattc ttttctgcc 10080
 35 ccccgccgg cgctcgtc gccttggat tcttcaaag ccgctgatgg gatggtggcg 10140
 aacacacca ccaccgtct ttgccaaag cgaccggca caggccgcg cggttact 10200
 40 aaccactagc gctgtacta ataaaatgt ttctagcgtt tgttctctc cttttcttt 10260
 tttcgggt tcttcggagc cgtgtggaca ctggacagcg tccagtccag caggcatagg 10320
 gtggtctcgg cggcggtcgt ccgacgacga tcgatctca tgagattccg cgacaggcca 10380
 45 ggacggaaag ctgggcctt tcaccaatt cgctcggag ccggaacaag attcctccc 10440
 ccaatcattt cgacgcccc tttctgcc acccctcgtg gccgtgttc gcggccggcc 10500
 50 cttatctct tccgtgacg cgttctttg tagcttagcg gccggcacgt tgctaaccag 10560
 gctagcttcg ttcgtttta atctcctat cgagaagaga agaaaaattc gtccatgggg 10620
 ccacggctc ttctgcaggc atttggcatg tgaaggaacc cgaaccagtg aatggagatg 10680
 55 gacggatgct gctcagatac gcagtcaaac ctgccggca aattacgggg ggagctggct 10740

ES 2 785 329 T3

ggctggctgg ctggacgcca gatcacacat ggatgacgcg gcacggcagc tagccgagca 10800
ggcgctctgc gcacgcaagt gtcgtgccga tctgcacca gcagcatcgc gtcctaaaca 10860
5 aaggagggtcc tgcctgcac tgactgcac tgcacggatg cagctttggc aacgagggtg 10920
gtcgcgcagc gctcctgcac ggatgtagct ttggattgct ggataatgc tcgcaagc 10980
10 gtcgtattta tttatttatt tattacagcc tccaccgccg tgcgtgctcc gtttcggatt 11040
ataataaac taatattaa taaaaaatc ggattaaagg atgtttccga aataaagatc 11100
tccaccacag gagcgaaga aaaaaaaga gaaacgggct atggagaaat ggtgttcga 11160
15 gtatacggcg gctcctgctg cgtcggatcg acatgtaca agtaggtgca caaaaggcaa 11220
agcaaatca cctcatcaa gacaaaagc ggagcaaaga atcgatacta aatccacatg 11280
20 tttttttgt tctgtctac tacgtgctg gcctgtcgt gaagcacgat tagtacgtg 11340
actcactctt gtcatttct ttttagtgc ttgtcactag tcacatggag tagcaacat 11400
ggctggcgat acccgcgata aataaaaaa agagagaggg agtaatat tagatactca 11460
25 cccattataa attataaat attttagagt tgaataggt agttcttga ttttattta 11520
tagacctca agttgtccg cctctcgaga gccgaacttt gttcccatg cttccccgc 11580
30 tcaggatcat ccacctcct caccaagggc acacggaaga tctggtggag cttgtcatca 11640
ccccgcgcc tcaaacatg tgaggatcgc tcgtcgtgg cactagtagc actcattga 11700
ggcactacat tgacagttc ctccagatat gtagtgagga aacactgaa caacacgttt 11760
35 gggattacat atgatgttt gttgttcat caatgataat tccttcttct tgcttaatga 11820
ttggctctag aaccgataca tggcacatt catcaggaag ggcgatgca cgaataaa 11880
40 ctgttatcga tgttcggt tctaagtga agaaaacaat ggctaacaac tagcccatgt 11940
gagcataacg acaaggccta caaacaac ccaagaata gctaaatcat ggtctggatc 12000
cactctgcta tgatagatca cttttctaa catagttcat cctccattt gctctgctc 12060
45 acctagtcc tccatcgtg agatcaatga taagtaccaa gtgtacgatg aatccattt 12120
gtcatgcgtc ttgaagaat gttggtccg cttgcagtgc cggccagct atggaccag 12180
50 gggctatgt cataactca gcaagacat accccatat gctaccaaga tgcctttta 12240
gaatcctggt aaaagaaatc ggtggaagac gactcaacga ctatcaggcc ccatttttg 12300
ggaccatgct caaggatttg gctttagcaa aagtagataa cactattttg gggagcttga 12360
55 tctcaaggac acatgaagga ataaagctat tttagtcaag acgtcctta ggaacacaat 12420

ES 2 785 329 T3

aagaccctag gtcctaag actagtgtgt tatatgttc gagacgctcc tacacctaag 12480
 5 ttttttagc tattccatt cacaatgatg gatatgacc taggtaccaa tgccccacgg 12540
 agtttcaac attaagaatg atctaaaaca taaggaccct agagccaggg cactcctggt 12600
 attaaaacat ttaaacccta tgccttagt gctgattttt gtttttgtt tgtaggagga 12660
 10 gaaacgagca cttgttgct ctcgcgaca tcttgatagg ctgtaccgtg atgccagtaa 12720
 ctccttgacc atcctagaga ggagccaccg cttcacatg tctgacctag atcatcacca 12780
 ccatgagctg caggcgtctc aagatgaagt cttgcaactt ggacgattgt tgtcgactaa 12840
 15 ggattccacc atcaaggatc tgcgcttcta aaaagctctg cccgcaggag ctagaggcgg 12900
 cccagcttgc tattaagact ctaaaggaca actgcaccgt cctgaagacc cagcgcgata 12960
 20 aagctatgga taaagttgt cgcgctggac ggatcctgat gaggaggcac ggcgttgagg 13020
 tgcctgacga tattgtgtc gatgtcaagg ccgcgctga tgctacaagt cgtccctctt 13080
 tttctgttc tcctgcaag gataacctc gcaaggatgt ttcgatcag tgatgtcctg 13140
 25 taaaacactt tacttattga gttagtatct ccttgaggga tggatgtaat atggattcaa 13200
 tgtgcatcgc acaattgtgt tagaactcga atattctacg aacagggtgc cggaaaacgg 13260
 30 ccctagcact ggcaagtaag atgttctctt ttctgaagt gtttcaatt ttagccggtt 13320
 gttatgctat tagggtatag tggtcaccct aacagcgcga aatgcaagta taccgcgttg 13380
 gcttaagggtg tgttccgact taagtcagtt gccttgctgg tagggcatag tggtcaccct 13440
 35 gagtaaagta agtcagagta tattgcaccg acctaagtcg attgcactac tagcagggta 13500
 tagtgatcac cctaagtaaa gtaagcatga gcatatcga ccgacttagg tcatcaccga 13560
 40 ctaagccga ttgttctgtt agcagggtat aatggtcacc ctaagtcaga taagcatgag 13620
 catgtcacac cggcttaagt cgttgccgac ttaagccgat tgctccgtca gcagggtata 13680
 gtggtcacc taataagtca ggtaagcatg agcatatcgc actggcttaa gtcgttgccg 13740
 45 acttaagccg attgctccgt cagtagggtat tagtgggtcac cctaagtaaa gtaagcgtga 13800
 gcatgtcga cttgcttaag tcgattgctc cgtcagcagg gtataatggt cactttaagt 13860
 50 caagtaagtg tgagcatgct gcaccagctt aagtcacgc cgacttaagc tgattgctcc 13920
 attagcaggg tatagtggct accctaagtt aggtaatcgt gctgatttca agtctagccc 13980
 aatcaaagtc agttgtaagt caagagtatg aatgcctttg gagaatgaaa actttattga 14040
 55 tgatgaaatt ctcggattta cagagtacaa tgttccttca agaattttga ggccttgcta 14100

ES 2 785 329 T3

5 aggatagaat tttctgaggt gttctatggt ccatgagttc ctttctgtgc cgccatttg 14160
 agtaagccgg tatggtcccg gccgagtgc cgctctaata atgatgaacg atccttccca 14220
 5 cagtggatgat agcttgtgcc gcccttccc cgtagaatt cggcgaagga ccaagtctcc 14280
 cactgcaaag gatcgggtgcc gcatagcttt atcatggttag cacctcaagg tctgctggta 14340
 10 cctagccgac tgaattactg tgttcaatag ttcttcttcc agtacatcaa tatcttccag 14400
 tctggctgct tctgctttag ctatgctttc gaaagttaat cttgggtgcc tgaagattag 14460
 gtcagcgggc agcactgcct ctaaccata aacctgaaa aacgggggat ttctatgag 14520
 15 agctcgactg ggttgagttc tcaggctcta gaccagtat ggcagctctc tgatccattt 14580
 tctgcaagc ttttactct tgtcaaatat ttttctctg agtcttcta gtatcattcc 14640
 20 gttggttctt tctacctggc cattggctct tgggtgtgct actgatgcat acttaacctg 14700
 gaagctccgt tgctcgaga aatcgagttc agagctggtg aagttggatc ccagatcggg 14760
 gatgatgttg tttggtatcc caaacctgaa tattatgtct tgtataaact ccaccattt 14820
 25 ggctgaggtc aaggaagca tggcttga ctttatccat ttttgaatt tgttaatggc 14880
 aaccagtaca tgagtatagc ctccctgagc cttcttaaaa ggtccgatca tgtccagccc 14940
 30 acagcatgcg aacggccatg ttacaggaat ggtctgcagc tgctgcgagg gtaagtgttg 15000
 ttgctttgat aggaattggc atgcttca cttctggact aactcgcaa catcgttctt 15060
 tattgttggc caatagaaac cggatctaaa agccttccc accagagtcc ttgacgctgc 15120
 35 atgtattcca cactgcccgg cgtggattc atccaacaat tgtttctcgg tagtcgagtg 15180
 aatacattc atgaggactc ttgctgcacc tctctgtac agtaagccc atatgatggt 15240
 40 gtagtgggcc aactgcctcg cgatgattc cactgcagcc ttgtcatctg gctcttctc 15300
 attttata acctgatgat aggctctctc cagtcgttgg ggtccgactc tggttggctc 15360
 aaggattgc aacttccac ctgatccaag atgatgctt gttgtgat tcttggacg 15420
 45 aagatcccag gtggagcctg ggcccactg gatcccagct tcgacaacgc gtctgctgct 15480
 gcgttgcggt ctcttccac atgatggaac tctaactctt caaatttgc ctctagttt 15540
 50 cgcaaacg cgagatatt gcccatggag tcagtcgagc agtcttagtc tttgctatc 15600
 tggattatga cactagcga atcaccat accatcagtt tcttgatgcc gattgatata 15660
 acaatgctta aacctggat cagttcttca tactttgctg cattatttga cgctggaat 15720
 55 agtagctgga gtgcataatt gtgttctca cctccaggag caataaagag aatccctgca 15780

ES 2 785 329 T3

cccgctcct atagttcaa cgagccatca aagtacattt tccacacctc gataacctct 15840
 5 gggctatctg ggacctgatg ttcagtccac tctgatacga agtcaaccag cgcctgagtc 15900
 ttgattgccg tgcggggcca gaactctatg ttgtgagctc caagctcaca cgcccacttg 15960
 gcgatccttc caatagcttc tttgtgtgg agaattgtccc ctattgggaa tcctatgacc 16020
 10 actatgactt tgtggctgc aaagtagtgt cggagtttgc gtgcggttag aagtactgca 16080
 tacaacaact tctgtacttg aggatacctt atctttgagg gcccgaggac ttcactgatg 16140
 aagtagactg gatgttgac cgggtacaca tgccttct ccaccgctt gactactaac 16200
 15 gtggtgctta ccacgtgagt cgtgctggag atgtataaca tcaaatcttc caccaactga 16260
 ttcagcgtag ctgctgagg cggcttgagc actggtggg tagtcaaaaa attttagttc 16320
 20 ctctagagct tctgctgct ctgtgtcca ctgaaacttg tccaccttt tgagcaatt 16380
 gtagaaggcc atgcttct ccctagtct tgatatgaac ctgctcaggg ctgcatgca 16440
 tccagtaagc ctctgtacct ttttctatga tcgcaacact tccatttca tgatggcctt 16500
 25 gacctttcc gggtagctt caatccctg gtgactgaca atgaatctga gtaactccc 16560
 tgcctgtact ctgaaaacac acttttctgg gttgagcttc caccgtaat gcctcaggct 16620
 30 attgaagact agctgcaaat ctcaatgaa gttttctgtt ttgatcacca catcatcaac 16680
 ataggctcc accgcttgc cccagtggc ggctaagcat gtctgaatgg ctctctgta 16740
 agttgctccc gtgttctga ggtcgaatga catgaagggtg taatagaaag ctccaatgg 16800
 35 ggtgatgaaa gcattctct cctcatctc tttgctaag cagatatgat ggtatctaga 16860
 atagcagtct aggaaggaca acatagaaca gccagcggc gaatcaacca cctgatctat 16920
 40 tctagggagc ccgaaggat cttgtgtgc tcagacctgg gggaccctca accaaatcga 16980
 caagtgaatt ttgtgtcgc tgcctgcc cagatggatt agtcaagat gaaacacaag 17040
 aggaggggtg aggtttatat tatctgcac cagggtgctt gcagtgggg atacaatctt 17100
 45 tgcgagagag ggaacggatc ccaggtctct tgagagatct agtgtgtga aggggagttc 17160
 gatgttgag caagcc 17176
 50
 <210> 3
 <211> 23
 <212> ADN
 <213> Zea mays
 55
 <400> 3

ES 2 785 329 T3

agtgcagtgc agtgcaggac agg 23

 5 <210> 4
 <211> 23
 <212> ADN
 <213> Zea mays

 10 <400> 4
 actaatcgtg cttcacgcac agg 23

 15 <210> 5
 <211> 23
 <212> ADN
 <213> Zea mays

 20 <400> 5
 aggcacagca cgtagtagac agg 23

 25 <210> 6
 <211> 23
 <212> ADN
 <213> Zea mays

 30 <400> 6
 acatgtcgat ccgacgacga cgg 23

 35 <210> 7
 <211> 23
 <212> ADN
 <213> Zea mays

 40 <400> 7
 agttttatta taatccgaaa cgg 23

 45 <210> 8
 <211> 23
 <212> ADN
 <213> Zea mays

 50 <400> 8
 aatccgaaac ggagcacgca cgg 23

 55 <210> 9
 <211> 23
 <212> ADN
 <213> Zea mays

 <400> 9
 aaacggagca cgcacggcgg tgg 23

ES 2 785 329 T3

<210> 10
 <211> 22
 <212> ADN
 5 <213> Zea mays

 <400> 10
 ggagcacgca cggcgggtgga gg 22

 10
 <210> 11
 <211> 23
 <212> ADN
 <213> Zea mays

 15
 <400> 11
 atccaaagct acatccgtgc agg 23

 20
 <210> 12
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Zea mays

 25
 <400> 12
 gtgcagtgca gtgcagtgca gg 22

 30
 <210> 13
 <211> 23
 <212> ADN
 <213> Zea mays

 35
 <400> 13
 ggacaggacc tcctttgttt agg 23

 40
 <210> 14
 <211> 23
 <212> ADN
 <213> Zea mays

 45
 <400> 14
 gcgtgcgtag agcgctgct cgg 23

 50
 <210> 15
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Zea mays

 <400> 15
 gcgtcatcca tgtgtgatct gg 22

 55
 <210> 16

ES 2 785 329 T3

<211> 24
 <212> ADN
 <213> Zea mays

5 <400> 16
 gtccatctcc attcactggt tcgg 24

<210> 17
 10 <211> 23
 <212> ADN
 <213> Zea mays

<400> 17
 15 aatgcctgca gaagaggccg tgg 23

<210> 18
 <211> 24
 20 <212> ADN
 <213> Zea mays

<400> 18
 25 gcggccggca cgttgctaac cagg 24

<210> 19
 <211> 23
 <212> ADN
 30 <213> Zea mays

<400> 19
 agagaagaaa aattcgcca tgg 23

35 <210> 20
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Zea mays

40 <400> 20
 gcctcttct gcaggcattt gg 22

45 <210> 21
 <211> 23
 <212> ADN
 <213> Zea mays

50 <400> 21
 aaggaaccg aaccagtga tgg 23

<210> 22
 55 <211> 21
 <212> ADN

ES 2 785 329 T3

<213> Zea mays
 <400> 22
 5 atcggtccta aacaaaggag g 21
 <210> 23
 <211> 22
 <212> ADN
 10 <213> Zea mays
 <400> 23
 ggatgcagct ttggcaacga gg 22
 15
 <210> 24
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Zea mays
 20
 <400> 24
 gtcgcgagc gctcctgcac gg 22
 25
 <210> 25
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Zea mays
 30
 <400> 25
 gctcctgcac ggatgtagct ttgg 24
 35
 <210> 26
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Zea mays
 40
 <400> 26
 ggatgtagct ttggattgct gg 22
 45
 <210> 27
 <211> 23
 <212> ADN
 <213> Zea mays
 <400> 27
 50 aaataaaaaa atcggattaa agg 23
 <210> 28
 <211> 20
 <212> ADN
 55 <213> Zea mays

ES 2 785 329 T3

<400> 28
 agtgcagtgc agtgcaggac 20

5 <210> 29
 <211> 4170
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Streptococcus pyogenes, Zea mays

<400> 29
 atggacaaga agtacagcat cggcctggac atcgccacca acagcgtggg ctgggccgtg 60
 15 atcaccgacg agtacaaggt gccgagcaag aagttcaagg tgctgggcaa caccgacagg 120
 cacagcatca agaagaacct gatcggcgcc ctgctgttcg acagcggcga gaccgccgag 180
 20 gccaccaggc tgaagaggac cgccaggagg aggtacacca ggaggaagaa caggatctgc 240
 tacctgcagg agatcttcag caacgagatg gccaaggtgg acgacagctt cttccacagg 300
 ctggaggaga gcttctggt ggaggaggac aagaagcacg agaggcaccc gatcttcggc 360
 25 aacatcgtgg acgaggtggc ctaccacgag aagtaccga ccatctacca cctgaggaag 420
 aagctggtgg acagcaccga caaggccgac ctgaggctga tctacctggc cctggccac 480
 30 atgatcaagt tcaggggcca cttcctgacg gagggcgacc tgaacccgga caacagcgac 540
 gtggacaagc tgttcatcca gctggtgacg acctacaacc agctgttcga ggagaacccg 600
 atcaaccca gcggcgtgga cgccaaggcc atcctgagcg ccaggctgag caagagcagg 660
 35 aggtggaga acctgatcg cagctgccg ggcgagaaga agaacggcct gttcggcaac 720
 ctgatcgccc tgagcctggg cctgaccccg aactcaaga gcaacttca cctggccgag 780
 40 gacccaagc tgcagctgag caaggacacc tacgacgacg acctggaaa cctgctggcc 840
 cagatcggcg accagtacgc cgacctgtc ctggcccca agaactgag cgacgccatc 900
 ctgctgagcg acatctgag ggtgaacacc gagatcacca aggccccct gagcggcagc 960
 45 atgatcaaga ggtacgacga gcaccaccag gacctgacct tgctgaagc cctggtgagg 1020
 cagcagctgc cggagaagta caaggatc ttctcgacc agagcaagaa cggctacgcc 1080
 50 ggctacatcg acggcggcgc cagccaggag gatttctaca agttcatcaa gccgatcctg 1140
 gagaagatgg acggcaccga ggagctgctg gtgaagctga acagggagga cctgctgagg 1200
 aagcagagga ccttcgaaa cggcagcatc ccgaccaga tccacctggg cgagctgcac 1260
 55 gccatcctga ggaggcagga ggacttctac ccgttctga aggacaacag ggagaagatc 1320

ES 2 785 329 T3

gagaagatcc tgaccttccg catcccgtac tacgtgggcc cgctggccag gggcaacagc 1380
 aggttcgcct ggatgaccag gaagagcgag gagaccatca ccccgtggaa cttcgaggag 1440
 5 gtggtggaca agggcgccag cgcccagagc ttcatcgaga ggatgaccaa cttcgacaag 1500
 aacctgccga acgagaaggt gctgccgaag cacagcctgc tgtacgagta cttaccctg 1560
 10 tacaacgagc tgaccaaggt gaagtacgtg accgagggca ttaggaagcc ggccttctg 1620
 agcggcgagc agaagaagc catcgtggac ctgctgttca agaccaacag gaagtgacc 1680
 gtgaagcagc tgaaggagga ctactcaag aagatcgagt gcttcgacag cgtggagatc 1740
 15 agcggcgtgg aggacaggt caacccagc ctggcacct accacgacct gctgaagatc 1800
 atcaaggaca aggacttct ggacaacgag gagaacgagg acatcctgga ggacatcgtg 1860
 20 ctgacctga ccctgttca ggacagggag atgatcgagg agaggctgaa gacctacgc 1920
 cacctgttcg acgacaaggt gatgaagcag ctgaagagga ggaggtacac cggctggggc 1980
 aggctgagca ggaagctgat caacggcatc agggacaagc agagcggcaa gacctcctg 2040
 25 gacttctga agagcgacgg cttcgccaac aggaacttca tgacgtgat ccacgacgac 2100
 agcctgacct tcaaggagga catccagaag gccaggtga gcgccaggg cgacagcctg 2160
 30 cacgagcaca tcgccaacct ggccggcagc ccggccatca agaaggcat cctgcagacc 2220
 gtgaaggtgg tggacgagct ggtgaagtg atggcaggg acaagccgga gaacatcgtg 2280
 atcgagatgg ccagggagaa ccagaccacc cagaagggcc agaagaacag cagggagagg 2340
 35 atgaagagga tcgaggaggg catcaaggag ctggcagcc agatcctgaa ggagcaccg 2400
 gtggagaaca cccagctgca gaacgagaag ctgtacctgt actacctgca gaacggcagg 2460
 40 gacatgtacg tggaccagga gctggacatc aacaggctga gcgactacga cgtggaccac 2520
 atcgtgccg agagcttct gaaggacgac agcatcgaca acaagtgct gaccaggagc 2580
 gacaagaaca ggggcaagag cgacaacgtg ccgagcgagg aggtggtgaa gaagatgaaa 2640
 45 aactactgga ggcagctgct gaacccaag ctgatcacc agaggaagtt cgacaacctg 2700
 accaaggccg agagggcg cctgagcgag ctggacaagg ccggcttcat taaaaggcag 2760
 50 ctggtggaga ccaggcagat caccaagcac gtggcccaga tcttgacag caggatgaac 2820
 accaagtacg acgagaacga caagctgatc agggaggtga aggtgatcac cctgaagagc 2880
 aagctggtga gcgacttca gaaggactc cagttctaca aggtgaggga gatcaataat 2940
 55 taccaccag cccacgacgc ctacctgaac gccgtggtgg gcaccgcct gattaaag 3000

ES 2 785 329 T3

taccgaagc tggagagcga gttcgtgtac ggcgactaca aggtgtacga cgtgaggaag 3060
 atgatcgcca agagcgagca ggagatcggc aaggccaccg ccaagtactt cttctacagc 3120
 5 aacatcatga acttcttcaa gaccgagatc acctggcca acggcgagat caggaagagg 3180
 ccgctgatcg agaccaacgg cgagaccggc gagatcgtgt gggacaaggg cagggacttc 3240
 10 gccaccgtga ggaagtgct gtccatgccg caggtgaaca tcgtgaagaa gaccgaggtg 3300
 cagaccggcg gcttcagcaa ggagagcatc ctgccgaaga ggaacagcga caagctgatc 3360
 gccaggaaga aggactggga cccgaagaag tacggcggct tcgacagccc gaccgtggcc 3420
 15 tacagcgtgc tgggtgggc caaggtggag aagggaaga gcaagaagct gaagagcgtg 3480
 aaggagctgg tgggcatcac catcatggag aggagcagct tcgagaagaa cccagtggac 3540
 20 ttctggagg ccaagggcta caaggagtg aagaaggacc tgatcattaa actgccgaag 3600
 tacagcctgt tcgagctgga gaacggcagg aagaggatgc tggccagcgc cggcgagctg 3660
 cagaagggca acgagctggc cctgccgagc aagtacgtga acttctgta cctggccagc 3720
 25 cactacgaga agctgaaggg cagcccggag gacaacgagc agaagcagct gttcgtggag 3780
 cagcacaagc actacctgga cgagatcatc gagcagatca gcgagttcag caagagggtg 3840
 30 atcctggccg acgccaacct ggacaagtg ctgagcgctt acaacaagca cagggacaag 3900
 ccgatcaggg agcaggccga gaacatcatc cacctgttca cctgaccaa cctgggcgcc 3960
 cggccgcct tcaagtactt cgacaccacc atcgacagga agaggtagac cagcacaag 4020
 35 gagtgctgg acgccaccct gatccaccag agcatcaccg gcctgtacga gaccagatc 4080
 gacctgagcc agctgggcgg cgacagcagc ccgccgaaga agaagaggaa ggtgagctgg 4140
 40 aaggaccca gcggctggag caggatgtga 4170

<210> 30
 <211> 1389
 45 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Streptococcus pyogenes, Zea mays
 50 <400> 30

Met Asp Lys Lys Tyr Ser Ile Gly Leu Asp Ile Gly Thr Asn Ser Val
 1 5 10 15
 55

ES 2 785 329 T3

Gly Trp Ala Val Ile Thr Asp Glu Tyr Lys Val Pro Ser Lys Lys Phe
 20 25 30

5 Lys Val Leu Gly Asn Thr Asp Arg His Ser Ile Lys Lys Asn Leu Ile
 35 40 45

10 Gly Ala Leu Leu Phe Asp Ser Gly Glu Thr Ala Glu Ala Thr Arg Leu
 50 55 60

15 Lys Arg Thr Ala Arg Arg Arg Tyr Thr Arg Arg Lys Asn Arg Ile Cys
 65 70 75 80

Tyr Leu Gln Glu Ile Phe Ser Asn Glu Met Ala Lys Val Asp Asp Ser
 85 90 95

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

25 His Glu Arg His Pro Ile Phe Gly Asn Ile Val Asp Glu Val Ala Tyr
 115 120 125

30 His Glu Lys Tyr Pro Thr Ile Tyr His Leu Arg Lys Lys Leu Val Asp
 130 135 140

35 Ser Thr Asp Lys Ala Asp Leu Arg Leu Ile Tyr Leu Ala Leu Ala His
 145 150 155 160

Met Ile Lys Phe Arg Gly His Phe Leu Ile Glu Gly Asp Leu Asn Pro
 165 170 175

40 Asp Asn Ser Asp Val Asp Lys Leu Phe Ile Gln Leu Val Gln Thr Tyr
 180 185 190

45 Asn Gln Leu Phe Glu Glu Asn Pro Ile Asn Ala Ser Gly Val Asp Ala
 195 200 205

50 Lys Ala Ile Leu Ser Ala Arg Leu Ser Lys Ser Arg Arg Leu Glu Asn
 210 215 220

55 Leu Ile Ala Gln Leu Pro Gly Glu Lys Lys Asn Gly Leu Phe Gly Asn
 225 230 235 240

ES 2 785 329 T3

Leu Ile Ala Leu Ser Leu Gly Leu Thr Pro Asn Phe Lys Ser Asn Phe
245 250 255

5 Asp Leu Ala Glu Asp Ala Lys Leu Gln Leu Ser Lys Asp Thr Tyr Asp
260 265 270

10 Asp Asp Leu Asp Asn Leu Leu Ala Gln Ile Gly Asp Gln Tyr Ala Asp
275 280 285

15 Leu Phe Leu Ala Ala Lys Asn Leu Ser Asp Ala Ile Leu Leu Ser Asp
290 295 300

Ile Leu Arg Val Asn Thr Glu Ile Thr Lys Ala Pro Leu Ser Ala Ser
305 310 315 320

20 Met Ile Lys Arg Tyr Asp Glu His His Gln Asp Leu Thr Leu Leu Lys
325 330 335

25 Ala Leu Val Arg Gln Gln Leu Pro Glu Lys Tyr Lys Glu Ile Phe Phe
340 345 350

30 Asp Gln Ser Lys Asn Gly Tyr Ala Gly Tyr Ile Asp Gly Gly Ala Ser
355 360 365

35 Gln Glu Glu Phe Tyr Lys Phe Ile Lys Pro Ile Leu Glu Lys Met Asp
370 375 380

Gly Thr Glu Glu Leu Leu Val Lys Leu Asn Arg Glu Asp Leu Leu Arg
385 390 395 400

40 Lys Gln Arg Thr Phe Asp Asn Gly Ser Ile Pro His Gln Ile His Leu
405 410 415

45 Gly Glu Leu His Ala Ile Leu Arg Arg Gln Glu Asp Phe Tyr Pro Phe
420 425 430

50 Leu Lys Asp Asn Arg Glu Lys Ile Glu Lys Ile Leu Thr Phe Arg Ile
435 440 445

55 Pro Tyr Tyr Val Gly Pro Leu Ala Arg Gly Asn Ser Arg Phe Ala Trp
450 455 460

ES 2 785 329 T3

Met Thr Arg Lys Ser Glu Glu Thr Ile Thr Pro Trp Asn Phe Glu Glu
 465 470 475 480

5 Val Val Asp Lys Gly Ala Ser Ala Gln Ser Phe Ile Glu Arg Met Thr
 485 490 495

10 Asn Phe Asp Lys Asn Leu Pro Asn Glu Lys Val Leu Pro Lys His Ser
 500 505 510

15 Leu Leu Tyr Glu Tyr Phe Thr Val Tyr Asn Glu Leu Thr Lys Val Lys
 515 520 525

20 Tyr Val Thr Glu Gly Met Arg Lys Pro Ala Phe Leu Ser Gly Glu Gln
 530 535 540

Lys Lys Ala Ile Val Asp Leu Leu Phe Lys Thr Asn Arg Lys Val Thr
 545 550 555 560

25 Val Lys Gln Leu Lys Glu Asp Tyr Phe Lys Lys Ile Glu Cys Phe Asp
 565 570 575

30 Ser Val Glu Ile Ser Gly Val Glu Asp Arg Phe Asn Ala Ser Leu Gly
 580 585 590

35 Thr Tyr His Asp Leu Leu Lys Ile Ile Lys Asp Lys Asp Phe Leu Asp
 595 600 605

40 Asn Glu Glu Asn Glu Asp Ile Leu Glu Asp Ile Val Leu Thr Leu Thr
 610 615 620

Leu Phe Glu Asp Arg Glu Met Ile Glu Glu Arg Leu Lys Thr Tyr Ala
 625 630 635 640

45 His Leu Phe Asp Asp Lys Val Met Lys Gln Leu Lys Arg Arg Arg Tyr
 645 650 655

50 Thr Gly Trp Gly Arg Leu Ser Arg Lys Leu Ile Asn Gly Ile Arg Asp
 660 665 670

55 Lys Gln Ser Gly Lys Thr Ile Leu Asp Phe Leu Lys Ser Asp Gly Phe
 675 680 685

ES 2 785 329 T3

Ala Asn Arg Asn Phe Met Gln Leu Ile His Asp Asp Ser Leu Thr Phe
690 695 700

5 Lys Glu Asp Ile Gln Lys Ala Gln Val Ser Gly Gln Gly Asp Ser Leu
705 710 715 720

10 His Glu His Ile Ala Asn Leu Ala Gly Ser Pro Ala Ile Lys Lys Gly
725 730 735

15 Ile Leu Gln Thr Val Lys Val Val Asp Glu Leu Val Lys Val Met Gly
740 745 750

20 Arg His Lys Pro Glu Asn Ile Val Ile Glu Met Ala Arg Glu Asn Gln
755 760 765

25 Thr Thr Gln Lys Gly Gln Lys Asn Ser Arg Glu Arg Met Lys Arg Ile
770 775 780

30 Val Glu Asn Thr Gln Leu Gln Asn Glu Lys Leu Tyr Leu Tyr Tyr Leu
805 810 815

35 Gln Asn Gly Arg Asp Met Tyr Val Asp Gln Glu Leu Asp Ile Asn Arg
820 825 830

40 Leu Ser Asp Tyr Asp Val Asp His Ile Val Pro Gln Ser Phe Leu Lys
835 840 845

45 Asp Asp Ser Ile Asp Asn Lys Val Leu Thr Arg Ser Asp Lys Asn Arg
850 855 860

50 Gly Lys Ser Asp Asn Val Pro Ser Glu Glu Val Val Lys Lys Met Lys
865 870 875 880

55 Asn Tyr Trp Arg Gln Leu Leu Asn Ala Lys Leu Ile Thr Gln Arg Lys
885 890 895

Phe Asp Asn Leu Thr Lys Ala Glu Arg Gly Gly Leu Ser Glu Leu Asp
900 905 910

ES 2 785 329 T3

Lys Ala Gly Phe Ile Lys Arg Gln Leu Val Glu Thr Arg Gln Ile Thr
 915 920 925

5 Lys His Val Ala Gln Ile Leu Asp Ser Arg Met Asn Thr Lys Tyr Asp
 930 935 940

10 Glu Asn Asp Lys Leu Ile Arg Glu Val Lys Val Ile Thr Leu Lys Ser
 945 950 955 960

15 Lys Leu Val Ser Asp Phe Arg Lys Asp Phe Gln Phe Tyr Lys Val Arg
 965 970 975

20 Glu Ile Asn Asn Tyr His His Ala His Asp Ala Tyr Leu Asn Ala Val
 980 985 990

25 Val Gly Thr Ala Leu Ile Lys Lys Tyr Pro Lys Leu Glu Ser Glu Phe
 995 1000 1005

30 Lys Ser Glu Gln Glu Ile Gly Lys Ala Thr Ala Lys Tyr Phe Phe
 1025 1030 1035

35 Tyr Ser Asn Ile Met Asn Phe Phe Lys Thr Glu Ile Thr Leu Ala
 1040 1045 1050

40 Asn Gly Glu Ile Arg Lys Arg Pro Leu Ile Glu Thr Asn Gly Glu
 1055 1060 1065

45 Thr Gly Glu Ile Val Trp Asp Lys Gly Arg Asp Phe Ala Thr Val
 1070 1075 1080

50 Arg Lys Val Leu Ser Met Pro Gln Val Asn Ile Val Lys Lys Thr
 1085 1090 1095

55 Glu Val Gln Thr Gly Gly Phe Ser Lys Glu Ser Ile Leu Pro Lys
 1100 1105 1110

Arg Asn Ser Asp Lys Leu Ile Ala Arg Lys Lys Asp Trp Asp Pro
 1115 1120 1125

ES 2 785 329 T3

Lys Lys Tyr Gly Gly Phe Asp Ser Pro Thr Val Ala Tyr Ser Val
 1130 1135 1140

 5 Leu Val Val Ala Lys Val Glu Lys Gly Lys Ser Lys Lys Leu Lys
 1145 1150 1155

 Ser Val Lys Glu Leu Val Gly Ile Thr Ile Met Glu Arg Ser Ser
 10 1160 1165 1170

 Phe Glu Lys Asn Pro Val Asp Phe Leu Glu Ala Lys Gly Tyr Lys
 15 1175 1180 1185

 Glu Val Lys Lys Asp Leu Ile Ile Lys Leu Pro Lys Tyr Ser Leu
 20 1190 1195 1200

 Phe Glu Leu Glu Asn Gly Arg Lys Arg Met Leu Ala Ser Ala Gly
 25 1205 1210 1215

 Glu Leu Gln Lys Gly Asn Glu Leu Ala Leu Pro Ser Lys Tyr Val
 30 1220 1225 1230

 Asn Phe Leu Tyr Leu Ala Ser His Tyr Glu Lys Leu Lys Gly Ser
 35 1235 1240 1245

 Pro Glu Asp Asn Glu Gln Lys Gln Leu Phe Val Glu Gln His Lys
 40 1250 1255 1260

 His Tyr Leu Asp Glu Ile Ile Glu Gln Ile Ser Glu Phe Ser Lys
 45 1265 1270 1275

 Arg Val Ile Leu Ala Asp Ala Asn Leu Asp Lys Val Leu Ser Ala
 50 1280 1285 1290

 Tyr Asn Lys His Arg Asp Lys Pro Ile Arg Glu Gln Ala Glu Asn
 55 1295 1300 1305

 Ile Ile His Leu Phe Thr Leu Thr Asn Leu Gly Ala Pro Ala Ala
 1310 1315 1320

 Phe Lys Tyr Phe Asp Thr Thr Ile Asp Arg Lys Arg Tyr Thr Ser
 1325 1330 1335

ES 2 785 329 T3

	Thr Lys	Glu Val	Leu Asp	Ala Thr	Leu Ile	His Gln	Ser Ile	Thr	
	1340		1345		1350				
5	Gly Leu	Tyr Glu	Thr Arg	Ile Asp	Leu Ser	Gln Leu	Gly Gly	Asp	
	1355		1360		1365				
10	Ser Ser	Pro Pro	Lys Lys	Lys Arg	Lys Val	Ser Trp	Lys Asp	Ala	
	1370		1375		1380				
15	Ser Gly	Trp Ser	Arg Met						
	1385								
	<210>	31							
	<211>	17							
	<212>	ADN							
20	<213>	Zea mays							
	<400>	31							
	gcagtg	gcagtg	gcaggac						17
25	<210>	32							
	<211>	18							
	<212>	ADN							
	<213>	Zea mays							
30	<400>	32							
	tgcagtg	cgag	tgcaggac						18
35	<210>	33							
	<211>	19							
	<212>	ADN							
	<213>	Zea mays							
40	<400>	33							
	gtgcagtg	ca	gtgcaggac						19
45	<210>	34							
	<211>	21							
	<212>	ADN							
	<213>	Zea mays							
	<400>	34							
50	cagtg	cagtg	cagtcagga	c					21
55	<210>	35							
	<211>	85							
	<212>	ADN							
	<213>	Secuencia artificial							

ES 2 785 329 T3

<220>
 <223> Streptococcus pyogenes, Oryzae sativa

5 <400> 35
 gttttagagc tagaaatagc aagttaaaat aaggctagtc cgttatcaac ttgaaaaagt 60
 ggcaccgagt cggcgctttt ttttt 85

10
 <210> 36
 <211> 105
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

15
 <220>
 <223> Streptococcus pyogenes, Zea mays, Oryza sativa

20 <400> 36
 agtgcagtc agtgcaggac gttttagagc tagaaatagc aagttaaaat aaggctagtc 60
 cgttatcaac ttgaaaaagt ggcaccgagt cggcgctttt ttttt 105

25 <210> 37
 <211> 480
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Streptococcus pyogenes, Zea mays, Oryza sativa

35 <400> 37
 gggatcttta aacatacгаа cagatcactt aaagtcttc tgaagcaact taaagttatc 60
 aggcatgcat ggatcttгga ggaatcagat gtgcagtcag ggacatagc acaggacagg 120
 cgtcttctac tggctctacc agcaaatgct ggaagccggg aactgggt acgttgгaa 180

40 ccacgtgatg tggagtaaga taaactgtag gagaaaгca ttcgtagtg ggccatgaaг 240
 ccttcagga catgtattgc agtatggcc ggcccattac gcaattggac gacaacaaг 300
 actagtatta gtaccacctc ggctatccac atagatcaaa gctgгtttaa aagagttgtg 360

45 cagatgatcc gtggcagtc agtgcagtc aggacgtttt agagctagaa atagcaagtt 420
 aaaataaggc tagtccгtta tcaactgaa aaagtggcac cgagtcggtg ctttttttt 480

50
 <210> 38
 <211> 1995
 <212> ADN
 <213> Zea mays

55 <400> 38

ES 2 785 329 T3

aacgagaata atgtcgtcat cttcgacctc gacggcggta ctttgacgt cgcgctccgg 60
 cggctaagga ccgactgcc gacgagggca tgagtggcgc cgagatggaa gagaagagga 120
 5 gcacaaatgg cggtcgtcgg caaagacaaa gagaactcga gcgtgagtgg aggaaggggc 180
 aaatgtgtaa ctccagcttg gatatgactc cactgaccag attacgagcg acatcaacta 240
 gattgtgtgt ctcagtggct cagtgccatt tttgaggtt tgggtgcaa tattttttcg 300
 10 tagtgaaggg caccgcgcc atcgggtttt gggagccaaa cgccaaacc gctcgcctca 360
 tattccgcaa cgtacagcgg tttcatgggc tggttgaagg cccgggccgc aaaccaaccg 420
 15 agtcggggccg acgccctggg agatccgcac ggctggtctg gcccaagcaa cctggtgggt 480
 tggtgccagg ttacagcctg ggctgatctg tggacgggtg accatgcaag gttgtactgg 540
 gcttgcaagg ttgtactggg cctactggaa cagtcatagc ccgtgccgtc gtggtgaccg 600
 20 tcgtacgcgg ccgatctggc agactgggca ggtcgcctgt ccgtgctgtt tgggatgca 660
 atgcaactat gcaagagtga tcacggaaaa cggacggagc ctgtctgtcc tgttgcgacg 720
 25 tagtacaagc gcctgaacag tgacgctacg ctatgccacg agcctacgag tggtaggtag 780
 tagtacactg gtcagaatcc agcagtgcac ccacgccgct gctgactttg ctgatgagag 840
 ggaggggtcg agcgagtctg tgtgaaaccg tgaacccgc cggggccttc agtacgtacg 900
 30 ataccacgag cagtagaaaa aacaacgcca agatggcaga gtcaacaacc gatcacagta 960
 cgtatcgcat tcacatcaag atttaagaa cgacccccgg ctggccaatg gcaggccact 1020
 35 tggttgcccg tgcccagacag agggacacgg cgccatgccc tccgcgccgc acggacgagg 1080
 tgtcgtgaga accggcaaaa aaaaaatca tcgcaagtgc gctgaagtga agtgccttcc 1140
 cccgcgttc ctgcccctg gccggtacc atttggcgc gattctttc ttgcccccg 1200
 40 gccggccgct cgctgcctt tggattctc caaagccgct gatgggatgg tggcgaacac 1260
 acccaccacc cgtctttgcc caaagcgacc cggcacaggc cgcgccgct tcaactacca 1320
 45 ctacgcttg tactaataaa atggtttcta gcgtttgtg ctctctttt tctttttcg 1380
 ccggttctc ggagccgtg ggacactgga cagcgtccag tccagcaggc atagggtgtg 1440
 ctcggcggcg gtcgtccgac gacgatgat ctccatgaga ttccgcgaca ggccaggagc 1500
 50 gaaagctggg cctttctcac caattcgcgt cggagccgga acaagattcc ctccccaat 1560
 catttcgac gccctttct tcgccaccc tcgtggcgt gtttcgccc cggcccttat 1620
 55 ctcttcccg tgacgcgttc tttgtagct tagcggccgg cacgttgcta accagctag 1680

ES 2 785 329 T3

cttcgttctg ttttaatctg cctatcgaga agagaagaaa aattcgtcca tggggccacg 1740
gaccttctg caggcatttg gcatgtgaag gaacccgaac cagtgaatgg agatggacgg 1800
5 atgctgctca gatacgcagt caaacctgcc ggcgaaatta cggggggagc tggctggctg 1860
gctggctgga cgccagatca cacatggatg acgcggcacg gcagctagcc gagcaggcgc 1920
tctgcgcacg caagtgtcgt gccgatctcg caccagcagc atcgcgtcct aaacaaagga 1980
10 ggtcctgtcc tgcac 1995

<210> 39
15 <211> 942
<212> ADN
<213> Zea mays

<400> 39
20 gcactgcact gcactgcacg gatgcagctt tggcaacgag gtgtgtcgcg cagcgtcct 60
gcacggatgt agctttggat tgctggataa tgtctcgcgc aagcgtcgta tttatttatt 120
tatttattac agcctccacc gccgtgcgtg ctccgtttcg gattataata aaactaatat 180
25 taaataaaaa aatcggatta aaggatgttt ccgaaataaa gatctccacc acaggagcga 240
aagaaaaaaaa aagagaaacg ggctatggag aaatggtgtt gcgagtatac ggcggtccg 300
30 tcgtcgtcgg atcgacatgt acaaagtagg tgcacaaaag gcaaagcaaa atcacctcat 360
caaagaccaa aagcggagca aagaatcgat actaaatcca catgtttttt ttgttctgt 420
ctactacgtg ctgtgctgtg gcgtgaagca cgattagtac gtgtactcac tcttgcata 480
35 ttcttttag tgtcttgcata ctagtacat ggagtagcaa ccatggctgg cgataccgc 540
gataaataaa aaaaagagag agggagtaat atattagata ctacccatt ataaattata 600
40 aaatatttta gaggttgaat aggtagtctt tgtatattta tttatagacc ttcaagttg 660
tccgcctctc gagagccgaa cttgttggcc catgcttccc cggctcaggt catgccacct 720
ccttaccaa gggcacacgg aagatctggt ggagcttgtc ataccccg gccttcaaa 780
45 catgtgagga tgcgtcgtcg ctggcactag tagcactcat tgtaggcact acattgacag 840
tttctccag atatgtagtg aggaaacact tgaacaacac gtttgggatt acatatgatg 900
50 tttgtttgt tcatcaatga taattccttc ttcttgctta at 942

<210> 40
<211> 18
55 <212> ADN
<213> Zea mays

ES 2 785 329 T3

<400> 40
 ttgctactcc atgtgact 18

 5
 <210> 41
 <211> 16
 <212> ADN
 <213> Zea mays
 10
 <400> 41
 ttgtcatatt cttttt 16

 15
 <210> 42
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> Zea mays
 20
 <400> 42
 tacacgtact aatcgtgct 19

 25
 <210> 43
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Zea mays
 30
 <400> 43
 tcctgtctac tacgtgct 18

 35
 <210> 44
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> Zea mays
 40
 <400> 44
 ttgttcctgt ctactacgt 19

 45
 <210> 45
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Zea mays
 <400> 45
 ttggctttg atgaggtgat 20

 50
 <210> 46
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Zea mays
 55
 <400> 46

ES 2 785 329 T3

	tcgacatgta caaagtaggt	20
5	<210> 47 <211> 19 <212> ADN <213> Zea mays	
10	<400> 47 ttcgaaaca tccttaat	19
15	<210> 48 <211> 19 <212> ADN <213> Zea mays	
20	<400> 48 ttataataaa actaatatt	19
25	<210> 49 <211> 20 <212> ADN <213> Zea mays	
30	<400> 49 taataataa ataaataat	20
35	<210> 50 <211> 19 <212> ADN <213> Zea mays	
40	<400> 50 ttggattgct ggataatgt	19
45	<210> 51 <211> 18 <212> ADN <213> Zea mays	
50	<400> 51 tcgttgccaa agctgcat	18
55	<210> 52 <211> 19 <212> ADN <213> Zea mays	
	<400> 52 tcctgtcctg cactgcact	19

ES 2 785 329 T3

<210> 53
 <211> 19
 <212> ADN
 5 <213> Zea mays

 <400> 53
 tgcatccgtg cagtgcagt 19

 10
 <210> 54
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Zea mays

 15
 <400> 54
 tcctaaacaa aggaggt 17

 20
 <210> 55
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Zea mays

 25
 <400> 55
 taggacgcga tgctgct 17

 30
 <210> 56
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Zea mays

 35
 <400> 56
 tgcgcacgca agtgcgt 18

 40
 <210> 57
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> Zea mays

 45
 <400> 57
 tccatctcca ttcactggt 19

 50
 <210> 58
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> Zea mays

 <400> 58
 ttctgcaggc attggcat 19

 55
 <210> 59

ES 2 785 329 T3

<211> 18
 <212> ADN
 <213> Zea mays
 5 <400> 59
 ttttctctc ttctgat 18

 <210> 60
 10 <211> 19
 <212> ADN
 <213> Zea mays

 <400> 60
 15 taaccaggct agcttcggt 19

 <210> 61
 <211> 18
 20 <212> ADN
 <213> Zea mays

 <400> 61
 25 taagctacaa aagaacgc 18

 <210> 62
 <211> 18
 <212> ADN
 30 <213> Zea mays

 <400> 62
 tgtttcgagg ccggccct 18
 35
 <210> 63
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Zea mays
 40
 <400> 63
 tttccgtcct ggcctgct 18

 <210> 64
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> Zea mays
 45
 <400> 64
 50 tcgtccgacg acgatcgat 19

 <210> 65
 55 <211> 19
 <212> ADN

ES 2 785 329 T3

<213> Zea mays
 <400> 65
 tcctaaacaa aggaggtcc 19
 5

<210> 66
 <211> 51
 <212> ADN
 10 <213> Zea mays

<400> 66
 tacacgtact aatcgtgctt cacgcacagg cacagcacgt agtagacagg a 51
 15

<210> 67
 <211> 51
 <212> ADN
 <213> Zea mays
 20

<400> 67
 tgcacccgtg cagtgcagtg cagtgcagga caggacctcc tttgttagg a 51
 25

<210> 68
 <211> 1343
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 30

<220>
 <223> Xanthomonas spp, Zea mays
 <400> 68
 35 Met Ala Ser Ser Pro Pro Lys Lys Lys Arg Lys Val Ser Trp Lys Asp
 1 5 10 15

Ala Ser Gly Trp Ser Arg Met His Ala Asp Pro Ile Arg Pro Arg Arg
 40 20 25 30

Pro Ser Pro Ala Arg Glu Leu Leu Pro Gly Pro Gln Pro Asp Arg Val
 45 35 40 45

Gln Pro Thr Ala Asp Arg Gly Val Ser Ala Pro Ala Gly Ser Pro Leu
 50 55 60

50 Asp Gly Leu Pro Ala Arg Arg Thr Val Ser Arg Thr Arg Leu Pro Ser
 65 70 75 80

55 Pro Pro Ala Pro Ser Pro Ala Phe Ser Ala Gly Ser Phe Ser Asp Leu
 85 90 95

ES 2 785 329 T3

5 Leu Arg Pro Phe Asp Pro Ser Leu Leu Asp Thr Ser Leu Leu Asp Ser
100 105 110

10 Met Pro Ala Val Gly Thr Pro His Thr Ala Ala Ala Pro Ala Glu Trp
115 120 125

15 Asp Glu Met Gln Ser Ala Leu Arg Ala Ala Asp Asp Pro Pro Pro Thr
130 135 140

20 Pro Arg Arg Arg Ala Ala Gln Pro Ser Asp Ala Ser Pro Ala Ala Gln
165 170 175

25 Val Asp Leu Arg Thr Leu Gly Tyr Ser Gln Gln Gln Glu Lys Ile
180 185 190

30 Lys Pro Lys Val Arg Ser Thr Val Ala Gln His His Glu Ala Leu Val
195 200 205

35 Gly His Gly Phe Thr His Ala His Ile Val Ala Leu Ser Gln His Pro
210 215 220

40 Ala Ala Leu Gly Thr Val Ala Val Thr Tyr Gln His Ile Ile Thr Ala
225 230 235 240

45 Leu Pro Glu Ala Thr His Glu Asp Ile Val Gly Val Gly Lys Gln Trp
245 250 255

50 Ser Gly Ala Arg Ala Leu Glu Ala Leu Leu Thr Asp Ala Gly Glu Leu
260 265 270

55 Arg Gly Pro Pro Leu Gln Leu Asp Thr Gly Gln Leu Val Lys Ile Ala
275 280 285

60 Lys Arg Gly Gly Val Thr Ala Met Glu Ala Val His Ala Ser Arg Asn
290 295 300

65 Ala Leu Thr Gly Ala Pro Leu Asn Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala
305 310 315 320

ES 2 785 329 T3

Ile Ala Ser Asn Ile Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg
325 330 335
5

Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val
340 345 350
10

Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val
355 360 365
15

Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Asp His Gly Leu Thr Pro Glu
370 375 380
20

Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Ile Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu
385 390 395 400
25

Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Asp His Gly Leu Thr
405 410 415
30

Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala
420 425 430
35

Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly
435 440 445
40

Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala
465 470 475 480
45

His Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly
485 490 495
50

Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys
500 505 510
55

Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn
515 520 525
55

Ile Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val
530 535 540

ES 2 785 329 T3

5 Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala
545 550 555 560

10 Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu
565 570 575

15 Pro Val Leu Cys Gln Asp His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala
580 585 590

20 Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg
595 600 605

25 Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val
610 615 620

30 Val Ala Ile Ala Ser Asn Ile Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val
625 630 635 640

35 Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Asp
645 650 655

40 Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Ile Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu
660 665 670

45 Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Asp His Gly Leu Thr
675 680 685

50 Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala
690 695 700

55 Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Asp His Gly
705 710 715 720

60 Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys
725 730 735

65 Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala
740 745 750

70 His Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Asn Gly
755 760 765

ES 2 785 329 T3

5 Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys
770 775 780

10 Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn
785 790 795 800

15 Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val
805 810 815

20 Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala
820 825 830

25 Ser Asn Asn Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu
835 840 845

30 Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala
850 855 860

35 Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg
865 870 875 880

40 Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Asp His Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val
885 890 895

45 Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Ser Ile Val
900 905 910

50 Ala Gln Leu Ser Arg Pro Asp Pro Ala Leu Ala Ala Leu Thr Asn Asp
915 920 925

55 His Leu Val Ala Leu Ala Cys Leu Gly Gly Arg Pro Ala Met Asp Ala
930 935 940

60 Val Lys Lys Gly Leu Pro His Ala Pro Glu Leu Ile Arg Arg Val Asn
945 950 955 960

65 Arg Arg Ile Gly Glu Arg Thr Ser His Arg Val Ala Asp Tyr Ala Gln
965 970 975

70 Val Val Arg Val Leu Glu Phe Phe Gln Cys His Ser His Pro Ala Tyr
980 985 990

ES 2 785 329 T3

5 Ala Phe Asp Glu Ala Met Thr Gln Phe Gly Met Ser Arg Asn Gly Leu
 995 1000 1005

10 Val Gln Leu Phe Arg Arg Val Gly Val Thr Glu Leu Glu Ala Arg
 1010 1015 1020

15 Gly Gly Thr Leu Pro Pro Ala Ser Gln Arg Trp Asp Arg Ile Leu
 1025 1030 1035

20 Gln Ala Ser Gly Met Lys Arg Ala Lys Pro Ser Pro Thr Ser Ala
 1040 1045 1050

25 Gln Thr Pro Asp Gln Ala Ser Leu His Ala Phe Ala Asp Ser Leu
 1055 1060 1065

30 Glu Arg Asp Leu Asp Ala Pro Ser Pro Met His Glu Gly Asp Gln
 1070 1075 1080

35 Thr Arg Ala Ser Ser Arg Lys Arg Ser Arg Ser Asp Arg Ala Val
 1085 1090 1095

40 Thr Gly Pro Ser Ala Gln Gln Ala Val Glu Val Arg Val Pro Glu
 1100 1105 1110

45 Gln Arg Asp Ala Leu His Leu Pro Leu Ser Trp Arg Val Lys Arg
 1115 1120 1125

50 Pro Arg Thr Arg Ile Trp Gly Gly Leu Pro Asp Pro Gly Thr Pro
 1130 1135 1140

55 Thr Ala Ala Asp Gln Leu Val Lys Ser Glu Leu Glu Glu Lys Lys
 1145 1150 1155

60 Ser Glu Leu Arg His Lys Leu Lys Tyr Val Pro His Glu Tyr Ile
 1160 1165 1170

65 Glu Leu Ile Glu Ile Ala Arg Asn Ser Thr Gln Asp Arg Ile Leu
 1175 1180 1185

70 Glu Met Lys Val Met Glu Phe Phe Met Lys Val Tyr Gly Tyr Arg
 1190 1195 1200

ES 2 785 329 T3

Gly Lys His Leu Gly Gly Ser Arg Lys Pro Asp Gly Ala Ile Tyr
 1205 1210 1215
 5

Thr Val Gly Ser Pro Ile Asp Tyr Gly Val Ile Val Asp Thr Lys
 1220 1225 1230
 10

Ala Tyr Ser Gly Gly Tyr Asn Leu Pro Ile Gly Gln Ala Asp Glu
 1235 1240 1245
 15

Met Gln Arg Tyr Val Glu Glu Asn Gln Thr Arg Asn Lys His Ile
 1250 1255 1260
 20

Asn Pro Asn Glu Trp Trp Lys Val Tyr Pro Ser Ser Val Thr Glu
 1265 1270 1275
 25

Phe Lys Phe Leu Phe Val Ser Gly His Phe Lys Gly Asn Tyr Lys
 1280 1285 1290
 30

Ala Gln Leu Thr Arg Leu Asn His Ile Thr Asn Cys Asn Gly Ala
 1295 1300 1305
 35

Val Leu Ser Val Glu Glu Leu Leu Ile Gly Gly Glu Met Ile Lys
 1310 1315 1320
 40

Ala Gly Thr Leu Thr Leu Glu Glu Val Arg Arg Lys Phe Asn Asn
 1325 1330 1335
 45

Gly Glu Ile Asn Phe
 1340

<210> 69
 <211> 1211
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Xanthomonas spp, Zea mays
 50

<400> 69

Met Ala Ser Ser Pro Pro Lys Lys Lys Arg Lys Val Ser Trp Lys Asp
 1 5 10 15
 55

ES 2 785 329 T3

Ala Ser Gly Trp Ser Arg Met His Ala Asp Pro Trp Pro Arg Arg Arg
20 25 30

5 Ala Ala Gln Pro Ser Asp Ala Ser Pro Ala Ala Gln Val Asp Leu Arg
35 40 45

10 Thr Leu Gly Tyr Ser Gln Gln Gln Gln Glu Lys Ile Lys Pro Lys Val
50 55 60

15 Arg Ser Thr Val Ala Gln His His Glu Ala Leu Val Gly His Gly Phe
65 70 75 80

20 Thr His Ala His Ile Val Ala Leu Ser Gln His Pro Ala Ala Leu Gly
85 90 95

25 Thr Val Ala Val Thr Tyr Gln His Ile Ile Thr Ala Leu Pro Glu Ala
100 105 110

30 Ala Leu Glu Ala Leu Leu Thr Asp Ala Gly Glu Leu Arg Gly Pro Pro
130 135 140

35 Leu Gln Leu Asp Thr Gly Gln Leu Val Lys Ile Ala Lys Arg Gly Gly
145 150 155 160

40 Val Thr Ala Met Glu Ala Val His Ala Ser Arg Asn Ala Leu Thr Gly
165 170 175

45 Ala Pro Leu Asn Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn
180 185 190

50 Ile Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val
195 200 205

55 Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala
210 215 220

Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu
225 230 235 240

ES 2 785 329 T3

Pro Val Leu Cys Gln Asp His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala
245 250 255

5 Ile Ala Ser Asn Ile Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg
260 265 270

10 Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Asp His Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val
275 280 285

15 Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val
290 295 300

20 Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Asp
305 310 315 320

25 Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr
340 345 350

30 Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala
355 360 365

35 Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly
370 375 380

40 Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Ile Gly Gly Lys
385 390 395 400

45 Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala
405 410 415

50 His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly
420 425 430

55 Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys
435 440 445

Gln Asp His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn
450 455 460

ES 2 785 329 T3

Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val
465 470 475 480

5 Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala
 485 490 495

10 Ser Asn Ile Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu
 500 505 510

15 Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala
 515 520 525

20 Ile Ala Ser Asn Ile Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg
 530 535 540

25 Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Asp His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val
 545 550 555 560

30 Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val
 565 570 575

35 Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Asp His Gly Leu Thr Pro Asp
 580 585 590

40 Gln Val Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu
 595 600 605

45 Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr
 610 615 620

50 Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Asn Gly Gly Lys Gln Ala
 625 630 635 640

55 Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly
 645 650 655

60 Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Lys
 660 665 670

65 Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala
 675 680 685

ES 2 785 329 T3

His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Asn Gly
690 695 700

5 Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys
705 710 715 720

10 Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser His
725 730 735

15 Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val
740 745 750

20 Leu Cys Gln Asp His Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala
755 760 765

25 Ser Asn Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Ser Ile Val Ala Gln Leu Ser
770 775 780

30 Arg Pro Asp Pro Ala Leu Ala Ala Leu Thr Asn Asp His Leu Val Ala
785 790 795 800

35 Leu Ala Cys Leu Gly Gly Arg Pro Ala Met Asp Ala Val Lys Lys Gly
805 810 815

40 Leu Pro His Ala Pro Glu Leu Ile Arg Arg Val Asn Arg Arg Ile Gly
820 825 830

45 Glu Arg Thr Ser His Arg Val Ala Asp Tyr Ala Gln Val Val Arg Val
835 840 845

50 Leu Glu Phe Phe Gln Cys His Ser His Pro Ala Tyr Ala Phe Asp Glu
850 855 860

55 Ala Met Thr Gln Phe Gly Met Ser Arg Asn Gly Leu Val Gln Leu Phe
865 870 875 880

Arg Arg Val Gly Val Thr Glu Leu Glu Ala Arg Gly Gly Thr Leu Pro
885 890 895

Pro Ala Ser Gln Arg Trp Asp Arg Ile Leu Gln Ala Ser Gly Met Lys
900 905 910

ES 2 785 329 T3

Arg Ala Lys Pro Ser Pro Thr Ser Ala Gln Thr Pro Asp Gln Ala Ser
 915 920 925

5 Leu His Ala Phe Ala Asp Ser Leu Glu Arg Asp Leu Asp Ala Pro Ser
 930 935 940

10 Pro Met His Glu Gly Asp Gln Thr Arg Ala Ser Ser Arg Lys Arg Ser
 945 950 955 960

15 Arg Ser Asp Arg Ala Val Thr Gly Pro Ser Ala Gln Gln Ala Val Glu
 965 970 975

20 Val Arg Val Pro Glu Gln Arg Asp Ala Leu His Leu Pro Leu Ser Trp
 980 985 990

25 Arg Val Lys Arg Pro Arg Thr Arg Ile Trp Gly Gly Leu Pro Asp Pro
 995 1000 1005

30 Gly Thr Pro Thr Ala Ala Asp Gln Leu Val Lys Ser Glu Leu Glu
 1010 1015 1020

35 Glu Lys Lys Ser Glu Leu Arg His Lys Leu Lys Tyr Val Pro His
 1025 1030 1035

40 Glu Tyr Ile Glu Leu Ile Glu Ile Ala Arg Asn Ser Thr Gln Asp
 1040 1045 1050

45 Arg Ile Leu Glu Met Lys Val Met Glu Phe Phe Met Lys Val Tyr
 1055 1060 1065

50 Gly Tyr Arg Gly Lys His Leu Gly Gly Ser Arg Lys Pro Asp Gly
 1070 1075 1080

55 Ala Ile Tyr Thr Val Gly Ser Pro Ile Asp Tyr Gly Val Ile Val
 1085 1090 1095

Asp Thr Lys Ala Tyr Ser Gly Gly Tyr Asn Leu Pro Ile Gly Gln
 1100 1105 1110

Ala Asp Glu Met Gln Arg Tyr Val Glu Glu Asn Gln Thr Arg Asn
 1115 1120 1125

ES 2 785 329 T3

Lys His Ile Asn Pro Asn Glu Trp Trp Lys Val Tyr Pro Ser Ser
 1130 1135 1140

5 Val Thr Glu Phe Lys Phe Leu Phe Val Ser Gly His Phe Lys Gly
 1145 1150 1155

10 Asn Tyr Lys Ala Gln Leu Thr Arg Leu Asn His Ile Thr Asn Cys
 1160 1165 1170

15 Asn Gly Ala Val Leu Ser Val Glu Glu Leu Leu Ile Gly Gly Glu
 1175 1180 1185

20 Met Ile Lys Ala Gly Thr Leu Thr Leu Glu Glu Val Arg Arg Lys
 1190 1195 1200

25 Phe Asn Asn Gly Glu Ile Asn Phe
 1205 1210

25 <210> 70
 <211> 1037
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Xanthomonas spp, Zea mays
 <400> 70

35 Met Ala Ser Ser Pro Pro Lys Lys Lys Arg Lys Val Ser Trp Lys Asp
 1 5 10 15

40 Ala Ser Gly Trp Ser Arg Met His Ala Asp Pro Trp Pro Arg Arg Arg
 20 25 30

45 Ala Ala Gln Pro Ser Asp Ala Ser Pro Ala Ala Gln Val Asp Leu Arg
 35 40 45

50 Thr Leu Gly Tyr Ser Gln Gln Gln Gln Glu Lys Ile Lys Pro Lys Val
 50 55 60

55 Arg Ser Thr Val Ala Gln His His Glu Ala Leu Val Gly His Gly Phe
 65 70 75 80

55 Thr His Ala His Ile Val Ala Leu Ser Gln His Pro Ala Ala Leu Gly
 85 90 95

ES 2 785 329 T3

5 Thr Val Ala Val Thr Tyr Gln His Ile Ile Thr Ala Leu Pro Glu Ala
100 105 110

10 Thr His Glu Asp Ile Val Gly Val Gly Lys Gln Trp Ser Gly Ala Arg
115 120 125

15 Ala Leu Glu Ala Leu Leu Thr Asp Ala Gly Glu Leu Arg Gly Pro Pro
130 135 140

20 Leu Gln Leu Asp Thr Gly Gln Leu Val Lys Ile Ala Lys Arg Gly Gly
145 150 155 160

25 Val Thr Ala Met Glu Ala Val His Ala Ser Arg Asn Ala Leu Thr Gly
165 170 175

30 Ala Pro Leu Asn Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn
180 185 190

35 Ile Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val
195 200 205

40 Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala
210 215 220

45 Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu
225 230 235 240

50 Pro Val Leu Cys Gln Asp His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala
245 250 255

55 Ile Ala Ser Asn Ile Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg
260 265 270

60 Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Asp His Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val
275 280 285

65 Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val
290 295 300

70 Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Asp
305 310 315 320

ES 2 785 329 T3

5 Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Asn Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu
325 330 335

10 Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr
340 345 350

15 Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala
355 360 365

20 Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Ile Gly Gly Lys
385 390 395 400

25 Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala
405 410 415

30 His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly
420 425 430

35 Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys
435 440 445

40 Gln Asp His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn
450 455 460

45 Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val
465 470 475 480

50 Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala
485 490 495

55 Ser Asn Ile Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu
500 505 510

55 Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala
515 520 525

55 Ile Ala Ser Asn Ile Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg
530 535 540

ES 2 785 329 T3

5 Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Asp His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val
545 550 555 560

10 Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val
565 570 575

15 Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Asp His Gly Leu Thr Pro Asp
580 585 590

20 Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr
610 615 620

25 Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Asn Gly Gly Lys Gln Ala
625 630 635 640

30 Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly
645 650 655

35 Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Lys
660 665 670

40 Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala
675 680 685

45 His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Asn Gly
690 695 700

Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys
705 710 715 720

50 Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser His
725 730 735

55 Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val
740 745 750

Leu Cys Gln Asp His Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala
755 760 765

ES 2 785 329 T3

5 Ser Asn Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Ser Ile Val Ala Gln Leu Ser
770 775 780

10 Arg Pro Asp Pro Ala Leu Ala Ala Leu Thr Asn Asp His Leu Val Ala
785 790 795 800

15 Leu Ala Cys Leu Gly Gly Arg Pro Ala Met Asp Ala Val Lys Lys Gly
805 810 815

20 Glu Arg Thr Ser His Arg Val Ala Leu Gln Leu Val Lys Ser Glu Leu
835 840 845

25 Glu Glu Lys Lys Ser Glu Leu Arg His Lys Leu Lys Tyr Val Pro His
850 855 860

30 Glu Tyr Ile Glu Leu Ile Glu Ile Ala Arg Asn Ser Thr Gln Asp Arg
865 870 875 880

35 Ile Leu Glu Met Lys Val Met Glu Phe Phe Met Lys Val Tyr Gly Tyr
885 890 895

40 Arg Gly Lys His Leu Gly Gly Ser Arg Lys Pro Asp Gly Ala Ile Tyr
900 905 910

45 Thr Val Gly Ser Pro Ile Asp Tyr Gly Val Ile Val Asp Thr Lys Ala
915 920 925

50 Tyr Ser Gly Gly Tyr Asn Leu Pro Ile Gly Gln Ala Asp Glu Met Gln
930 935 940

55 Arg Tyr Val Glu Glu Asn Gln Thr Arg Asn Lys His Ile Asn Pro Asn
945 950 955 960

60 Glu Trp Trp Lys Val Tyr Pro Ser Ser Val Thr Glu Phe Lys Phe Leu
965 970 975

65 Phe Val Ser Gly His Phe Lys Gly Asn Tyr Lys Ala Gln Leu Thr Arg
980 985 990

ES 2 785 329 T3

5 Leu Asn His Ile Thr Asn Cys Asn Gly Ala Val Leu Ser Val Glu Glu
 995 1000 1005

10 Leu Leu Ile Gly Gly Glu Met Ile Lys Ala Gly Thr Leu Thr Leu
 1010 1015 1020

15 Glu Glu Val Arg Arg Lys Phe Asn Asn Gly Glu Ile Asn Phe
 1025 1030 1035

15 <210> 71
 <211> 1309
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Xanthomonas spp, Zea mays

25 <400> 71

25 Met Ala Ser Ser Pro Pro Lys Lys Lys Arg Lys Val Ser Trp Lys Asp
 1 5 10 15

30 Ala Ser Gly Trp Ser Arg Met His Ala Asp Pro Ile Arg Pro Arg Arg
 20 25 30

35 Pro Ser Pro Ala Arg Glu Leu Leu Pro Gly Pro Gln Pro Asp Arg Val
 35 40 45

40 Gln Pro Thr Ala Asp Arg Gly Val Ser Ala Pro Ala Gly Ser Pro Leu
 50 55 60

45 Asp Gly Leu Pro Ala Arg Arg Thr Val Ser Arg Thr Arg Leu Pro Ser
 65 70 75 80

50 Pro Pro Ala Pro Ser Pro Ala Phe Ser Ala Gly Ser Phe Ser Asp Leu
 85 90 95

55 Leu Arg Pro Phe Asp Pro Ser Leu Leu Asp Thr Ser Leu Leu Asp Ser
 100 105 110

55 Met Pro Ala Val Gly Thr Pro His Thr Ala Ala Ala Pro Ala Glu Trp
 115 120 125

ES 2 785 329 T3

Asp Glu Met Gln Ser Ala Leu Arg Ala Ala Asp Asp Pro Pro Pro Thr
130 135 140

5 Val Arg Val Ala Val Thr Ala Ala Arg Pro Pro Arg Ala Lys Pro Ala
145 150 155 160

10 Pro Arg Arg Arg Ala Ala Gln Pro Ser Asp Ala Ser Pro Ala Ala Gln
165 170 175

15 Val Asp Leu Arg Thr Leu Gly Tyr Ser Gln Gln Gln Glu Lys Ile
180 185 190

20 Lys Pro Lys Val Arg Ser Thr Val Ala Gln His His Glu Ala Leu Val
195 200 205

25 Gly His Gly Phe Thr His Ala His Ile Val Ala Leu Ser Gln His Pro
210 215 220

30 Ala Ala Leu Gly Thr Val Ala Val Thr Tyr Gln His Ile Ile Thr Ala
225 230 235 240

35 Leu Pro Glu Ala Thr His Glu Asp Ile Val Gly Val Gly Lys Gln Trp
245 250 255

40 Ser Gly Ala Arg Ala Leu Glu Ala Leu Leu Thr Asp Ala Gly Glu Leu
260 265 270

45 Arg Gly Pro Pro Leu Gln Leu Asp Thr Gly Gln Leu Val Lys Ile Ala
275 280 285

50 Lys Arg Gly Gly Val Thr Ala Met Glu Ala Val His Ala Ser Arg Asn
290 295 300

55 Ala Leu Thr Gly Ala Pro Leu Asn Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala
305 310 315 320

Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg
325 330 335

Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val
340 345 350

ES 2 785 329 T3

Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val
355 360 365

5 Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Asp His Gly Leu Thr Pro Glu
370 375 380

10 Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu
385 390 395 400

15 Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Asp His Gly Leu Thr
405 410 415

20 Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Asn Gly Gly Lys Gln Ala
420 425 430

25 Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Lys
450 455 460

30 Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala
465 470 475 480

35 His Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly
485 490 495

40 Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys
500 505 510

45 Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn
515 520 525

50 Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala
545 550 555 560

55 Ser Asn Ile Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu
565 570 575

ES 2 785 329 T3

Pro Val Leu Cys Gln Asp His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala
580 585 590

5 Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg
595 600 605

Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val
10 610 615 620

Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val
15 625 630 635 640

Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Asp
20 645 650 655

Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Ile Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu
25 660 665 670

Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Asp His Gly Leu Thr
25 675 680 685

Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala
30 690 695 700

Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Asp His Gly
35 705 710 715 720

Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Asn Gly Gly Lys
40 725 730 735

Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala
45 740 745 750

His Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly
45 755 760 765

Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys
50 770 775 780

Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn
55 785 790 795 800

ES 2 785 329 T3

Asn Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val
805 810 815

5 Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala
820 825 830

10 Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu
835 840 845

15 Pro Val Leu Cys Gln Asp His Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala
850 855 860

Ile Ala Ser Asn Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Ser Ile Val Ala Gln
865 870 875 880

20 Leu Ser Arg Pro Asp Pro Ala Leu Ala Ala Leu Thr Asn Asp His Leu
885 890 895

25 Val Ala Leu Ala Cys Leu Gly Gly Arg Pro Ala Met Asp Ala Val Lys
900 905 910

30 Lys Gly Leu Pro His Ala Pro Glu Leu Ile Arg Arg Val Asn Arg Arg
915 920 925

35 Ile Gly Glu Arg Thr Ser His Arg Val Ala Asp Tyr Ala Gln Val Val
930 935 940

40 Arg Val Leu Glu Phe Phe Gln Cys His Ser His Pro Ala Tyr Ala Phe
945 950 955 960

45 Asp Glu Ala Met Thr Gln Phe Gly Met Ser Arg Asn Gly Leu Val Gln
965 970 975

50 Leu Phe Arg Arg Val Gly Val Thr Glu Leu Glu Ala Arg Gly Gly Thr
980 985 990

55 Leu Pro Pro Ala Ser Gln Arg Trp Asp Arg Ile Leu Gln Ala Ser Gly
995 1000 1005

Met Lys Arg Ala Lys Pro Ser Pro Thr Ser Ala Gln Thr Pro Asp
1010 1015 1020

ES 2 785 329 T3

Gln Ala Ser Leu His Ala Phe Ala Asp Ser Leu Glu Arg Asp Leu
 1025 1030 1035

5 Asp Ala Pro Ser Pro Met His Glu Gly Asp Gln Thr Arg Ala Ser
 1040 1045 1050

10 Ser Arg Lys Arg Ser Arg Ser Asp Arg Ala Val Thr Gly Pro Ser
 1055 1060 1065

15 Ala Gln Gln Ala Val Glu Val Arg Val Pro Glu Gln Arg Asp Ala
 1070 1075 1080

20 Leu His Leu Pro Leu Ser Trp Arg Val Lys Arg Pro Arg Thr Arg
 1085 1090 1095

Ile Trp Gly Gly Leu Pro Asp Pro Gly Thr Pro Thr Ala Ala Asp
 1100 1105 1110

25 Gln Leu Val Lys Ser Glu Leu Glu Glu Lys Lys Ser Glu Leu Arg
 1115 1120 1125

30 His Lys Leu Lys Tyr Val Pro His Glu Tyr Ile Glu Leu Ile Glu
 1130 1135 1140

35 Ile Ala Arg Asn Ser Thr Gln Asp Arg Ile Leu Glu Met Lys Val
 1145 1150 1155

40 Met Glu Phe Phe Met Lys Val Tyr Gly Tyr Arg Gly Lys His Leu
 1160 1165 1170

Gly Gly Ser Arg Lys Pro Asp Gly Ala Ile Tyr Thr Val Gly Ser
 1175 1180 1185

45 Pro Ile Asp Tyr Gly Val Ile Val Asp Thr Lys Ala Tyr Ser Gly
 1190 1195 1200

50 Gly Tyr Asn Leu Pro Ile Gly Gln Ala Asp Glu Met Gln Arg Tyr
 1205 1210 1215

55 Val Glu Glu Asn Gln Thr Arg Asn Lys His Ile Asn Pro Asn Glu
 1220 1225 1230

ES 2 785 329 T3

Trp Trp Lys Val Tyr Pro Ser Ser Val Thr Glu Phe Lys Phe Leu
 1235 1240 1245

5 Phe Val Ser Gly His Phe Lys Gly Asn Tyr Lys Ala Gln Leu Thr
 1250 1255 1260

10 Arg Leu Asn His Ile Thr Asn Cys Asn Gly Ala Val Leu Ser Val
 1265 1270 1275

15 Glu Glu Leu Leu Ile Gly Gly Glu Met Ile Lys Ala Gly Thr Leu
 1280 1285 1290

20 Thr Leu Glu Glu Val Arg Arg Lys Phe Asn Asn Gly Glu Ile Asn
 1295 1300 1305

Phe

25 <210> 72
 <211> 1177
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Xanthomonas spp, Zea mays

<400> 72

35 Met Ala Ser Ser Pro Pro Lys Lys Lys Arg Lys Val Ser Trp Lys Asp
 1 5 10 15

40 Ala Ser Gly Trp Ser Arg Met His Ala Asp Pro Trp Pro Arg Arg Arg
 20 25 30

45 Ala Ala Gln Pro Ser Asp Ala Ser Pro Ala Ala Gln Val Asp Leu Arg
 35 40 45

Thr Leu Gly Tyr Ser Gln Gln Gln Gln Glu Lys Ile Lys Pro Lys Val
 50 55 60

50 Arg Ser Thr Val Ala Gln His His Glu Ala Leu Val Gly His Gly Phe
 65 70 75 80

55 Thr His Ala His Ile Val Ala Leu Ser Gln His Pro Ala Ala Leu Gly
 85 90 95

ES 2 785 329 T3

5 Thr Val Ala Val Thr Tyr Gln His Ile Ile Thr Ala Leu Pro Glu Ala
100 105 110

10 Thr His Glu Asp Ile Val Gly Val Gly Lys Gln Trp Ser Gly Ala Arg
115 120 125

15 Ala Leu Glu Ala Leu Leu Thr Asp Ala Gly Glu Leu Arg Gly Pro Pro
130 135 140

20 Leu Gln Leu Asp Thr Gly Gln Leu Val Lys Ile Ala Lys Arg Gly Gly
145 150 155 160

25 Val Thr Ala Met Glu Ala Val His Ala Ser Arg Asn Ala Leu Thr Gly
165 170 175

30 Ala Pro Leu Asn Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala Ser His
180 185 190

35 Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val
195 200 205

40 Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala
210 215 220

45 Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu
225 230 235 240

50 Pro Val Leu Cys Gln Asp His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala
245 250 255

55 Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg
260 265 270

60 Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Asp His Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val
275 280 285

65 Val Ala Ile Ala Ser Asn Asn Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val
290 295 300

70 Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Asp
305 310 315 320

ES 2 785 329 T3

5 Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu
325 330 335

10 Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr
340 345 350

15 Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala
355 360 365

20 Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly
370 375 380

25 Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Lys
385 390 395 400

30 Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala
405 410 415

35 His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Ile Gly
420 425 430

40 Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys
435 440 445

45 Gln Asp His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser His
450 455 460

50 Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val
465 470 475 480

55 Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala
485 490 495

Ser Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu
500 505 510

55 Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala
515 520 525

Ile Ala Ser Asn Ile Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg
530 535 540

ES 2 785 329 T3

5 Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Asp His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val
545 550 555 560

10 Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val
565 570 575

15 Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Asp His Gly Leu Thr Pro Asp
580 585 590

20 Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr
610 615 620

25 Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala
625 630 635 640

30 Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly
645 650 655

35 Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Asn Gly Gly Lys
660 665 670

40 Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala
675 680 685

45 His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly
690 695 700

Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys
705 710 715 720

50 Gln Asp His Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn
725 730 735

55 Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Ser Ile Val Ala Gln Leu Ser Arg Pro
740 745 750

Asp Pro Ala Leu Ala Ala Leu Thr Asn Asp His Leu Val Ala Leu Ala
755 760 765

5 Cys Leu Gly Gly Arg Pro Ala Met Asp Ala Val Lys Lys Gly Leu Pro
 770 775 780
 His Ala Pro Glu Leu Ile Arg Arg Val Asn Arg Arg Ile Gly Glu Arg
 785 790 795 800
 10 Thr Ser His Arg Val Ala Asp Tyr Ala Gln Val Val Arg Val Leu Glu
 805 810 815
 15 Phe Phe Gln Cys His Ser His Pro Ala Tyr Ala Phe Asp Glu Ala Met
 820 825 830
 20 Thr Gln Phe Gly Met Ser Arg Asn Gly Leu Val Gln Leu Phe Arg Arg
 835 840 845
 25 Val Gly Val Thr Glu Leu Glu Ala Arg Gly Gly Thr Leu Pro Pro Ala
 850 855 860
 Ser Gln Arg Trp Asp Arg Ile Leu Gln Ala Ser Gly Met Lys Arg Ala
 865 870 875 880
 30 Lys Pro Ser Pro Thr Ser Ala Gln Thr Pro Asp Gln Ala Ser Leu His
 885 890 895
 35 Ala Phe Ala Asp Ser Leu Glu Arg Asp Leu Asp Ala Pro Ser Pro Met
 900 905 910
 40 His Glu Gly Asp Gln Thr Arg Ala Ser Ser Arg Lys Arg Ser Arg Ser
 915 920 925
 45 Asp Arg Ala Val Thr Gly Pro Ser Ala Gln Gln Ala Val Glu Val Arg
 930 935 940
 Val Pro Glu Gln Arg Asp Ala Leu His Leu Pro Leu Ser Trp Arg Val
 945 950 955 960
 50 Lys Arg Pro Arg Thr Arg Ile Trp Gly Gly Leu Pro Asp Pro Gly Thr
 965 970 975
 55 Pro Thr Ala Ala Asp Gln Leu Val Lys Ser Glu Leu Glu Glu Lys Lys
 980 985 990

ES 2 785 329 T3

Ser Glu Leu Arg His Lys Leu Lys Tyr Val Pro His Glu Tyr Ile Glu
 995 1000 1005
 5

Leu Ile Glu Ile Ala Arg Asn Ser Thr Gln Asp Arg Ile Leu Glu
 1010 1015 1020
 10

Met Lys Val Met Glu Phe Phe Met Lys Val Tyr Gly Tyr Arg Gly
 1025 1030 1035
 15

Lys His Leu Gly Gly Ser Arg Lys Pro Asp Gly Ala Ile Tyr Thr
 1040 1045 1050
 20

Val Gly Ser Pro Ile Asp Tyr Gly Val Ile Val Asp Thr Lys Ala
 1055 1060 1065
 25

Tyr Ser Gly Gly Tyr Asn Leu Pro Ile Gly Gln Ala Asp Glu Met
 1070 1075 1080
 30

Gln Arg Tyr Val Glu Glu Asn Gln Thr Arg Asn Lys His Ile Asn
 1085 1090 1095
 35

Pro Asn Glu Trp Trp Lys Val Tyr Pro Ser Ser Val Thr Glu Phe
 1100 1105 1110
 40

Lys Phe Leu Phe Val Ser Gly His Phe Lys Gly Asn Tyr Lys Ala
 1115 1120 1125
 45

Gln Leu Thr Arg Leu Asn His Ile Thr Asn Cys Asn Gly Ala Val
 1130 1135 1140
 50

Leu Ser Val Glu Glu Leu Leu Ile Gly Gly Glu Met Ile Lys Ala
 1145 1150 1155
 55

Gly Thr Leu Thr Leu Glu Glu Val Arg Arg Lys Phe Asn Asn Gly
 1160 1165 1170
 60

Glu Ile Asn Phe
 1175
 65

<210> 73
 <211> 1003
 70

ES 2 785 329 T3

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

5 <223> Xanthomonas spp, Zea mays

<400> 73

10 Met Ala Ser Ser Pro Pro Lys Lys Lys Arg Lys Val Ser Trp Lys Asp
1 5 10 15

15 Ala Ser Gly Trp Ser Arg Met His Ala Asp Pro Trp Pro Arg Arg Arg
20 25 30

20 Ala Ala Gln Pro Ser Asp Ala Ser Pro Ala Ala Gln Val Asp Leu Arg
35 40 45

20 Thr Leu Gly Tyr Ser Gln Gln Gln Gln Glu Lys Ile Lys Pro Lys Val
50 55 60

25 Arg Ser Thr Val Ala Gln His His Glu Ala Leu Val Gly His Gly Phe
65 70 75 80

30 Thr His Ala His Ile Val Ala Leu Ser Gln His Pro Ala Ala Leu Gly
85 90 95

35 Thr Val Ala Val Thr Tyr Gln His Ile Ile Thr Ala Leu Pro Glu Ala
100 105 110

40 Thr His Glu Asp Ile Val Gly Val Gly Lys Gln Trp Ser Gly Ala Arg
115 120 125

40 Ala Leu Glu Ala Leu Leu Thr Asp Ala Gly Glu Leu Arg Gly Pro Pro
130 135 140

45 Leu Gln Leu Asp Thr Gly Gln Leu Val Lys Ile Ala Lys Arg Gly Gly
145 150 155 160

50 Val Thr Ala Met Glu Ala Val His Ala Ser Arg Asn Ala Leu Thr Gly
165 170 175

55 Ala Pro Leu Asn Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala Ser His
180 185 190

ES 2 785 329 T3

Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val
195 200 205

5 Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala
210 215 220

10 Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu
225 230 235 240

15 Pro Val Leu Cys Gln Asp His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala
245 250 255

20 Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg
260 265 270

25 Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Asp His Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val
275 280 285

30 Val Ala Ile Ala Ser Asn Asn Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val
290 295 300

35 Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Asp
305 310 315 320

40 Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu
325 330 335

45 Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr
340 345 350

50 Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala
355 360 365

55 Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly
370 375 380

60 Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Lys
385 390 395 400

65 Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala
405 410 415

ES 2 785 329 T3

His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Ile Gly
 420 425 430

5 Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys
 435 440 445

10 Gln Asp His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser His
 450 455 460

15 Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val
 465 470 475 480

20 Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala
 485 490 495

25 Ser Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu
 500 505 510

30 Ile Ala Ser Asn Ile Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg
 530 535 540

35 Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Asp His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val
 545 550 555 560

40 Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val
 565 570 575

45 Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Asp His Gly Leu Thr Pro Asp
 580 585 590

50 Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr
 610 615 620

55 Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala
 625 630 635 640

ES 2 785 329 T3

Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly
 645 650 655

5 Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Asn Gly Gly Lys
 660 665 670

10 Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala
 675 680 685

15 His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly
 690 695 700

20 Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys
 705 710 715 720

25 Gln Asp His Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn
 725 730 735

30 Asp Pro Ala Leu Ala Ala Leu Thr Asn Asp His Leu Val Ala Leu Ala
 755 760 765

35 Cys Leu Gly Gly Arg Pro Ala Met Asp Ala Val Lys Lys Gly Leu Pro
 770 775 780

40 His Ala Pro Glu Leu Ile Arg Arg Val Asn Arg Arg Ile Gly Glu Arg
 785 790 795 800

45 Thr Ser His Arg Val Ala Leu Gln Leu Val Lys Ser Glu Leu Glu Glu
 805 810 815

50 Lys Lys Ser Glu Leu Arg His Lys Leu Lys Tyr Val Pro His Glu Tyr
 820 825 830

55 Ile Glu Leu Ile Glu Ile Ala Arg Asn Ser Thr Gln Asp Arg Ile Leu
 835 840 845

Glu Met Lys Val Met Glu Phe Phe Met Lys Val Tyr Gly Tyr Arg Gly
 850 855 860

ES 2 785 329 T3

Lys His Leu Gly Gly Ser Arg Lys Pro Asp Gly Ala Ile Tyr Thr Val
 865 870 875 880

5 Gly Ser Pro Ile Asp Tyr Gly Val Ile Val Asp Thr Lys Ala Tyr Ser
 885 890 895

10 Gly Gly Tyr Asn Leu Pro Ile Gly Gln Ala Asp Glu Met Gln Arg Tyr
 900 905 910

15 Val Glu Glu Asn Gln Thr Arg Asn Lys His Ile Asn Pro Asn Glu Trp
 915 920 925

20 Trp Lys Val Tyr Pro Ser Ser Val Thr Glu Phe Lys Phe Leu Phe Val
 930 935 940

25 Ser Gly His Phe Lys Gly Asn Tyr Lys Ala Gln Leu Thr Arg Leu Asn
 945 950 955 960

30 His Ile Thr Asn Cys Asn Gly Ala Val Leu Ser Val Glu Glu Leu Leu
 965 970 975

35 Ile Gly Gly Glu Met Ile Lys Ala Gly Thr Leu Thr Leu Glu Glu Val
 980 985 990

Arg Arg Lys Phe Asn Asn Gly Glu Ile Asn Phe
 995 1000

<210> 74
 <211> 1343
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Xanthomonas spp, Zea mays

45 <400> 74

Met Ala Ser Ser Pro Pro Lys Lys Lys Arg Lys Val Ser Trp Lys Asp
 1 5 10 15

50 Ala Ser Gly Trp Ser Arg Met His Ala Asp Pro Ile Arg Pro Arg Arg
 20 25 30

55 Pro Ser Pro Ala Arg Glu Leu Leu Pro Gly Pro Gln Pro Asp Arg Val
 35 40 45

ES 2 785 329 T3

5 Gln Pro Thr Ala Asp Arg Gly Val Ser Ala Pro Ala Gly Ser Pro Leu
 50 55 60

10 Asp Gly Leu Pro Ala Arg Arg Thr Val Ser Arg Thr Arg Leu Pro Ser
 65 70 75 80

15 Pro Pro Ala Pro Ser Pro Ala Phe Ser Ala Gly Ser Phe Ser Asp Leu
 85 90 95

20 Leu Arg Pro Phe Asp Pro Ser Leu Leu Asp Thr Ser Leu Leu Asp Ser
 100 105 110

25 Met Pro Ala Val Gly Thr Pro His Thr Ala Ala Ala Pro Ala Glu Trp
 115 120 125

30 Asp Glu Met Gln Ser Ala Leu Arg Ala Ala Asp Asp Pro Pro Pro Thr
 130 135 140

35 Val Arg Val Ala Val Thr Ala Ala Arg Pro Pro Arg Ala Lys Pro Ala
 145 150 155 160

40 Pro Arg Arg Arg Ala Ala Gln Pro Ser Asp Ala Ser Pro Ala Ala Gln
 165 170 175

45 Val Asp Leu Arg Thr Leu Gly Tyr Ser Gln Gln Gln Gln Glu Lys Ile
 180 185 190

50 Lys Pro Lys Val Arg Ser Thr Val Ala Gln His His Glu Ala Leu Val
 195 200 205

55 Gly His Gly Phe Thr His Ala His Ile Val Ala Leu Ser Gln His Pro
 210 215 220

60 Ala Ala Leu Gly Thr Val Ala Val Thr Tyr Gln His Ile Ile Thr Ala
 225 230 235 240

65 Leu Pro Glu Ala Thr His Glu Asp Ile Val Gly Val Gly Lys Gln Trp
 245 250 255

70 Ser Gly Ala Arg Ala Leu Glu Ala Leu Leu Thr Asp Ala Gly Glu Leu
 260 265 270

ES 2 785 329 T3

5 Arg Gly Pro Pro Leu Gln Leu Asp Thr Gly Gln Leu Val Lys Ile Ala
275 280 285

10 Lys Arg Gly Gly Val Thr Ala Met Glu Ala Val His Ala Ser Arg Asn
290 295 300

15 Ala Leu Thr Gly Ala Pro Leu Asn Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala
305 310 315 320

20 Ile Ala Ser Asn Asn Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg
325 330 335

25 Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val
340 345 350

30 Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val
355 360 365

35 Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Asp His Gly Leu Thr Pro Glu
370 375 380

40 Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Ile Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu
385 390 395 400

45 Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Asp His Gly Leu Thr
405 410 415

50 Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala
420 425 430

55 Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly
435 440 445

60 Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys
450 455 460

65 Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala
465 470 475 480

70 His Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly
485 490 495

Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys
 500 505 510
 5

Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn
 515 520 525
 10

Asn Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val
 530 535 540
 15

Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala
 545 550 555 560
 20

Ser Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu
 565 570 575
 25

Pro Val Leu Cys Gln Asp His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala
 580 585 590
 30

Ile Ala Ser Asn Asn Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg
 595 600 605
 35

Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val
 610 615 620
 40

Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val
 625 630 635 640
 45

Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Asp
 645 650 655
 50

Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Ile Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu
 660 665 670
 55

Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Asp His Gly Leu Thr
 675 680 685
 60

Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Asn Gly Gly Lys Gln Ala
 690 695 700
 65

Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Asp His Gly
 705 710 715 720

ES 2 785 329 T3

5 Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Lys
 725 730 735

10 Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala
 740 745 750

15 His Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Asn Gly
 755 760 765

20 Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala Ser His
 785 790 795 800

25 Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val
 805 810 815

30 Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala
 820 825 830

35 Ser Asn Ile Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu
 835 840 845

40 Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala
 850 855 860

45 Ile Ala Ser Asn Asn Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg
 865 870 875 880

50 Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Asp His Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val
 885 890 895

55 Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Ser Ile Val
 900 905 910

60 Ala Gln Leu Ser Arg Pro Asp Pro Ala Leu Ala Ala Leu Thr Asn Asp
 915 920 925

65 His Leu Val Ala Leu Ala Cys Leu Gly Gly Arg Pro Ala Met Asp Ala
 930 935 940

ES 2 785 329 T3

5 Val Lys Lys Gly Leu Pro His Ala Pro Glu Leu Ile Arg Arg Val Asn
 945 950 955 960

Arg Arg Ile Gly Glu Arg Thr Ser His Arg Val Ala Asp Tyr Ala Gln
 965 970 975

10 Val Val Arg Val Leu Glu Phe Phe Gln Cys His Ser His Pro Ala Tyr
 980 985 990

15 Ala Phe Asp Glu Ala Met Thr Gln Phe Gly Met Ser Arg Asn Gly Leu
 995 1000 1005

20 Val Gln Leu Phe Arg Arg Val Gly Val Thr Glu Leu Glu Ala Arg
 1010 1015 1020

25 Gly Gly Thr Leu Pro Pro Ala Ser Gln Arg Trp Asp Arg Ile Leu
 1025 1030 1035

Gln Ala Ser Gly Met Lys Arg Ala Lys Pro Ser Pro Thr Ser Ala
 1040 1045 1050

30 Gln Thr Pro Asp Gln Ala Ser Leu His Ala Phe Ala Asp Ser Leu
 1055 1060 1065

35 Glu Arg Asp Leu Asp Ala Pro Ser Pro Met His Glu Gly Asp Gln
 1070 1075 1080

40 Thr Arg Ala Ser Ser Arg Lys Arg Ser Arg Ser Asp Arg Ala Val
 1085 1090 1095

45 Thr Gly Pro Ser Ala Gln Gln Ala Val Glu Val Arg Val Pro Glu
 1100 1105 1110

Gln Arg Asp Ala Leu His Leu Pro Leu Ser Trp Arg Val Lys Arg
 1115 1120 1125

50 Pro Arg Thr Arg Ile Trp Gly Gly Leu Pro Asp Pro Gly Thr Pro
 1130 1135 1140

55 Thr Ala Ala Asp Gln Leu Val Lys Ser Glu Leu Glu Glu Lys Lys
 1145 1150 1155

ES 2 785 329 T3

Ser Glu Leu Arg His Lys Leu Lys Tyr Val Pro His Glu Tyr Ile
 1160 1165 1170
 5

Glu Leu Ile Glu Ile Ala Arg Asn Ser Thr Gln Asp Arg Ile Leu
 1175 1180 1185
 10

Glu Met Lys Val Met Glu Phe Phe Met Lys Val Tyr Gly Tyr Arg
 1190 1195 1200

Gly Lys His Leu Gly Gly Ser Arg Lys Pro Asp Gly Ala Ile Tyr
 1205 1210 1215
 15

Thr Val Gly Ser Pro Ile Asp Tyr Gly Val Ile Val Asp Thr Lys
 1220 1225 1230
 20

Ala Tyr Ser Gly Gly Tyr Asn Leu Pro Ile Gly Gln Ala Asp Glu
 1235 1240 1245
 25

Met Gln Arg Tyr Val Glu Glu Asn Gln Thr Arg Asn Lys His Ile
 1250 1255 1260

Asn Pro Asn Glu Trp Trp Lys Val Tyr Pro Ser Ser Val Thr Glu
 1265 1270 1275
 30

Phe Lys Phe Leu Phe Val Ser Gly His Phe Lys Gly Asn Tyr Lys
 1280 1285 1290
 35

Ala Gln Leu Thr Arg Leu Asn His Ile Thr Asn Cys Asn Gly Ala
 1295 1300 1305
 40

Val Leu Ser Val Glu Glu Leu Leu Ile Gly Gly Glu Met Ile Lys
 1310 1315 1320
 45

Ala Gly Thr Leu Thr Leu Glu Glu Val Arg Arg Lys Phe Asn Asn
 1325 1330 1335

Gly Glu Ile Asn Phe
 1340
 50

<210> 75
 <211> 1211
 55

ES 2 785 329 T3

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

5 <223> Xanthomonas spp, Zea mays

<400> 75

10 Met Ala Ser Ser Pro Pro Lys Lys Lys Arg Lys Val Ser Trp Lys Asp
1 5 10 15

15 Ala Ser Gly Trp Ser Arg Met His Ala Asp Pro Trp Pro Arg Arg Arg
20 25 30

20 Ala Ala Gln Pro Ser Asp Ala Ser Pro Ala Ala Gln Val Asp Leu Arg
35 40 45

20 Thr Leu Gly Tyr Ser Gln Gln Gln Gln Glu Lys Ile Lys Pro Lys Val
50 55 60

25 Arg Ser Thr Val Ala Gln His His Glu Ala Leu Val Gly His Gly Phe
65 70 75 80

30 Thr His Ala His Ile Val Ala Leu Ser Gln His Pro Ala Ala Leu Gly
85 90 95

35 Thr Val Ala Val Thr Tyr Gln His Ile Ile Thr Ala Leu Pro Glu Ala
100 105 110

40 Thr His Glu Asp Ile Val Gly Val Gly Lys Gln Trp Ser Gly Ala Arg
115 120 125

40 Ala Leu Glu Ala Leu Leu Thr Asp Ala Gly Glu Leu Arg Gly Pro Pro
130 135 140

45 Leu Gln Leu Asp Thr Gly Gln Leu Val Lys Ile Ala Lys Arg Gly Gly
145 150 155 160

50 Val Thr Ala Met Glu Ala Val His Ala Ser Arg Asn Ala Leu Thr Gly
165 170 175

55 Ala Pro Leu Asn Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn
180 185 190

ES 2 785 329 T3

Asn Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val
195 200 205

5 Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala
210 215 220

10 Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu
225 230 235 240

15 Pro Val Leu Cys Gln Asp His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala
245 250 255

20 Ile Ala Ser Asn Ile Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg
260 265 270

25 Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Asp His Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val
275 280 285

30 Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val
290 295 300

35 Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Asp
305 310 315 320

40 Gln Val Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu
325 330 335

45 Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr
340 345 350

50 Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala
355 360 365

55 Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly
370 375 380

60 Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Asn Gly Gly Lys
385 390 395 400

65 Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala
405 410 415

ES 2 785 329 T3

His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly
420 425 430

5 Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys
435 440 445

Gln Asp His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn
10 450 455 460

Asn Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val
15 465 470 475 480

Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala
485 490 495

20 Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu
500 505 510

25 Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala
515 520 525

Ile Ala Ser Asn Ile Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg
30 530 535 540

Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Asp His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val
35 545 550 555 560

Val Ala Ile Ala Ser Asn Asn Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val
565 570 575

40 Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Asp His Gly Leu Thr Pro Asp
580 585 590

45 Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu
595 600 605

Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr
50 610 615 620

Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Asn Gly Gly Lys Gln Ala
625 630 635 640

55

ES 2 785 329 T3

Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly
 645 650 655

5 Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys
 660 665 670

10 Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala
 675 680 685

15 His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Ile Gly
 690 695 700

20 Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys
 705 710 715 720

25 Asn Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val
 740 745 750

30 Leu Cys Gln Asp His Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala
 755 760 765

35 Ser Asn Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Ser Ile Val Ala Gln Leu Ser
 770 775 780

40 Arg Pro Asp Pro Ala Leu Ala Ala Leu Thr Asn Asp His Leu Val Ala
 785 790 795 800

45 Leu Ala Cys Leu Gly Gly Arg Pro Ala Met Asp Ala Val Lys Lys Gly
 805 810 815

50 Glu Arg Thr Ser His Arg Val Ala Asp Tyr Ala Gln Val Val Arg Val
 835 840 845

55 Leu Glu Phe Phe Gln Cys His Ser His Pro Ala Tyr Ala Phe Asp Glu
 850 855 860

ES 2 785 329 T3

Ala Met Thr Gln Phe Gly Met Ser Arg Asn Gly Leu Val Gln Leu Phe
865 870 875 880

5 Arg Arg Val Gly Val Thr Glu Leu Glu Ala Arg Gly Gly Thr Leu Pro
 885 890 895

10 Pro Ala Ser Gln Arg Trp Asp Arg Ile Leu Gln Ala Ser Gly Met Lys
 900 905 910

15 Arg Ala Lys Pro Ser Pro Thr Ser Ala Gln Thr Pro Asp Gln Ala Ser
 915 920 925

20 Leu His Ala Phe Ala Asp Ser Leu Glu Arg Asp Leu Asp Ala Pro Ser
 930 935 940

25 Pro Met His Glu Gly Asp Gln Thr Arg Ala Ser Ser Arg Lys Arg Ser
945 950 955 960

30 Arg Ser Asp Arg Ala Val Thr Gly Pro Ser Ala Gln Gln Ala Val Glu
 965 970 975

35 Val Arg Val Pro Glu Gln Arg Asp Ala Leu His Leu Pro Leu Ser Trp
 980 985 990

40 Arg Val Lys Arg Pro Arg Thr Arg Ile Trp Gly Gly Leu Pro Asp Pro
 995 1000 1005

45 Gly Thr Pro Thr Ala Ala Asp Gln Leu Val Lys Ser Glu Leu Glu
1010 1015 1020

50 Glu Lys Lys Ser Glu Leu Arg His Lys Leu Lys Tyr Val Pro His
1025 1030 1035

55 Glu Tyr Ile Glu Leu Ile Glu Ile Ala Arg Asn Ser Thr Gln Asp
1040 1045 1050

60 Arg Ile Leu Glu Met Lys Val Met Glu Phe Phe Met Lys Val Tyr
1055 1060 1065

65 Gly Tyr Arg Gly Lys His Leu Gly Gly Ser Arg Lys Pro Asp Gly
1070 1075 1080

ES 2 785 329 T3

Ala Ile Tyr Thr Val Gly Ser Pro Ile Asp Tyr Gly Val Ile Val
 1085 1090 1095

5 Asp Thr Lys Ala Tyr Ser Gly Gly Tyr Asn Leu Pro Ile Gly Gln
 1100 1105 1110

10 Ala Asp Glu Met Gln Arg Tyr Val Glu Glu Asn Gln Thr Arg Asn
 1115 1120 1125

15 Lys His Ile Asn Pro Asn Glu Trp Trp Lys Val Tyr Pro Ser Ser
 1130 1135 1140

Val Thr Glu Phe Lys Phe Leu Phe Val Ser Gly His Phe Lys Gly
 1145 1150 1155

20 Asn Tyr Lys Ala Gln Leu Thr Arg Leu Asn His Ile Thr Asn Cys
 1160 1165 1170

25 Asn Gly Ala Val Leu Ser Val Glu Glu Leu Leu Ile Gly Gly Glu
 1175 1180 1185

30 Met Ile Lys Ala Gly Thr Leu Thr Leu Glu Glu Val Arg Arg Lys
 1190 1195 1200

35 Phe Asn Asn Gly Glu Ile Asn Phe
 1205 1210

<210> 76
 <211> 1037
 <212> PRT
 40 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Xanthomonas spp, Zea mays

45 <400> 76

Met Ala Ser Ser Pro Pro Lys Lys Lys Arg Lys Val Ser Trp Lys Asp
 1 5 10 15

50 Ala Ser Gly Trp Ser Arg Met His Ala Asp Pro Trp Pro Arg Arg Arg
 20 25 30

55 Ala Ala Gln Pro Ser Asp Ala Ser Pro Ala Ala Gln Val Asp Leu Arg
 35 40 45

ES 2 785 329 T3

5 Thr Leu Gly Tyr Ser Gln Gln Gln Gln Glu Lys Ile Lys Pro Lys Val
50 55 60

10 Arg Ser Thr Val Ala Gln His His Glu Ala Leu Val Gly His Gly Phe
65 70 75 80

15 Thr His Ala His Ile Val Ala Leu Ser Gln His Pro Ala Ala Leu Gly
85 90 95

20 Thr Val Ala Val Thr Tyr Gln His Ile Ile Thr Ala Leu Pro Glu Ala
100 105 110

25 Thr His Glu Asp Ile Val Gly Val Gly Lys Gln Trp Ser Gly Ala Arg
115 120 125

30 Ala Leu Glu Ala Leu Leu Thr Asp Ala Gly Glu Leu Arg Gly Pro Pro
130 135 140

35 Leu Gln Leu Asp Thr Gly Gln Leu Val Lys Ile Ala Lys Arg Gly Gly
145 150 155 160

40 Val Thr Ala Met Glu Ala Val His Ala Ser Arg Asn Ala Leu Thr Gly
165 170 175

45 Ala Pro Leu Asn Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn
180 185 190

50 Asn Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val
195 200 205

55 Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala
210 215 220

60 Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu
225 230 235 240

65 Pro Val Leu Cys Gln Asp His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala
245 250 255

70 Ile Ala Ser Asn Ile Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg
260 265 270

ES 2 785 329 T3

5 Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Asp His Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val
275 280 285

10 Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val
290 295 300

15 Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Asp
305 310 315 320

20 Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr
340 345 350

25 Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala
355 360 365

30 Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly
370 375 380

35 Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Asn Gly Gly Lys
385 390 395 400

40 Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala
405 410 415

45 His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly
420 425 430

50 Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys
435 440 445

55 Gln Asp His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn
450 455 460

60 Asn Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val
465 470 475 480

65 Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala
485 490 495

ES 2 785 329 T3

5 Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu
500 505 510

10 Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala
515 520 525

15 Ile Ala Ser Asn Ile Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg
530 535 540

20 Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Asp His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val
545 550 555 560

25 Val Ala Ile Ala Ser Asn Asn Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val
565 570 575

30 Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Asp His Gly Leu Thr Pro Asp
580 585 590

35 Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu
595 600 605

40 Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr
610 615 620

45 Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Asn Gly Gly Lys Gln Ala
625 630 635 640

50 Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly
645 650 655

55 Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys
660 665 670

60 Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala
675 680 685

65 His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Ile Gly
690 695 700

70 Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys
705 710 715 720

ES 2 785 329 T3

5 Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn
725 730 735

10 Asn Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val
740 745 750

15 Leu Cys Gln Asp His Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala
755 760 765

20 Ser Asn Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Ser Ile Val Ala Gln Leu Ser
770 775 780

25 Arg Pro Asp Pro Ala Leu Ala Ala Leu Thr Asn Asp His Leu Val Ala
785 790 795 800

30 Leu Ala Cys Leu Gly Gly Arg Pro Ala Met Asp Ala Val Lys Lys Gly
805 810 815

35 Leu Pro His Ala Pro Glu Leu Ile Arg Arg Val Asn Arg Arg Ile Gly
820 825 830

40 Glu Arg Thr Ser His Arg Val Ala Leu Gln Leu Val Lys Ser Glu Leu
835 840 845

45 Glu Glu Lys Lys Ser Glu Leu Arg His Lys Leu Lys Tyr Val Pro His
850 855 860

50 Glu Tyr Ile Glu Leu Ile Glu Ile Ala Arg Asn Ser Thr Gln Asp Arg
865 870 875 880

55 Ile Leu Glu Met Lys Val Met Glu Phe Phe Met Lys Val Tyr Gly Tyr
885 890 895

60 Arg Gly Lys His Leu Gly Gly Ser Arg Lys Pro Asp Gly Ala Ile Tyr
900 905 910

65 Thr Val Gly Ser Pro Ile Asp Tyr Gly Val Ile Val Asp Thr Lys Ala
915 920 925

70 Tyr Ser Gly Gly Tyr Asn Leu Pro Ile Gly Gln Ala Asp Glu Met Gln
930 935 940

ES 2 785 329 T3

Arg Tyr Val Glu Glu Asn Gln Thr Arg Asn Lys His Ile Asn Pro Asn
 945 950 955 960

5

Glu Trp Trp Lys Val Tyr Pro Ser Ser Val Thr Glu Phe Lys Phe Leu
 965 970 975

10

Phe Val Ser Gly His Phe Lys Gly Asn Tyr Lys Ala Gln Leu Thr Arg
 980 985 990

15

Leu Asn His Ile Thr Asn Cys Asn Gly Ala Val Leu Ser Val Glu Glu
 995 1000 1005

20

Leu Leu Ile Gly Gly Glu Met Ile Lys Ala Gly Thr Leu Thr Leu
 1010 1015 1020

25

Glu Glu Val Arg Arg Lys Phe Asn Asn Gly Glu Ile Asn Phe
 1025 1030 1035

30

<210> 77
 <211> 1275
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

35

<220>
 <223> Xanthomonas ssp, Zea mays

Met Ala Ser Ser Pro Pro Lys Lys Lys Arg Lys Val Ser Trp Lys Asp
 1 5 10 15

40

Ala Ser Gly Trp Ser Arg Met His Ala Asp Pro Ile Arg Pro Arg Arg
 20 25 30

45

Pro Ser Pro Ala Arg Glu Leu Leu Pro Gly Pro Gln Pro Asp Arg Val
 35 40 45

50

Gln Pro Thr Ala Asp Arg Gly Val Ser Ala Pro Ala Gly Ser Pro Leu
 50 55 60

55

Asp Gly Leu Pro Ala Arg Arg Thr Val Ser Arg Thr Arg Leu Pro Ser
 65 70 75 80

ES 2 785 329 T3

Pro Pro Ala Pro Ser Pro Ala Phe Ser Ala Gly Ser Phe Ser Asp Leu
85 90 95

5 Leu Arg Pro Phe Asp Pro Ser Leu Leu Asp Thr Ser Leu Leu Asp Ser
100 105 110

10 Met Pro Ala Val Gly Thr Pro His Thr Ala Ala Ala Pro Ala Glu Trp
115 120 125

15 Asp Glu Met Gln Ser Ala Leu Arg Ala Ala Asp Asp Pro Pro Pro Thr
130 135 140

20 Val Arg Val Ala Val Thr Ala Ala Arg Pro Pro Arg Ala Lys Pro Ala
145 150 155 160

25 Pro Arg Arg Arg Ala Ala Gln Pro Ser Asp Ala Ser Pro Ala Ala Gln
165 170 175

30 Val Asp Leu Arg Thr Leu Gly Tyr Ser Gln Gln Gln Gln Glu Lys Ile
180 185 190

35 Lys Pro Lys Val Arg Ser Thr Val Ala Gln His His Glu Ala Leu Val
195 200 205

40 Gly His Gly Phe Thr His Ala His Ile Val Ala Leu Ser Gln His Pro
210 215 220

45 Ala Ala Leu Gly Thr Val Ala Val Thr Tyr Gln His Ile Ile Thr Ala
225 230 235 240

50 Leu Pro Glu Ala Thr His Glu Asp Ile Val Gly Val Gly Lys Gln Trp
245 250 255

55 Ser Gly Ala Arg Ala Leu Glu Ala Leu Leu Thr Asp Ala Gly Glu Leu
260 265 270

Arg Gly Pro Pro Leu Gln Leu Asp Thr Gly Gln Leu Val Lys Ile Ala
275 280 285

Lys Arg Gly Gly Val Thr Ala Met Glu Ala Val His Ala Ser Arg Asn
290 295 300

ES 2 785 329 T3

Ala Leu Thr Gly Ala Pro Leu Asn Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala
 305 310 315 320

5 Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg
 325 330 335

Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val
 10 340 345 350

Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val
 15 355 360 365

Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Asp His Gly Leu Thr Pro Glu
 20 370 375 380

Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu
 25 385 390 395 400

Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Asp His Gly Leu Thr
 30 405 410 415

Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Ile Gly Gly Lys Gln Ala
 35 420 425 430

Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly
 40 435 440 445

Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Ile Gly Gly Lys
 45 450 455 460

Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala
 50 465 470 475 480

His Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Ile Gly
 55 485 490 495

Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys
 500 505 510

Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser His
 515 520 525

ES 2 785 329 T3

Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val
530 535 540

5 Leu Cys Gln Asp His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala
545 550 555 560

10 Ser Asn Ile Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu
565 570 575

15 Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala
580 585 590

20 Ile Ala Ser Asn Ile Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg
595 600 605

25 Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val
610 615 620

30 Val Ala Ile Ala Ser Asn Ile Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val
625 630 635 640

35 Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Asp His Gly Leu Thr Pro Glu
645 650 655

40 Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Asn Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu
660 665 670

45 Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Asp His Gly Leu Thr
675 680 685

50 Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Asn Gly Gly Lys Gln Ala
690 695 700

55 Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly
705 710 715 720

Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Ile Gly Gly Lys
725 730 735

Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala
740 745 750

ES 2 785 329 T3

His Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Asn Gly
 755 760 765

5 Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys
 770 775 780

10 Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn
 785 790 795 800

15 Asn Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val
 805 810 815

20 Leu Cys Gln Asp His Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala
 820 825 830

25 Ser Asn Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Ser Ile Val Ala Gln Leu Ser
 835 840 845

30 Arg Pro Asp Pro Ala Leu Ala Ala Leu Thr Asn Asp His Leu Val Ala
 850 855 860

35 Leu Ala Cys Leu Gly Gly Arg Pro Ala Met Asp Ala Val Lys Lys Gly
 865 870 875 880

40 Leu Pro His Ala Pro Glu Leu Ile Arg Arg Val Asn Arg Arg Ile Gly
 885 890 895

45 Glu Arg Thr Ser His Arg Val Ala Asp Tyr Ala Gln Val Val Arg Val
 900 905 910

50 Leu Glu Phe Phe Gln Cys His Ser His Pro Ala Tyr Ala Phe Asp Glu
 915 920 925

55 Ala Met Thr Gln Phe Gly Met Ser Arg Asn Gly Leu Val Gln Leu Phe
 930 935 940

Arg Arg Val Gly Val Thr Glu Leu Glu Ala Arg Gly Gly Thr Leu Pro
 945 950 955 960

Pro Ala Ser Gln Arg Trp Asp Arg Ile Leu Gln Ala Ser Gly Met Lys
 965 970 975

ES 2 785 329 T3

Arg Ala Lys Pro Ser Pro Thr Ser Ala Gln Thr Pro Asp Gln Ala Ser
 980 985 990

5 Leu His Ala Phe Ala Asp Ser Leu Glu Arg Asp Leu Asp Ala Pro Ser
 995 1000 1005

10 Pro Met His Glu Gly Asp Gln Thr Arg Ala Ser Ser Arg Lys Arg
 1010 1015 1020

15 Ser Arg Ser Asp Arg Ala Val Thr Gly Pro Ser Ala Gln Gln Ala
 1025 1030 1035

20 Val Glu Val Arg Val Pro Glu Gln Arg Asp Ala Leu His Leu Pro
 1040 1045 1050

25 Leu Ser Trp Arg Val Lys Arg Pro Arg Thr Arg Ile Trp Gly Gly
 1055 1060 1065

30 Ser Glu Leu Glu Glu Lys Lys Ser Glu Leu Arg His Lys Leu Lys
 1085 1090 1095

35 Tyr Val Pro His Glu Tyr Ile Glu Leu Ile Glu Ile Ala Arg Asn
 1100 1105 1110

40 Ser Thr Gln Asp Arg Ile Leu Glu Met Lys Val Met Glu Phe Phe
 1115 1120 1125

45 Met Lys Val Tyr Gly Tyr Arg Gly Lys His Leu Gly Gly Ser Arg
 1130 1135 1140

50 Lys Pro Asp Gly Ala Ile Tyr Thr Val Gly Ser Pro Ile Asp Tyr
 1145 1150 1155

55 Gly Val Ile Val Asp Thr Lys Ala Tyr Ser Gly Gly Tyr Asn Leu
 1160 1165 1170

Pro Ile Gly Gln Ala Asp Glu Met Gln Arg Tyr Val Glu Glu Asn
 1175 1180 1185

ES 2 785 329 T3

Gln Thr Arg Asn Lys His Ile Asn Pro Asn Glu Trp Trp Lys Val
 1190 1195 1200

5 Tyr Pro Ser Ser Val Thr Glu Phe Lys Phe Leu Phe Val Ser Gly
 1205 1210 1215

10 His Phe Lys Gly Asn Tyr Lys Ala Gln Leu Thr Arg Leu Asn His
 1220 1225 1230

15 Ile Thr Asn Cys Asn Gly Ala Val Leu Ser Val Glu Glu Leu Leu
 1235 1240 1245

Ile Gly Gly Glu Met Ile Lys Ala Gly Thr Leu Thr Leu Glu Glu
 1250 1255 1260

20 Val Arg Arg Lys Phe Asn Asn Gly Glu Ile Asn Phe
 1265 1270 1275

25 <210> 78
 <211> 1143
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Xanthomonas ssp, Zea mays

<400> 78

35 Met Ala Ser Ser Pro Pro Lys Lys Lys Arg Lys Val Ser Trp Lys Asp
 1 5 10 15

40 Ala Ser Gly Trp Ser Arg Met His Ala Asp Pro Trp Pro Arg Arg Arg
 20 25 30

45 Ala Ala Gln Pro Ser Asp Ala Ser Pro Ala Ala Gln Val Asp Leu Arg
 35 40 45

Thr Leu Gly Tyr Ser Gln Gln Gln Gln Glu Lys Ile Lys Pro Lys Val
 50 55 60

50 Arg Ser Thr Val Ala Gln His His Glu Ala Leu Val Gly His Gly Phe
 65 70 75 80

55 Thr His Ala His Ile Val Ala Leu Ser Gln His Pro Ala Ala Leu Gly
 85 90 95

ES 2 785 329 T3

5 Thr Val Ala Val Thr Tyr Gln His Ile Ile Thr Ala Leu Pro Glu Ala
100 105 110

10 Thr His Glu Asp Ile Val Gly Val Gly Lys Gln Trp Ser Gly Ala Arg
115 120 125

15 Ala Leu Glu Ala Leu Leu Thr Asp Ala Gly Glu Leu Arg Gly Pro Pro
130 135 140

20 Leu Gln Leu Asp Thr Gly Gln Leu Val Lys Ile Ala Lys Arg Gly Gly
145 150 155 160

25 Val Thr Ala Met Glu Ala Val His Ala Ser Arg Asn Ala Leu Thr Gly
165 170 175

30 Ala Pro Leu Asn Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala Ser His
180 185 190

35 Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val
195 200 205

40 Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala
210 215 220

45 Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu
225 230 235 240

50 Pro Val Leu Cys Gln Asp His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala
245 250 255

55 Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg
260 265 270

60 Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Asp His Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val
275 280 285

65 Val Ala Ile Ala Ser Asn Ile Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val
290 295 300

70 Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Asp
305 310 315 320

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

ES 2 785 329 T3

5 Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Asp His Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val
545 550 555 560

10 Val Ala Ile Ala Ser Asn Asn Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val
565 570 575

15 Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Asp
580 585 590

20 Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr
610 615 620

25 Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Asn Gly Gly Lys Gln Ala
625 630 635 640

30 Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly
645 650 655

35 Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Asn Gly Gly Lys
660 665 670

40 Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Asp
675 680 685

45 His Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly
690 695 700

Lys Gln Ala Leu Glu Ser Ile Val Ala Gln Leu Ser Arg Pro Asp Pro
705 710 715 720

50 Ala Leu Ala Ala Leu Thr Asn Asp His Leu Val Ala Leu Ala Cys Leu
725 730 735

55 Gly Gly Arg Pro Ala Met Asp Ala Val Lys Lys Gly Leu Pro His Ala
740 745 750

Pro Glu Leu Ile Arg Arg Val Asn Arg Arg Ile Gly Glu Arg Thr Ser
755 760 765

ES 2 785 329 T3

5 His Arg Val Ala Asp Tyr Ala Gln Val Val Arg Val Leu Glu Phe Phe
770 775 780

10 Gln Cys His Ser His Pro Ala Tyr Ala Phe Asp Glu Ala Met Thr Gln
785 790 795 800

15 Phe Gly Met Ser Arg Asn Gly Leu Val Gln Leu Phe Arg Arg Val Gly
805 810 815

20 Val Thr Glu Leu Glu Ala Arg Gly Gly Thr Leu Pro Pro Ala Ser Gln
820 825 830

25 Arg Trp Asp Arg Ile Leu Gln Ala Ser Gly Met Lys Arg Ala Lys Pro
835 840 845

30 Ser Pro Thr Ser Ala Gln Thr Pro Asp Gln Ala Ser Leu His Ala Phe
850 855 860

35 Ala Asp Ser Leu Glu Arg Asp Leu Asp Ala Pro Ser Pro Met His Glu
865 870 875 880

40 Gly Asp Gln Thr Arg Ala Ser Ser Arg Lys Arg Ser Arg Ser Asp Arg
885 890 895

45 Ala Val Thr Gly Pro Ser Ala Gln Gln Ala Val Glu Val Arg Val Pro
900 905 910

50 Glu Gln Arg Asp Ala Leu His Leu Pro Leu Ser Trp Arg Val Lys Arg
915 920 925

55 Pro Arg Thr Arg Ile Trp Gly Gly Leu Pro Asp Pro Gly Thr Pro Thr
930 935 940

60 Ala Ala Asp Gln Leu Val Lys Ser Glu Leu Glu Glu Lys Lys Ser Glu
945 950 955 960

65 Leu Arg His Lys Leu Lys Tyr Val Pro His Glu Tyr Ile Glu Leu Ile
965 970 975

70 Glu Ile Ala Arg Asn Ser Thr Gln Asp Arg Ile Leu Glu Met Lys Val
980 985 990

ES 2 785 329 T3

5 Met Glu Phe Phe Met Lys Val Tyr Gly Tyr Arg Gly Lys His Leu Gly
995 1000 1005

10 Gly Ser Arg Lys Pro Asp Gly Ala Ile Tyr Thr Val Gly Ser Pro
1010 1015 1020

15 Ile Asp Tyr Gly Val Ile Val Asp Thr Lys Ala Tyr Ser Gly Gly
1025 1030 1035

20 Tyr Asn Leu Pro Ile Gly Gln Ala Asp Glu Met Gln Arg Tyr Val
1040 1045 1050

25 Glu Glu Asn Gln Thr Arg Asn Lys His Ile Asn Pro Asn Glu Trp
1055 1060 1065

30 Trp Lys Val Tyr Pro Ser Ser Val Thr Glu Phe Lys Phe Leu Phe
1070 1075 1080

35 Val Ser Gly His Phe Lys Gly Asn Tyr Lys Ala Gln Leu Thr Arg
1085 1090 1095

40 Leu Asn His Ile Thr Asn Cys Asn Gly Ala Val Leu Ser Val Glu
1100 1105 1110

45 Glu Leu Leu Ile Gly Gly Glu Met Ile Lys Ala Gly Thr Leu Thr
1115 1120 1125

50 Leu Glu Glu Val Arg Arg Lys Phe Asn Asn Gly Glu Ile Asn Phe
1130 1135 1140

<210> 79
<211> 969
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Xanthomonas ssp, Zea mays

55 Met Ala Ser Ser Pro Pro Lys Lys Lys Arg Lys Val Ser Trp Lys Asp
1 5 10 15

ES 2 785 329 T3

Ala Ser Gly Trp Ser Arg Met His Ala Asp Pro Trp Pro Arg Arg Arg
 20 25 30

5 Ala Ala Gln Pro Ser Asp Ala Ser Pro Ala Ala Gln Val Asp Leu Arg
 35 40 45

10 Thr Leu Gly Tyr Ser Gln Gln Gln Gln Glu Lys Ile Lys Pro Lys Val
 50 55 60

15 Arg Ser Thr Val Ala Gln His His Glu Ala Leu Val Gly His Gly Phe
 65 70 75 80

20 Thr His Ala His Ile Val Ala Leu Ser Gln His Pro Ala Ala Leu Gly
 85 90 95

25 Thr Val Ala Val Thr Tyr Gln His Ile Ile Thr Ala Leu Pro Glu Ala
 100 105 110

30 Ala Leu Glu Ala Leu Leu Thr Asp Ala Gly Glu Leu Arg Gly Pro Pro
 130 135 140

35 Leu Gln Leu Asp Thr Gly Gln Leu Val Lys Ile Ala Lys Arg Gly Gly
 145 150 155 160

40 Val Thr Ala Met Glu Ala Val His Ala Ser Arg Asn Ala Leu Thr Gly
 165 170 175

45 Ala Pro Leu Asn Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala Ser His
 180 185 190

50 Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val
 195 200 205

55 Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala
 210 215 220

Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu
 225 230 235 240

ES 2 785 329 T3

Pro Val Leu Cys Gln Asp His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala
245 250 255

5 Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg
260 265 270

10 Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Asp His Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val
275 280 285

15 Val Ala Ile Ala Ser Asn Ile Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val
290 295 300

20 Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Asp
305 310 315 320

25 Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr
340 345 350

30 Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Ile Gly Gly Lys Gln Ala
355 360 365

35 Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly
370 375 380

40 Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys
385 390 395 400

45 Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Asp
405 410 415

50 His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Ile Gly
420 425 430

55 Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys
435 440 445

Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn
450 455 460

ES 2 785 329 T3

Ile Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val
465 470 475 480

5 Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala
 485 490 495

10 Ser Asn Ile Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu
 500 505 510

15 Pro Val Leu Cys Gln Asp His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala
 515 520 525

20 Ile Ala Ser Asn Asn Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg
 530 535 540

25 Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Asp His Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val
 545 550 555 560

30 Val Ala Ile Ala Ser Asn Asn Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val
 565 570 575

35 Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Asp
 580 585 590

40 Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Ile Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu
 595 600 605

45 Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr
 610 615 620

50 Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Asn Gly Gly Lys Gln Ala
 625 630 635 640

55 Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly
 645 650 655

 Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Asn Gly Gly Lys
 660 665 670

 Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Asp
 675 680 685

ES 2 785 329 T3

His Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly
 690 695 700

5 Lys Gln Ala Leu Glu Ser Ile Val Ala Gln Leu Ser Arg Pro Asp Pro
 705 710 715 720

10 Ala Leu Ala Ala Leu Thr Asn Asp His Leu Val Ala Leu Ala Cys Leu
 725 730 735

15 Gly Gly Arg Pro Ala Met Asp Ala Val Lys Lys Gly Leu Pro His Ala
 740 745 750

20 Pro Glu Leu Ile Arg Arg Val Asn Arg Arg Ile Gly Glu Arg Thr Ser
 755 760 765

25 His Arg Val Ala Leu Gln Leu Val Lys Ser Glu Leu Glu Glu Lys Lys
 770 775 780

30 Ser Glu Leu Arg His Lys Leu Lys Tyr Val Pro His Glu Tyr Ile Glu
 785 790 795 800

35 Leu Ile Glu Ile Ala Arg Asn Ser Thr Gln Asp Arg Ile Leu Glu Met
 805 810 815

40 Lys Val Met Glu Phe Phe Met Lys Val Tyr Gly Tyr Arg Gly Lys His
 820 825 830

45 Leu Gly Gly Ser Arg Lys Pro Asp Gly Ala Ile Tyr Thr Val Gly Ser
 835 840 845

50 Pro Ile Asp Tyr Gly Val Ile Val Asp Thr Lys Ala Tyr Ser Gly Gly
 850 855 860

55 Tyr Asn Leu Pro Ile Gly Gln Ala Asp Glu Met Gln Arg Tyr Val Glu
 865 870 875 880

60 Glu Asn Gln Thr Arg Asn Lys His Ile Asn Pro Asn Glu Trp Trp Lys
 885 890 895

65 Val Tyr Pro Ser Ser Val Thr Glu Phe Lys Phe Leu Phe Val Ser Gly
 900 905 910

ES 2 785 329 T3

His Phe Lys Gly Asn Tyr Lys Ala Gln Leu Thr Arg Leu Asn His Ile
915 920 925

5 Thr Asn Cys Asn Gly Ala Val Leu Ser Val Glu Glu Leu Leu Ile Gly
930 935 940

10 Gly Glu Met Ile Lys Ala Gly Thr Leu Thr Leu Glu Glu Val Arg Arg
945 950 955 960

Lys Phe Asn Asn Gly Glu Ile Asn Phe
965

15

<210> 80
<211> 1024
<212> PRT
20 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> Xanthomonas ssp, Zea mays

25 <400> 80

Met Gly Lys Pro Ile Pro Asn Pro Leu Leu Gly Leu Asp Ser Thr Gly
1 5 10 15

30 Gly Met Ala Pro Lys Lys Lys Arg Lys Val Asp Gly Gly Val Asp Leu
20 25 30

35 Arg Thr Leu Gly Tyr Ser Gln Gln Gln Gln Glu Lys Ile Lys Pro Lys
35 40 45

40 Val Arg Ser Thr Val Ala Gln His His Glu Ala Leu Val Gly His Gly
50 55 60

Phe Thr His Ala His Ile Val Ala Leu Ser Gln His Pro Ala Ala Leu
65 70 75 80

45 Gly Thr Val Ala Val Lys Tyr Gln Asp Met Ile Ala Ala Leu Pro Glu
85 90 95

50 Ala Thr His Glu Ala Ile Val Gly Val Gly Lys Gln Trp Ser Gly Ala
100 105 110

55 Arg Ala Leu Glu Ala Leu Leu Thr Val Ala Gly Glu Leu Arg Gly Pro
115 120 125

ES 2 785 329 T3

5 Pro Leu Gln Leu Asp Thr Gly Gln Leu Leu Lys Ile Ala Lys Arg Gly
130 135 140

10 Gly Val Thr Ala Val Glu Ala Val His Ala Trp Arg Asn Ala Leu Thr
145 150 155 160

15 Gly Ala Pro Leu Asn Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser
165 170 175

20 Asn Asn Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro
180 185 190

25 Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile
195 200 205

30 Ala Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu
210 215 220

35 Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val
225 230 235 240

40 Ala Ile Ala Ser Asn Ile Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln
245 250 255

45 Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln
260 265 270

50 Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr
275 280 285

55 Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro
290 295 300

60 Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu
305 310 315 320

65 Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu
325 330 335

70 Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys Gln
340 345 350

ES 2 785 329 T3

5 Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His
355 360 365

10 Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Asn Gly Gly
370 375 380

15 Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln
385 390 395 400

20 Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly
405 410 415

25 Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu
420 425 430

30 Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser
435 440 445

35 Asn Asn Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro
450 455 460

40 Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile
465 470 475 480

45 Ala Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu
485 490 495

50 Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val
500 505 510

55 Ala Ile Ala Ser Asn Ile Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln
515 520 525

60 Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln
530 535 540

65 Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Asn Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr
545 550 555 560

70 Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro
565 570 575

ES 2 785 329 T3

5 Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu
 580 585 590

10 Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu
 595 600 605

15 Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Asn Gly Gly Lys Gln
 610 615 620

20 Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His
 625 630 635 640

25 Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly Gly
 645 650 655

30 Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln
 660 665 670

35 Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Ile
 675 680 685

40 Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu
 690 695 700

45 Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser
 705 710 715 720

50 Asn Asn Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro
 725 730 735

55 Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala Ile
 740 745 750

60 Ala Ser Asn Gly Gly Gly Arg Pro Ala Leu Glu Ser Ile Val Ala Gln
 755 760 765

65 Leu Ser Arg Pro Asp Pro Ala Leu Ala Ala Leu Thr Asn Asp His Leu
 770 775 780

70 Val Ala Leu Ala Cys Leu Gly Gly Arg Pro Ala Leu Asp Ala Val Lys
 785 790 795 800

ES 2 785 329 T3

5 Lys Gly Leu Pro His Ala Pro Ala Leu Ile Lys Arg Thr Asn Arg Arg
805 810 815

10 Ile Pro Glu Arg Thr Ser His Arg Val Ala Gly Ser Gln Leu Val Lys
820 825 830

15 Ser Glu Leu Glu Glu Lys Lys Ser Glu Leu Arg His Lys Leu Lys Tyr
835 840 845

20 Val Pro His Glu Tyr Ile Glu Leu Ile Glu Ile Ala Arg Asn Ser Thr
850 855 860

25 Gln Asp Arg Ile Leu Glu Met Lys Val Met Glu Phe Phe Met Lys Val
865 870 875 880

30 Tyr Gly Tyr Arg Gly Lys His Leu Gly Gly Ser Arg Lys Pro Asp Gly
885 890 895

35 Ala Ile Tyr Thr Val Gly Ser Pro Ile Asp Tyr Gly Val Ile Val Asp
900 905 910

40 Thr Lys Ala Tyr Ser Gly Gly Tyr Asn Leu Pro Ile Gly Gln Ala Asp
915 920 925

45 Glu Met Gln Arg Tyr Val Glu Glu Asn Gln Thr Arg Asn Lys His Ile
930 935 940

50 Asn Pro Asn Glu Trp Trp Lys Val Tyr Pro Ser Ser Val Thr Glu Phe
945 950 955 960

55 Lys Phe Leu Phe Val Ser Gly His Phe Lys Gly Asn Tyr Lys Ala Gln
965 970 975

60 Leu Thr Arg Leu Asn His Ile Thr Asn Cys Asn Gly Ala Val Leu Ser
980 985 990

65 Val Glu Glu Leu Leu Ile Gly Gly Glu Met Ile Lys Ala Gly Thr Leu
995 1000 1005

70 Thr Leu Glu Glu Val Arg Arg Lys Phe Asn Asn Gly Glu Ile Asn
1010 1015 1020

Phe

5

<210> 81

<211> 1024

<212> PRT

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Xanthomonas ssp, Zea mays

15 <400> 81

Met Gly Lys Pro Ile Pro Asn Pro Leu Leu Gly Leu Asp Ser Thr Gly

1 5 10 15

20

Gly Met Ala Pro Lys Lys Lys Arg Lys Val Asp Gly Gly Val Asp Leu

20 25 30

25 Arg Thr Leu Gly Tyr Ser Gln Gln Gln Gln Glu Lys Ile Lys Pro Lys

35 40 45

Val Arg Ser Thr Val Ala Gln His His Glu Ala Leu Val Gly His Gly

30 50 55 60

Phe Thr His Ala His Ile Val Ala Leu Ser Gln His Pro Ala Ala Leu

65 70 75 80

35

Gly Thr Val Ala Val Lys Tyr Gln Asp Met Ile Ala Ala Leu Pro Glu

85 90 95

40

Ala Thr His Glu Ala Ile Val Gly Val Gly Lys Gln Trp Ser Gly Ala

100 105 110

45 Arg Ala Leu Glu Ala Leu Leu Thr Val Ala Gly Glu Leu Arg Gly Pro

115 120 125

Pro Leu Gln Leu Asp Thr Gly Gln Leu Leu Lys Ile Ala Lys Arg Gly

50 130 135 140

Gly Val Thr Ala Val Glu Ala Val His Ala Trp Arg Asn Ala Leu Thr

145 150 155 160

55

ES 2 785 329 T3

Gly Ala Pro Leu Asn Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser
 165 170 175

5 His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro
 180 185 190

10 Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile
 195 200 205

15 Ala Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu
 210 215 220

20 Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val
 225 230 235 240

25 Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln
 245 250 255

30 Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln
 260 265 270

35 Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Ile Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr
 275 280 285

40 Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro
 290 295 300

45 Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Ile Gly Gly Lys Gln Ala Leu
 305 310 315 320

50 Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu
 325 330 335

55 Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Ile Gly Gly Lys Gln
 340 345 350

Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His
 355 360 365

Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly Gly
 370 375 380

ES 2 785 329 T3

Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln
 385 390 395 400

5 Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Ile
 405 410 415

10 Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu
 420 425 430

15 Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser
 435 440 445

20 Asn Ile Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro
 450 455 460

25 Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile
 465 470 475 480

30 Ala Ser Asn Ile Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu
 485 490 495

35 Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val
 500 505 510

40 Ala Ile Ala Ser Asn Asn Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln
 515 520 525

45 Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln
 530 535 540

50 Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Asn Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr
 545 550 555 560

55 Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro
 565 570 575

60 Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Ile Gly Gly Lys Gln Ala Leu
 580 585 590

65 Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu
 595 600 605

ES 2 785 329 T3

Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Asn Gly Gly Lys Gln
610 615 620

5 Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His
625 630 635 640

10 Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Asn Gly Gly
645 650 655

15 Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln
660 665 670

20 Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly
675 680 685

25 Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu
690 695 700

30 Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser
705 710 715 720

35 His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro
725 730 735

40 Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala Ile
740 745 750

45 Ala Ser His Asp Gly Gly Arg Pro Ala Leu Glu Ser Ile Val Ala Gln
755 760 765

50 Leu Ser Arg Pro Asp Pro Ala Leu Ala Ala Leu Thr Asn Asp His Leu
770 775 780

55 Val Ala Leu Ala Cys Leu Gly Gly Arg Pro Ala Leu Asp Ala Val Lys
785 790 795 800

Lys Gly Leu Pro His Ala Pro Ala Leu Ile Lys Arg Thr Asn Arg Arg
805 810 815

Ile Pro Glu Arg Thr Ser His Arg Val Ala Gly Ser Gln Leu Val Lys
820 825 830

55

ES 2 785 329 T3

Ser Glu Leu Glu Glu Lys Lys Ser Glu Leu Arg His Lys Leu Lys Tyr
835 840 845

5 Val Pro His Glu Tyr Ile Glu Leu Ile Glu Ile Ala Arg Asn Ser Thr
850 855 860

10 Gln Asp Arg Ile Leu Glu Met Lys Val Met Glu Phe Phe Met Lys Val
865 870 875 880

15 Tyr Gly Tyr Arg Gly Lys His Leu Gly Gly Ser Arg Lys Pro Asp Gly
885 890 895

20 Ala Ile Tyr Thr Val Gly Ser Pro Ile Asp Tyr Gly Val Ile Val Asp
900 905 910

25 Thr Lys Ala Tyr Ser Gly Gly Tyr Asn Leu Pro Ile Gly Gln Ala Asp
915 920 925

30 Glu Met Gln Arg Tyr Val Glu Glu Asn Gln Thr Arg Asn Lys His Ile
930 935 940

35 Asn Pro Asn Glu Trp Trp Lys Val Tyr Pro Ser Ser Val Thr Glu Phe
945 950 955 960

40 Lys Phe Leu Phe Val Ser Gly His Phe Lys Gly Asn Tyr Lys Ala Gln
965 970 975

45 Leu Thr Arg Leu Asn His Ile Thr Asn Cys Asn Gly Ala Val Leu Ser
980 985 990

50 Val Glu Glu Leu Leu Ile Gly Gly Glu Met Ile Lys Ala Gly Thr Leu
995 1000 1005

55 Thr Leu Glu Glu Val Arg Arg Lys Phe Asn Asn Gly Glu Ile Asn
1010 1015 1020

Phe

<210> 82
<211> 4032
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

ES 2 785 329 T3

<220>

<223> Xanthomonas ssp, Zea mays

5 <400> 82
atggctagct ccccccgaa gaagaagagg aaggtcagct ggaaggatgc tagcggctgg 60
agcaggatgc acgctgatcc aatcaggccg aggaggccaa gccagcaag ggagctgctg 120
10 ccaggccac agccagatag ggtgcagcca accgccgata gggcgctgag cgctccagct 180
ggcagcccgc tggatggcct gccagctagg aggaccgtga gcaggaccag gctgccgagc 240
ccaccagctc cgagcccagc cttcagcgtc ggcagcttca gcgatctgct gaggccattc 300
15 gatccgagcc tgctggatac atcgctgctg gatagcatgc cagctgtggg cacccacac 360
accgctgctg ctccagctga gtgggatgag atgcagtccg ccctccgagc cgccgacgac 420
20 ccgccccaa ccgtgagggt ggccgtgacc gctgctaggc cgccaagggc taagccagct 480
ccaaggagga gggcccgtca gccaaagcag gctagccccg ccgagcaggc cgacctcagg 540
accctgggct acagccagca gcagcaggag aagatcaagc cgaaggtgag gagcaccgtg 600
25 gcccagcacc acgaggctct ggtgggcccac ggcttcccc acgctcacat cgtggccctg 660
agccagcacc cagctgctct gggcaccgtg gctgtgacct accagcacat catcaccgcc 720
30 ctgccagagg ctaccacga ggacatcgtg ggcgtgggca agcagtggag cggcgctagg 780
gccctggagg ctctgctgac cgatgctggc gagctgaggg gccaccgct ccagctggat 840
accggccagc tggatgaagat cgccaagagg ggcggcgtga ccgctatgga ggctgtgac 900
35 gccagcagga acgctctgac cggcgtcca ctgaacctga cccccacca ggtggtggcc 960
atcgcgagca acatcggcgg caagcaggct ctcgaaaccg tgagaggct gctcccggctg 1020
40 ctgtgccagg cccacggcct cccccagac caggctcgtc cgatcgcctc ccacgatggc 1080
ggcaagcagg ccctggagac tgtgcagcgc ctgctgcccg tcctgtgcca ggaccacggc 1140
ctcaccggg agcaggctgt cgctatcgtc agcaacatcg gcggcaagca ggcgctcgaa 1200
45 accgtccaga ggctcctccc agtctctgac caggatcacg gcctgacccc ggatcaggctg 1260
gtcgccatcg cttcccagca tggcggcaag caggcgtgg agactgtcca gcgctctc 1320
50 ccagtctct gccaggcga cggcctcacc cccgatcagg tcgtggcgat cgcgagcaac 1380
aacggcggca agcaggctct cgaaaccgtg cagaggctgc tgccgggtgct ctgccaggct 1440
cacggcctga ccccagacca ggtggtggct atgcctcca acggcggcgg caagcaggcc 1500
55 ctggagactg tgagaggct cctcccgtc ctgtgccagg cccacggcct cccccagag 1560

ES 2 785 329 T3

caggctcgtcg cgatcgctag caacatcggc ggcaagcagg ccctggagac tgtgagagg 1620
 5 ctgctcccag tcctgtgcca ggcccacggc ctgacccccg agcagggtgtg cgcgatcgcg 1680
 agccacgacg gcggcaagca ggcgctcga accgtccaga ggctcctccc cgtgctctgc 1740
 caggatcacg gcctgacccc agagcagggtg gtggctatcg cgagcaacgg cggcggcaag 1800
 10 caggctctcg aaacctcca gaggctctc ccagtgtct gccaggctca cggcctcacc 1860
 ccggaccagg tcgtgccat cgcttcaac atcggcggca agcaggctct cgaaacctg 1920
 cagaggctgc tcccggtgct gtgccaggcc cacggcctca cccagacca ggtcgtcgcg 1980
 15 atcgctcca acatcggcgg caagcaggcc ctggagactg tgcagcgcct gctgccgctc 2040
 ctgtgccagg accacggcct cccccggag caggctcgtc ctatcgctag caacggcggc 2100
 20 ggcaagcagg cgctcgaac cgtccagagg ctctcccag tcctctgcca ggatcacggc 2160
 ctgacccccg atcagggtgtg cgcatcgtc tcccacgatg gcggcaagca ggcgctggag 2220
 actgtccagc gcctcctccc agtcctctgc caggcgcacg gcctacccc cgatcaggctc 2280
 25 gtggcgatcg cgagcaaaa cggcggcaag caggctctcg aaacctgca gaggctgctg 2340
 ccggtgctct gccaggctca cggcctgacc ccagaccagg tgggtgctat gcctccaac 2400
 30 ggcggcggca agcaggcct ggagactgtg cagaggctcc tccggtcct gtgccaggcc 2460
 cacggcctca cccccgagca ggtcgtcgcg atcgctagca acaacggcgg caagcaggcc 2520
 ctggagactg tgcagaggct gctcccagtc ctgtgccagg cccacggcct gacccccgag 2580
 35 cagggtgctc cgatcgcgag ccacgacggc ggcaagcagg cgctcgaac cgtccagagg 2640
 ctctccccg tgctctgcca ggatcacggc ctacccccg accaggtcgt ggctatcgcg 2700
 40 tccaacggcg gcaagcaggc tctcagagc atcgtggccc agctgagcag gccggacccg 2760
 gccctggccg ccctgaccaa cgatcacctg gtggctctgg cctgcctggg cggcaggcca 2820
 gccatggacg ctgtgaagaa gggcctgccc cacgctccag agctgatccg cagggtgaac 2880
 45 aggaggatcg gcgagaggac cagccacagg gtggccgact acgctcaggt ggtgagggtg 2940
 ctggagtctc tccagtcca cagccacccc gcctacgctc tcgacgaggc tatgaccag 3000
 50 ttccgcatga gcaggaacgg cctggtcagc ctgttcagga ggggtggcgt gaccgagctg 3060
 gaggctaggg gcggcacct gccgccagct agccagagggt gggaccgcat cctccaggcc 3120
 agcggcatga aaagggctaa gccaaagccc accagcgtc agaccccaga tcaggctagc 3180
 55 ctgcacgctt tcgccagac cctggagagg gatctggatg ctccgagccc aatgcacgag 3240

ES 2 785 329 T3

ggcgaccaga ccagggccag cagcaggaag aggagcagga gcgacagggc tgtgaccggc 3300

5 ccgagcggc agcaggctgt ggaggtgagg gtgccagagc agagggatgc cctgcacctg 3360

ccgctgagct ggagggtgaa gaggccaagg accaggatct ggggcccct gccagatccg 3420

ggcaccctaa ccgctgctga tcagctcgtg aagagcgagc tggaggagaa gaagagcgag 3480

10 ctgaggcata aactgaagta cgtgccacac gactacatcg agctgatcga gatgccagg 3540

aacagcacc aggatcgcct cctggagatg aagtgatgg agttctcat gaaagtgtac 3600

15 ggctacaggg gcaagcacct gggcggcagc aggaagccag atggcgcct ctacaccgtg 3660

ggcagcccaa tcgactacgg cgtgatcgtg gataccaagg cttacagcgg cggctacaac 3720

ctgccgatcg gccaggctga tgatgacag aggtacgtgg aggagaatca aaccaggaac 3780

20 aagcacatca acccaaacga gtggtggaag gtgtaccga gcagcgtgac cgagttcaag 3840

ttcctgttc tgagcggcca cttcaaggc aactacaagg ctcagctcac caggctgaac 3900

25 cacatcacca actgcaacgg cgccgtgctg agcgtggagg agctgctgat cggcggcgag 3960

atgatcaagg ctggcacct gaccctggag gaggtagga ggaagttcaa caacggcgag 4020

atcaacttct ga 4032

30 <210> 83
<211> 3114
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

35 <220>
<223> Xanthomonas ssp, Zea mays

<400> 83

40 atggctagct cccccgaa gaagaagagg aagtcagct ggaaggatgc tagcggctgg 60

agcaggatgc acgctgatcc atggccaagg aggagggccg ctcagccaag cgatgctagc 120

ccccccgc aggtcgacct caggacctg ggctacagcc agcagcagca ggagaagatc 180

45 aagccgaagg tgaggagcac cgtggcccag caccacgagg ctctggtggg ccacggcttc 240

accacgctc acatcgtggc cctgagccag caccagctg ctctgggcac cgtggctgtg 300

50 acctaccagc acatcatcac cgcctgcca gaggctacc acgaggacat cgtgggctg 360

ggcaagcagt ggagcggcgc tagggccctg gaggctctgc tgaccgatgc tggcgagctg 420

aggggcccac cgctccagct ggataccggc cagctggtga agatcgccaa gaggggcccg 480

55 gtgaccgcta tggaggctgt gcacgccagc aggaacgctc tgaccggcgc tccactgaac 540

ES 2 785 329 T3

ctgacccccg accaggtggt ggccatcgcg agcaacatcg gcggcaagca ggctctcгаа 600

5 accgtgcaga ggctgctccc ggtgctgtgc caggcccacg gcctaccccc agaccaggtc 660

gtcgcgatcg cctcccacga tggcggcaag caggccctgg agactgtgca ggcctgctg 720

cccgtcctgt gccaggacca cggcctcacc ccggagcagg tcgtcgtat cgctagcaac 780

10 atcggcggca agcaggcgct cgaaacctgc cagaggctcc tcccagtcct ctgccaggat 840

cacggcctga ccccgatca ggtggtgcc atcgctccc acgatggcgg caagcaggcg 900

ctggagactg tccagcgct cctcccagtc ctctgccagg cgcacggcct cccccgat 960

15 caggtcgtgg cgatcgcgag caacaacggc ggcaagcagg ctctcгааac cgtgcagagg 1020

ctgctgccgg tgcttgcca ggctcacggc ctgaccccag accaggtggt ggctatcgcc 1080

20 tccaacggcg gcggcaagca ggccctggag actgtgcaga ggctcctccc ggtcctgtgc 1140

caggcccacg gcctaccccc cgagcaggtc gtcgcgatcg ctagcaacat cggcggcaag 1200

caggccctgg agactgtgca gaggctgctc ccagtctgt gccaggccca cggcctgacc 1260

25 cccgagcagg tggtcgcgat cgcgagccac gacggcggca agcaggcgct cgaaacctgc 1320

cagaggctcc tccccgtct ctgccaggat cacggcctga cccagagca ggtggtggct 1380

30 atcgcgagca acggcggcg caagcaggct ctcгааaccg tccagaggct cctcccagtg 1440

ctctgccagg ctacggcct cccccggac caggtcgtcg ccatcgcttc caacatcggc 1500

ggcaagcagg ctctcгааac cgtgcagagg ctgctcccgg tgcttgcca ggcccacggc 1560

35 ctaccccag accaggtcgt cgcgatcgcc tccaacatcg gcggcaagca ggccctggag 1620

actgtgcagc gcctgctgcc cgtcctgtgc caggaccacg gcctaccccc ggagcaggtc 1680

40 gtcgctatcg ctagcaacgg cggcggcaag caggcgctcg aaacctcca gaggctcctc 1740

ccagtctct gccaggatca cggcctgacc ccgatcagg tggtcgcat cgcttcccac 1800

gatggcggca agcaggcgct ggagactgtc cagcgcctcc tcccagtcct ctgccaggcg 1860

45 cacggcctca cccccgatca ggtcgtggcg atcgcgagca acaacggcgg caagcaggct 1920

ctcгааaccg tgcaaggct gctgccggtg ctctgccagg ctacggcct gaccccagac 1980

50 caggtggtgg ctatgcctc caacggcggc ggcaagcagg ccctggagac tgtgcagagg 2040

ctcctcccgg tccttgcca ggcccacggc ctacccccg agcaggtcgt cgcgatcgct 2100

agcaacaacg gcggcaagca ggccctggag actgtgcaga ggctgctccc agtcctgtgc 2160

55 caggcccacg gcctgacccc cgagcaggtg gtcgcgatcg cgagccacga cggcggcaag 2220

ES 2 785 329 T3

caggcgctcg aaacctcca gaggctcctc cccgtgctct gccaggatca cggcctcacc 2280
 5 cccgaccagg tcgtggctat cgcgtccaac ggcggcaagc aggctctcga gagcatcgtg 2340
 gcccagctga gcaggccgga cccggccctg gccgccctga ccaacgatca cctggtggct 2400
 ctggcctgcc tgggcggcag gccagccatg gacgctgtga agaagggcct gccgcacgct 2460
 10 ccagagctga tccgagggt gaacaggagg atcggcgaga ggaccagcca cagggtggcc 2520
 ctgcagctcg tgaagagcga gctggaggag aagaagagcg agctgaggca taaactgaag 2580
 tacgtccac acgagtacat cgagctgac gagatcgcca ggaacagcac ccaggatcgc 2640
 15 atcctggaga tgaagtgat ggagttctc atgaaagtgt acggctacag gggcaagcac 2700
 ctggcggca gcaggaagcc agatggcgc atctacaccg tggcgagccc aatcgactac 2760
 20 ggcgtgatcg tggatacaca ggcttacagc ggcggctaca acctgccgat cggccaggct 2820
 gatgagatgc agaggtacgt ggaggagaat caaaccagga acaagcacat caaccctaac 2880
 gagtgggtga aggtgtacc gagcagcgtg accgagttca agttcctgtt cgtgagcggc 2940
 25 cacttaagg gcaactacaa ggctcagctc accaggctga accacatcac caactgcaac 3000
 ggcccgtgc tgagcgtgga ggagctgctg atcggcggcg agatgatcaa ggctggcacc 3060
 30 ctgaccctgg aggagtgag gaggaagttc aacaacggcg agatcaactt ctga 3114

 <210> 84
 <211> 3930
 35 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Xanthomonas ssp, Zea mays
 40
 <400> 84
 atggctagct ccccccgaa gaagaagagg aaggtcagct ggaaggatgc tagcggctgg 60
 agcaggatgc acgtgatcc aatcaggccg aggaggccaa gccagcaag ggagctgctg 120
 45 ccaggccac agccagatag ggtgcagcca accgccgata gggcgtgag cgctccagct 180
 ggagcccg cttgatggcct gccagctagg aggaccgtga gcaggaccag gctgccgagc 240
 50 ccaccagctc cgagcccagc cttcagcgtt gccagcttca gcgatctgct gaggccattc 300
 gatccgagcc tgctggatac atcgtgctg gatagcatgc cagctgtggg caccacac 360
 accgctgctg ctccagctga gtgggatgag atgcagtccg ccctccgcg cgccgacgac 420
 55 ccgcccaaa ccgtgagggt ggccgtgacc gctgctaggc cgccaagggc taagccagct 480

ES 2 785 329 T3

ccaaggagga gggccgctca gccaaagcga gctagccccg ccgcgaggt cgacctcagg 540
 5 accctgggct acagccagca gcagcaggag aagatcaagc cgaaggtgag gagcaccgtg 600
 gccagcacc acgaggctct ggtgggccac ggcttcacc acgctcacat cgtggccctg 660
 agccagcacc cagctgctct gggcaccgtg gctgtgacct accagcacat catcaccgcc 720
 10 ctgccagagg ctaccacga ggacatcgtg ggcgtgggca agcagtggag cggcgctagg 780
 gccctggagg ctctgctgac cgatgctggc gagctgaggg gccaccgct ccagctggat 840
 accggccagc tggtaagat cgccaagagg ggcggcgtga ccgctatgga ggctgtgac 900
 15 gccagcagga acgctctgac ggcgctcca ctgaacctga cccccacca ggtggtggcc 960
 atcgcgagcc acgacggcgg caagcaggct ctcgaaaccg tgcagaggct gctcccgtg 1020
 20 ctgtgccagg cccacggcct cccccagac caggctgctg cgatgcctc ccacatggc 1080
 ggcaagcagg ccctggagac tgtgcagcgc ctgctgcccg tcctgtgcca ggaccacggc 1140
 ctcaccccgg agcaggctgt cgctatcgt agcaacggcg gcggcaagca ggcgctcga 1200
 25 accgtccaga ggctcctcc agtcctctgc caggatcacg gcctgacccc ggatcaggtg 1260
 gtcgcatcg cttcaacaa cggcggcaag caggcgtgg agactgtcca ggcctcctc 1320
 30 ccagtctct gccaggcga cggcctcacc cccgatcagg tcgtggcgat cgcgagcaac 1380
 ggcggcggca agcaggctct cgaaaccgtg cagaggctgc tgccgtgct ctgccaggct 1440
 cacggcctga cccagacca ggtggtggct atcgctccc acgatggcgg caagcaggcc 1500
 35 ctggagactg tgcagaggct cctcccgtc ctgtgccagg cccacggcct cccccgag 1560
 caggctctcg cgatcgtag caacggcggc ggcaagcagg ccctggagac tgtcagagg 1620
 40 ctgctcccag tcctgtgcca ggcccacggc ctgacccccg agcaggtggt cgcgatcgcg 1680
 agcaacatcg gcggaagca ggcgctcga accgtccaga ggctcctcc cgtgctctgc 1740
 caggatcacg gcctgacccc agagcagggt gtggctatcg cgagccacga cggcggcaag 1800
 45 caggctctcg aaacctcca gaggctctc ccagtctct gccaggctca cggcctcacc 1860
 ccggaccagg tcgtgccat cgctccaac ggcggcggca agcaggctct cgaaaccgtg 1920
 50 cagaggctgc tcccgtgct gtgccaggcc cacggcctca cccagacca ggtcgtcgcg 1980
 atcgctcca acatcggcgg caagcaggcc ctggagactg tgcagcgcct gctcccgtc 2040
 ctgtgccagg accacggcct cccccggag caggctctg ctatcgtag ccacgacggc 2100
 55 ggcaagcagg cgctcgaac cgtccagagg ctctcccag tcctgtgcca ggatcacggc 2160

ES 2 785 329 T3

ctgacccccg atcaggtggt cgccatcgct tccaacaacg gcggcaagca ggcgctggag 2220
 5 actgtccagc gcctcctccc agtcctctgc caggcgcacg gcctacccc c gatcaggtc 2280
 gtggcgatcg cgagcaacgg cggcggcaag caggctctcg aaacctgca gaggctgctg 2340
 ccggtgctct gccaggctca cggcctgacc ccagaccagg tgggtgctat cgctccaac 2400
 10 aacggcggca agcaggcct ggagactgtg cagaggctcc tcccagtct gtgccaggcc 2460
 cacggcctga cccccagca ggtggtcgcg atcgcgagcc acgacggcgg caagcaggcg 2520
 ctcgaaaccg tccagaggct cctccccgtg ctctgccagg atcacggcct ccccccgac 2580
 15 caggtcgtgg ctatcgcgtc caacggcggc aagcaggctc tcgagagcat cgtggcccag 2640
 ctgagcaggc cggacccggc cctggccgcc ctgaccaacg atcacctggt ggctctggcc 2700
 20 tgctgggcg gcaggccagc catggacgct gtgaagaagg gcctccgca cgctccagag 2760
 ctgatccgca gggatgaacg gaggatcggc gagaggacca gccacagggt ggccgactac 2820
 gctcaggtgg tgagggtgct ggagtcttc cagtgccaca gccacccggc ctacgccttc 2880
 25 gacgaggcta tgaccagtt cggcatgagc aggaacggcc tggtcagct gttcaggagg 2940
 gtggcgctga ccgagctgga ggctaggggc ggcaacctgc cgccagctag ccagaggtgg 3000
 30 gaccgcatcc tccaggccag cggcatgaaa agggctaagc caagcccagc cagcgctcag 3060
 accccagatc aggctagcct gcacgcttc gccgacagcc tggagaggga tctggatgct 3120
 ccgagcccaa tgcacgaggg cgaccagacc agggccagca gcaggaagag gagcaggagc 3180
 35 gacagggctg tgaccggccc gagcggccag caggctgtgg aggtgagggt gccagagcag 3240
 agggatgccc tgcacctgcc gctgagctgg agggatgaaga ggccaaggac caggatctgg 3300
 40 ggcggcctgc cagatccggg caccceaacc gctgctgac agctcgtgaa gagcgagctg 3360
 gaggagaaga agagcgagct gaggcataaa ctgaagtacg tgccacacga gtacatcgag 3420
 ctgatcgaga tcgccaggaa cagcaccag gatcgcatcc tggagatgaa ggtgatggag 3480
 45 ttcttcatga aagtgtacgg ctacaggggc aagcacctgg gcggcagcag gaagccagat 3540
 ggcgcatct acacctggg cagcccaatc gactacggcg tgatcgtgga taccaaggct 3600
 50 tacagcggcg gctacaacct gccgatcggc caggctgatg agatgcagag gtactggag 3660
 gagaatcaaa ccaggaacaa gcacatcaac ccaaacgagt ggtggaaggt gtacccgagc 3720
 agcgtgaccg agttcaagtt cctgttcgtg agcggccact tcaagggcaa ctacaaggct 3780
 55 cagctacca ggtgaacca catcaccaac tgcaacggcg ccgtgctgag cgtggaggag 3840

ES 2 785 329 T3

ctgctgatcg gcggcgagat gatcaaggct ggcaccctga ccctggagga ggtgaggagg 3900

aagttcaaca acggcgagat caacttctga 3930

5

<210> 85
 <211> 3012
 <212> ADN
 10 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Xanthomonas ssp, Zea mays

15 <400> 85
 atggctagct ccccccgaa gaagaagagg aaggtcagct ggaaggatgc tagcggctgg 60

agcaggatgc acgtgatcc atggccaagg aggagggccg ctcaaccaag cgatgctagc 120

20 cccgccgcg aggtcgacct caggacctg ggctacagcc agcagcagca ggagaagatc 180

aagccgaagg taggagcac cgtggcccag caccacgagg ctctggtggg ccacggcttc 240

acccacgctc acatcgtggc cctgagccag cacccagctg ctctggggcac cgtggctgtg 300

25 acctaccagc acatcatcac gcacctgcca gaggctaccc acgaggacat cgtgggcgtg 360

ggcaagcagt ggagcggcgc tagggcctg gaggctctgc tgaccgatgc tggcgagctg 420

30 agggggccac cgctccagct ggataccggc cagctggtga agatgccaa gaggggcggc 480

gtgaccgcta tggaggctgt gcacgccagc aggaacgctc tgaccggcgc tccactgaac 540

ctgacccccg accaggtggt ggccatcgcg agccacgacg gcggcaagca ggctctcga 600

35 accgtgcaga ggctgctccc ggtgctgtgc caggcccacg gcctacccc agaccaggtc 660

gtcgcgatcg cctcccagca tggcggcaag caggccctgg agactgtgca ggcctgctg 720

40 cccgtctgt gccaggacca cggcctcacc ccggagcagg tcgtcgtat cgtagcaac 780

ggcggcggca agcaggcgtc gaaaccgtc cagaggctcc tccagtcct ctgccaggat 840

cacggcctga ccccgatca ggtggtgcc atcgcttcca acaacggcgg caagcaggcg 900

45 ctggagactg tccagcgct cctcccagtc ctctgccagg cgcacggcct caccctgat 960

caggtcgtgg cgatcgcgag caacggcggc ggcaagcagg ctctgaaac cgtgcagagg 1020

50 ctgctgccgg tgcttgcca ggctcacggc ctgaccccag accaggtggt ggctatcgcc 1080

tcccacgatg gcggcaagca ggccctggag actgtgcaga ggctcctccc ggtcctgtg 1140

caggcccacg gcctacccc cgagcaggtc gtcgcgatcg ctgcaacgg cggcggcaag 1200

55 caggccctgg agactgtgca gaggctgctc ccagtcctgt gccaggccca cggcctgacc 1260

ES 2 785 329 T3

cccgagcagg tggctcgcgat cgcgagcaac atcggcggca agcaggcgct cgaaacctgc 1320
 5 cagaggctcc tccccgtgct ctgccaggat cacggcctga ccccagagca ggtggtggct 1380
 atcgcgagcc acgacggcgg caagcaggct ctcgaaaccg tccagaggct cctcccagtg 1440
 ctctgccagg ctacggcct caccgggac caggctctcg ccatcgcttc caacggcggc 1500
 10 ggcaagcagg ctctcgaac cgtgcagagg ctgctcccgg tgctgtgcca ggcccacggc 1560
 ctcaccccag accaggtcgt cgcgatgcc tccaacatcg gcgcaagca ggccctggag 1620
 actgtgcagc gcctgtgcc cgtcctgtgc caggaccacg gcctacccc ggagcaggtc 1680
 15 gtcgctatcg ctagccacga cggcggcaag caggcgtctg aaacctcca gaggctcctc 1740
 ccagtctct gccaggatca cggcctgacc ccgatcagg tggtcgcat cgcttcaac 1800
 20 aacggcggca agcaggcgct ggagactgtc cagcgctcc tccagtctct ctgccaggcg 1860
 cacggcctca ccccgatca ggtcgtggcg atcgcgagca acggcggcgg caagcaggct 1920
 ctcgaaacg tgcaaggct gtcgccgtg ctctgccagg ctacggcct gaccccagac 1980
 25 cagggtggtg ctatgcctc caacaacggc ggcaagcagg ccctggagac tgtcagagg 2040
 ctctcccag tcctgtgcca ggcccacggc ctgaccccc agcagggtgt cgcgatcgcg 2100
 30 agccacgacg gcgcaagca ggcgctcga accgtccaga ggctcctccc cgtgctctgc 2160
 caggatcacg gcctacccc cgaccaggtc gtggctatcg cgtccaacgg cggcaagcag 2220
 gctctcgaga gcatcgtggc ccagctgagc aggccggacc cggccctggc gcacctgacc 2280
 35 aacgatcacc tgggtgctct ggctgcctg ggccgagcag cagccatgga cgctgtgaag 2340
 aagggcctgc cgcacgctcc agagctgatc cgcagggtga acaggaggat cggcgagagg 2400
 40 accagccaca ggggtggcct gcagctcgtg aagagcgagc tggaggagaa gaagagcgag 2460
 ctgaggcata aactgaagta cgtgccacac gactacatcg agctgatcga gatgccagg 2520
 aacagcacc aggatcgcct cctggagatg aaggtgatgg agttctcat gaaagtgtac 2580
 45 ggctacaggg gcaagcact gggcggcagc aggaagccag atggcgccat ctacaccgtg 2640
 ggagcccaa tcgactacgg cgtgatcgtg gataccaagg cttacagcgg cggctacaac 2700
 50 ctcccgatcg gccaggctga tgagatcag aggtacgtgg aggagaaatca aaccaggaac 2760
 aagcacatca acccaacga gtggtggaag gtgtaccga gcagcgtgac cgagttcaag 2820
 55 ttctgttcg tgagcgcca cttcaaggc aactacaagg ctacgctcac caggctgaac 2880
 cacatcacca actgcaacgg ccctgtctg agcgtggagg agctgctgat cggcggcgag 2940

ES 2 785 329 T3

atgatcaagg ctggcacctt gaccctggag gaggtgagga ggaagttcaa caacggcgag 3000

atcaacttct ga 3012

5

<210> 86
 <211> 4032
 <212> ADN

10 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Xanthomonas ssp, Zea mays

15 <400> 86
 atggctagct ccccccgaa gaagaagagg aaggtcagct ggaaggatgc tagcggctgg 60

agcaggatgc acgtgatcc aatcaggccg aggaggccaa gccagcaag ggagctgctg 120

20 ccaggccac agccagatag ggtgcagcca accgccgata gggcgctgag cgctccagct 180

ggcagcccg tgatggcct gccagctagg aggaccgtga gcaggaccag gctgccgagc 240

ccaccagctc cgagcccagc cttcagcgtt ggcagcttca gcgatctgct gaggccattc 300

25 gatccgagcc tgctggatac atcgctgctg gatagcatgc cagctgtggg caccacac 360

accgctgctg ctccagctga gtgggatgag atgcagtccg ccctccgagc cgccgacgac 420

30 ccgccccaa ccgtgagggt ggccgtgacc gctgctaggc cgccaagggc taagccagct 480

ccaaggagga gggccgctca gccaaagcgt gctagccccg ccgagcaggt cgacctcagg 540

accctgggct acagccagca gcagcaggag aagatcaagc cgaaggtagg gagcaccgtg 600

35 gccagcacc acgaggctct ggtgggccc ggcttcccc acgctcacat cgtggccctg 660

agccagcacc cagctgctt ggcaccgtg gctgtgacct accagcacat catcaccgcc 720

40 ctgccagagg ctaccacga ggacatcgtg ggcgtgggca agcagtggag cggcgctagg 780

gccctggagg ctctgctgac cgatgctgac gagctgaggg gccaccgct ccagctggat 840

accggccagc tggatgaagat cgccaagagg ggcggcgtga ccgctatgga ggctgtgac 900

45 gccagcagga acgctctgac cggcgtcca ctgaacctga cccccacca ggtggtggcc 960

atcgcgagca acaacggcgg caagcaggct ctgaaaccg tgagaggct gctcccgtg 1020

50 ctgtgccagg cccacggcct cccccagac caggtcgtcg cgatgcctc ccacgatggc 1080

ggcaagcagg ccctggagac tgtgcagcgc ctgctgccc tcctgtgcca ggaccagcc 1140

ctcaccggc agcaggtcgt cgctatcgt agcaacatcg gcgcaagca ggcgctcga 1200

55 accgtccaga ggctcctccc agtcctctgc caggatcacg gcctgacccc ggatcaggtg 1260

ES 2 785 329 T3

gtcgcatcg cttccaacgg cggcggcaag caggcgctgg agactgtcca ggcctcctc 1320
 5 ccagtctct gccaggcgca cggcctcacc cccgatcagg tcgtggcgat cgcgagccac 1380
 gacggcggca agcaggctct cgaaacctg cagaggctgc tgccggtgct ctgccaggct 1440
 cacggcctga cccagacca ggtggtggct atgcctccc acgatggcgg caagcaggcc 1500
 10 ctggagactg tgcaaggct cctccggtc ctgtgccagg cccacggcct caccgccag 1560
 caggtcgtcg cgatcgctag caacaacggc ggcaagcagg ccctggagac tgtcagagg 1620
 ctgctccag tcctgtcca ggcccacggc ctgaccccc agcaggtggt cgcgatcgcg 1680
 15 agcaacggcg gcggaagca ggcgctgaa accgtccaga ggctcctccc cgtgctctgc 1740
 caggatcacg gcctgacccc agagcaggtg gtggctatcg cgagcaaaa cggcggcaag 1800
 20 caggctctcg aaacctcca gaggctcct ccagtgtct gccaggctca cggcctcacc 1860
 ccggaccagg tcgtgccat cgctccac gatggcggca agcaggctct cgaaacctg 1920
 cagaggctgc tccggtgct gtgccaggcc cacggcctca cccagacca gtcgctcgcg 1980
 25 atgcctcca acatggcgg caagcaggcc ctggagactg tgacgcct gctgccctc 2040
 ctgtgccagg accacggcct caccggag caggtcgtcg ctatcgctag caacaacggc 2100
 30 ggcaagcagg cgctgaaac cgtccagagg ctctcccag tccttgcca ggatcacggc 2160
 ctgaccccc atcaggtggt cgcatcgt tccaacggcg gcggaagca ggcgctggag 2220
 actgtccagc gcctcctccc agtcctctgc caggcgcacg gcctacccc cgatcaggtc 2280
 35 gtggcgatcg cgagcaaaa cggcggcaag caggctctcg aaacctgca gaggctgctg 2340
 ccggtgctct gccaggctca cggcctgacc ccagaccagg tgggtgctat cgctccac 2400
 40 gatggcggca agcaggcct ggagacttg cagaggctcc tccggtcct gtgccaggcc 2460
 cacggcctca ccccgagca gtcgctcgc atcgtagca acatggcgg caagcaggcc 2520
 ctggagactg tgcaaggct gctccagtc ctgtgccagg cccacggcct gaccccgag 2580
 45 caggtggtcg cgatcgag caacaacggc ggcaagcagg cgctgaaac cgtccagagg 2640
 ctctccccg tgcttgcca ggatcacggc tcacccccg accaggtcgt ggctatcgcg 2700
 50 tccaacggcg gcaagcaggc tctcgagagc atcgtggccc agctgagcag gccggacccg 2760
 gccctggcgg ccctgaccaa cgatcacctg gtggctctgg cctgcctggg cggcaggcca 2820
 gccatggacg ctgtgaagaa ggcctgccc cacgctccag agctgatccg cagggtgaac 2880
 55 aggaggatcg gcgagaggac cagccacagg gtggccgact acgctcaggt ggtgagggtg 2940

ES 2 785 329 T3

ctggagtct tccagtcca cagccaccgc gcctacgcct tcgacgaggc tatgaccag 3000

5 ttcggcatga gcaggaacgg cctggtgcag ctgttcagga gggtgggctg gaccgagctg 3060

gaggctaggg gcggcacct gccgccagct agccagaggt gggaccgcat cctccaggcc 3120

agcggcatga aaagggctaa gccaaagccc accagcgtc agaccccaga tcaggctagc 3180

10 ctgcacgctt tcgccgacag cctggagagg gatctggatg ctccgagccc aatgcacgag 3240

ggcgaccaga ccagggccag cagcaggaag aggagcagga gcgacagggc tgtgaccggc 3300

ccgagcggc agcaggctgt ggaggtgagg gtgccagagc agagggatgc cctgcacctg 3360

15 ccgctgagct ggaggggtaa gaggccaagg accaggatct ggggcccct gccagatccg 3420

ggcaccctaa ccgctgctga tcagctctg aagagcagc tggaggagaa gaagagcgag 3480

20 ctgaggcata aactgaagta cgtgccacac gactacatc agctgatcga gatgccagg 3540

aacagcacc aggatcgc cctggagatg aagtgatgg agttctcat gaaagtgtac 3600

ggctacaggg gcaagcacct gggcggcagc aggaagccag atggcggcat ctacaccgtg 3660

25 ggagcccaa tcgactacgg cgtgatcgtg gataccaagg cttacagcgg cggctacaac 3720

ctgccgatc gccaggctga tgatgcag aggtactgg aggagaatca aaccaggaac 3780

30 aagcacatca acccaaacga gtggtggaag gtgtaccga gcagcgtgac cgagttcaag 3840

ttcctgttc tgagcggcca cttcaaggc aactacaagg ctacgctcac caggctgaac 3900

cacatcacca actgcaacgg gccctgctg agcgtggagg agctgctgat cggcggcgag 3960

35 atgatcaagg ctggcacct gaccctggag gaggtgagga ggaagttcaa caacggcgag 4020

atcaacttct ga 4032

40 <210> 87
<211> 3114
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

45 <220>
<223> Xanthomonas ssp, Zea mays

<400> 87

50 atggctagct cccccgaa gaagaagagg aaggtcagct ggaaggatgc tagcggctgg 60

agcaggatgc acgctgatcc atggccaagg aggagggccg ctacccaag cgatgctagc 120

cccggcgc aggtcgacct caggacctg ggctacagcc agcagcagca ggagaagatc 180

55 aagccgaagg tgaggagcac cgtggcccag caccacgagg ctctggtggg ccacggcttc 240

ES 2 785 329 T3

acccacgctc acatcgtggc cctgagccag caccagctg ctctgggcac cgtggctgtg 300
 5 acctaccagc acatcatcac cgcctgccag gaggctacc acgaggacat cgtgggcgtg 360
 ggcaagcagt ggagcggcgc tagggccctg gaggctctgc tgaccgatgc tggcgagctg 420
 aggggcccac cgctccagct ggataccggc cagctggtga agatcgccaa gaggggcggc 480
 10 gtgaccgcta tggaggctgt gcacgccagc aggaacgctc tgaccggcgc tccactgaac 540
 ctgacccccg accaggtggt ggccatcgcg agcaacaacg gcggcaagca ggctctcga 600
 accgtgcaga ggctgctccc ggtgctgtgc caggcccacg gcctacccc agaccaggtc 660
 15 gtcgcatcg cctcccacga tggcggcaag caggccctgg agactgtgca ggcctgctg 720
 cccgtcctgt gccaggacca cggcctcacc ccggagcagg tcgtcgctat cgtagcaac 780
 20 atcggcggca agcaggcgct cgaaacgctc cagaggctcc tccagtctct ctgccaggat 840
 cacggcctga ccccgatca ggtggtcgcc atcgctcca acggcggcgg caagcaggcg 900
 ctggagactg tccagcgct cctccagtc ctctgccagg gcacggcct caccctgat 960
 25 caggtcgtgg cgatcgcgag ccacgacggc ggcaagcagg ctctcgaac cgtgcagagg 1020
 ctgctcccgg tgctctgcca ggctcacggc ctgaccccag accaggtggt ggctatcgcc 1080
 30 tcccacgatg gcggcaagca ggccctggag actgtgcaga ggctcctccc ggtcctgtgc 1140
 caggcccacg gcctacccc cgagcaggtc gtcgcatcg ctgcaacaa cggcggcaag 1200
 caggccctgg agactgtgca gaggctgtc ccagtctgt gccaggcca cggcctgacc 1260
 35 cccgagcagg tggctcgat cgcgagcaac ggccggcggca agcaggcgct cgaaacgctc 1320
 cagaggctcc tcccgtgct ctgccaggat cacggcctga cccagagca ggtggtggct 1380
 40 atcgcgagca acaacggcgg caagcaggct ctgaaaccg tccagaggct cctccagtg 1440
 ctctgccagg ctacggcct caccctggac caggtcgtcg ccatcgctc ccacgatggc 1500
 ggcaagcagg ctctcgaac cgtgcagagg ctgctcccgg tgctgtgcca ggcccacggc 1560
 45 ctaccccag accaggtcgt cgcatcgcc tccaacatcg gcggcaagca ggccctggag 1620
 actgtcagc gcctgctgcc cgtcctgtgc caggaccag gcctacccc ggagcaggtc 1680
 50 gtcgctatcg ctgcaacaa cggcggcaag caggcgtcgc aaacctcca gaggctcctc 1740
 ccagtctct gccaggatca cggcctgacc ccgatcagg tggtcgcat cgcttcaac 1800
 ggccggcggca agcaggcgct ggagactgtc cagcgcctcc tccagtctct ctgccaggc 1860
 55 cacggcctca ccccgatca ggtcgtggcg atcgcgagca acaacggcgg caagcaggct 1920

ES 2 785 329 T3

ctcgaaacg tgcagaggct gctgccggtg ctctgccagg ctacggcct gaccccagac 1980
 5 caggtggtgg ctatcgctc ccacgatggc ggcaagcagg ccctggagac tgtcagagg 2040
 ctctcccgg tcctgtgcca ggcccacggc tcacccccg agcaggtcgt cgcgatcgt 2100
 agcaacatcg gcggcaagca ggccctggag actgtgcaga ggctgctccc agtcctgtgc 2160
 10 caggcccacg gctgacccc cgagcaggtg gtcgcatcg cgagcaaca cggcggcaag 2220
 caggcgctcg aaacctca gaggctctc cccgtgctt gccaggatca cggcctcacc 2280
 cccgaccagg tcgtggctat cgcgtcaac ggcggaagc aggtctcga gagcatcgtg 2340
 15 gcccagctga gcaggccgga cccggccctg gccccctga ccaacgatca cctggtggct 2400
 ctggcctgcc tggcgggcag gccagccatg gacgctgta agaagggcct gccgcacgct 2460
 20 ccagagctga tccgcagggt gaacaggagg atcggcgaga ggaccagcca cagggtggcc 2520
 ctgcagctcg tgaagagcga gctggaggag aagaagagcg agctgaggca taaactgaag 2580
 tacgtccac acgagtacat cgagctgac gagatcgcca ggaacagcac ccaggatcgc 2640
 25 atcctggaga tgaaggtgat ggagttctt atgaaagtgt acggctacag gggcaagcac 2700
 ctggcgcca gcaggaagcc agatggcgcc atctacacc tggcgagccc aatcgactac 2760
 30 ggcgtgatcg tggatacaa ggcttacagc ggcggctaca acctccgat cggccaggct 2820
 gatgatgac agaggtacgt ggaggagaat caaaccagga acaagcacat caacccaac 2880
 gagggtgga aggtgtacc gagcagcgtg accgagtca agttctgtt cgtgagcggc 2940
 35 cactcaagg gcaactaca ggctcagctc accaggctga accacatcac caactgaac 3000
 ggcccgctg tgagcgtgga ggagctgctg atcggcgcg agatgatca ggctggcacc 3060
 40 ctgaccctgg aggagtgag gaggaagttc aacaacggcg agatcaact ctga 3114

<210> 88
 <211> 3075
 45 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Xanthomonas ssp, Zea mays

50 <400> 88
 atgggaaaac ctattcctaa tcctctgctg ggccctggatt ctaccggagg catggcccct 60
 aagaaaaagc ggaaggtgga cggcggagt gacctgagaa cactgggata ttctcagcag 120
 55 cagcaggaga agatcaagcc caagtgaga tctacagtgg cccagcacca cgaagccctg 180

ES 2 785 329 T3

gtgggacacg gatttacaca cgccacatt gtggccctgt ctcagcacc tgccgcctg 240

5 ggaacagtgg ccgtgaaata tcaggatatg attgccgcc tgcctgaggc cacacacgaa 300

gccattgtgg gagtgggaaa acagtgtct ggagccagag ccctggaagc cctgctgaca 360

gtggccggag aactgagagg acctctctg cagctggata caggacagct gctgaagatt 420

10 gccaaaagg gaggagtac cgcggtgaa gccgtgcacg cctggagaaa tgcctgaca 480

ggagcccctc tgaacctgac ccccgaacag gtggtggcca tgccagcaa caacggcggc 540

aagcaggccc tggaaaccgt gcagagactg ctgcccgtgc tgtgccaggc ccatggcctg 600

15 acacctgaac aggtggtggc tatgcctct cacgacggag gaaaacaggc tctggaaca 660

gtgcagcggc tgctgcctgt gctgtgtcag gctcacggct tgactccaga acagtggtg 720

20 gctattgctt ccaatattgg ggggaaacag gccctgaaa ctgtgcagcg cctgctgcca 780

gtgctgtgcc aggtcacgg actgaccccc gaacaggtgg tggccattgc cagcaacggc 840

ggcggcaagc aggccctgga aacctgcag agactgtgc ccgtgctgtg ccaggcccat 900

25 gccctgacac ctgaacaggt ggtggctatc gcctctcacg acggaggaaa acaggctctg 960

gaaacagtgc agcggctgct gcctgtgctg tgtcaggctc acggctgac tccagaacag 1020

30 gtggtggcta ttgctcca cgacggggg aaacaggccc tggaaactgt gcagcgcctg 1080

ctgccagtgc tgtgccaggc tcacgggctg acccccgaac aggtggtggc cattgccagc 1140

aacaacggcg gcaagcaggc cctggaacc gtgcagagac tgctcccgt gctgtgccag 1200

35 gccatggcc tgacacctga acaggtggtg gctatgcct ctaacggcgg aggaaaacag 1260

gctctgaaa cagtgcagcg gctgtgctt gtgctgttc aggtcacgg cttgactcca 1320

40 gaacaggtgg tggctattgc ttcaacaac ggggggaaac aggccctgga aactgtcag 1380

cgctgtgc cagtgtgtg ccaggctcac ggcctcactc ccgaacaggt ggtggccatt 1440

gccagccacg acggcgcaa gcaggccctg gaaaccgtgc agagactgct gccctgctg 1500

45 tgccaggccc atggcctgac acctgaacag gtggtggcta tcgctctaa tatcggagga 1560

aaacaggctc tggaaacagt gcagcggctg ctgctgtgc tgtgtcaggc tcacggctg 1620

50 actccagaac aggtggtggc tattgctcc aacaacgggg ggaaacaggc cctggaaact 1680

gtgcagcggc tgctgccagt gctgtgccag gctcacggac tgacccccga acagtggtg 1740

gccattgcca gcaacggcgg cggcaagcag gccctgaaa ccgtgcagag actgctgccc 1800

55 gtgctgtgcc aggccatgg cctgacacct gaacaggtgg tggctatgc cttaacaac 1860

ES 2 785 329 T3

ggaggaaaac aggctctgga aacagtgcag cggctgctgc ctgtgctgtg tcaggctcac 1920
 5 ggcttgactc cagaacaggt ggtggctatt gcttcccacg acggggggaa acaggccctg 1980
 gaaactgtgc agcgctgct gccagtgtg tgccaggctc acgggctgac ccccgaacag 2040
 gtggtggcca ttgccagcaa catcggcggc aagcaggccc tggaaaccgt gcagagactg 2100
 10 ctgcccgtgc tgtgccaggc ccatggcctg acacctgaac agtggtggc tatgcctct 2160
 aacaacggag gaaaacaggc tctggaaca gtgcagcggc tgctgcctgt gctgtgtcag 2220
 gctcacggct tgactccaca gcaggtctg gcaattgcta gcaacggcgg cggacggccc 2280
 15 gccctggaga gcattgtggc ccagtgtct agacctgatc ctgccctggc gccctgaca 2340
 aatgatcacc tgggtggcct ggctgtctg ggaggcagac ctgccctgga tgccgtgaaa 2400
 20 aaaggactgc ctacgcccc tgcctgatt aaaagaaca atagaagaat ccccgagcgg 2460
 acctctaca gaggggcgg atcccagctg gtgaaatctg agctggagga gaagaagtct 2520
 gagctgagac acaagctgaa gtactgcct cactgagaca tcgagctgat cgagatcgcc 2580
 25 agaaatagca cccaggatag aatcctggag atgaaggtga tggagttctt catgaaagtg 2640
 tacggctaca gaggaaagca tctgggagga agcagaaaac ctgacggagc cattataca 2700
 30 gtgggcagcc ctatcgatta tggcgtgatc gtggataca aggctacag cggaggctac 2760
 aatctgccta ttggacaggc cgatgatg cagagatac tggaggagaa ccaaaccagg 2820
 aacaagcata tcaaccctaa cgagtggagg aaggtgtacc ctctagcgt gaccgagttc 2880
 35 aagttcctgt ttgtgagcgg ccaactcaag ggcaattata aggcccagct gaccaggctg 2940
 aaccacatca caaattgtaa tggcggcgtg ctgtctgtgg aggaactgct gattggagga 3000
 40 gagatgatta aggccggaac actgacctg gaggaggtga gaagaaagt caacaacggc 3060
 gagatcaact tctga 3075
 45 <210> 89
 <211> 3828
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 50 <220>
 <223> Xanthomonas ssp, Zea mays
 <400> 89
 atggctagct ccccccgaa gaagaagagg aaggtcagct ggaaggatgc tagcggctgg 60
 55 agcaggatgc acgctgatcc aatcaggccg aggaggccaa gccagcaag ggagctgctg 120

ES 2 785 329 T3

ccaggccac agccagatag ggtgcagcca accgccgata ggggcgtgag cgctccagct 180
 ggagcccgcc tggatggcct gccagctagg aggaccgtga gcaggaccag gctgccgagc 240
 5 ccaccagctc cgagccagc cttcagcgtt ggcagcttca gcgatctgct gaggccattc 300
 gatccgagcc tgctggatac atcgtgctg gatagcatgc cagctgtggg cacccacac 360
 10 accgtgctg ctccagctga gtgggatgag atgcagtccg ccctccgcg cgccgacgac 420
 ccgcccaa ccgtgagggt ggcctgacc gctgctaggc cgcaagggc taagccagct 480
 ccaaggagga gggccgctca gccaaagcgt gctagccccg ccgagcaggt cgacctcagg 540
 15 accctgggct acagccagca gcagcaggag aagatcaagc cgaaggtgag gagcaccgtg 600
 gccagcacc acgaggctct ggtgggccac ggcttcacc acgctcacat cgtggccctg 660
 20 agccagcacc cagctgctt gggcaccgtg gctgtgacct accagcacat catcaccgcc 720
 ctgccagagg ctaccacga ggacatcgtg ggcgtgggca agcagtgag cggcgctagg 780
 gccctggagg ctctgctgac cgatgctggc gagctgagg gcccaccgct ccagctggat 840
 25 accggccagc tggtaagat cgcaagagg ggcggcgtga ccgctatgga ggctgtgac 900
 gccagcagga acgctctgac cggcgtcca ctgaacctga ccccgacca ggtggtggcc 960
 30 atcgcgagcc acgacggcgg caagcaggct ctgaaaccg tgacagaggct gctcccgggtg 1020
 ctgtgccagg cccacggcct caccagcagc caggctcgtc cgatcgctc ccacgatggc 1080
 ggcaagcagg ccctggagac tgtgagcgc ctgctgccc tcctgtgcca ggaccaggc 1140
 35 ctacccccg agcaggtcgt cgctatcgt agcaacggcg gcggcaagca ggcgctcga 1200
 accgtccaga ggctctccc agtctctgc caggatcacg gcctgaccc ggatcagggtg 1260
 40 gtcgcatcg ttccaacat cggcggaag caggcgtgg agactgtcca ggcctctc 1320
 ccagtctct gccagcgca cggcctcacc cccgatcagg tcgtggcgat cgcgagcaac 1380
 atcggcggca agcaggctct gaaaccgtg cagaggctgc tgccggtgct ctgccaggct 1440
 45 cacggcctga cccagacca ggtggtggt atgcctcca acatcggcgg caagcaggcc 1500
 ctggagactg tgacagaggct cctccagtc ctgtgccagg cccacggcct gacccccgag 1560
 50 cagggtgctg cgatcgagc ccacgacggc ggcaagcagg cgctgaaac cgtccagagg 1620
 ctctccccg tgcttgcca ggatcacggc ctgacccag agcagggtgt ggctatcgcg 1680
 agcaacatcg gcggcaagca ggctctcga accgtccaga ggctctccc agtgctctgc 1740
 55 caggctcacg gcctacccc ggaccaggtc gtcgcatcg ttccaacat cggcggaag 1800

ES 2 785 329 T3

caggctctcg aaacctgca gaggctgctc ccggtgctgt gccaggccca cggcctcacc 1860
 5 ccagaccagg tcgtcgcgat cgcctcaac atcggcggca agcaggccct ggagactgtg 1920
 cagcgcctgc tgcccgtcct gtgccaggac cacggcctca ccccgagca ggtcgtcgtc 1980
 atcgttagca acaacggcgg caagcaggcg ctgaaaccg tccagaggct cctcccagtc 2040
 10 ctctgccagg atcacggcct gaccccgat caggtggtcg ccatcgcttc caacaacggc 2100
 ggcaagcagg cgctggagac tgtccagcg ctctcccag tcctctgcca ggcgcacggc 2160
 ctcacccccg atcaggtcgt ggcgatcgc agcaacatcg gcggcaagca ggctctcгаа 2220
 15 accgtgcaga ggctgctgcc ggtgctctgc caggctcacg gcctgacccc agaccaggtg 2280
 gtggctatcg cctccaacaa cggcggcaag caggccctgg agactgtgca gaggctcctc 2340
 20 ccagtctgt gccaggccca cggcctgacc cccgagcagg tggtcgcgat cgcgagcaac 2400
 aacggcggca agcaggcgct cgaaacctc cagaggctcc tcccgtgct ctgccaggat 2460
 cacggcctca cccccacca ggtcgtggct atcgcgtcca acggcggcaa gcaggctctc 2520
 25 gagagcatcg tggcccagct gagcaggccg gaccggccc tggccgcctt gaccaacgat 2580
 cacctggtgg ctctggcctg cctggcggc aggccagcca tggacgctgt gaagaaggc 2640
 30 ctgccgcacg ctccagagct gatccgagg gtgaacagga ggatcgcgca gaggaccagc 2700
 cacagggtgg ccgactacg tcaggtggtg aggtgctgg agttcttcca gtgccacagc 2760
 caccggcct acgcttca cgaggctatg acccagttcg gcatgagcag gaacggcctg 2820
 35 gtgcagctgt tcaggagggt ggcctgacc gagctggagg ctaggggcgg caccctgccg 2880
 ccagctagcc agaggtggga ccgcatctc caggccagcg gcatgaaaag ggctaagcca 2940
 40 agcccacca gcctcagac cccagatcag gctagcctgc acgcttctgc cgacagcctg 3000
 gagagggatc tggatgctcc gagcccaatg cacgaggcg accagaccag ggccagcagc 3060
 aggaagagga gcaggagcga cagggtgtg accggcccga gcgccagca ggctgtggag 3120
 45 gtgagggtgc cagagcagag ggatgcctc cacctgccg tgagctggag ggtgaagagg 3180
 ccaaggacca ggatctgggg cggcctgcca gatccgggca cccaaccg tgctgatcag 3240
 50 ctctggaaga gcgagctgga ggagaagaag agcgagctga ggcataaact gaagtacgtg 3300
 ccacacgagt acatcagct gatcgagatc gccaggaaca gcaccagga tcgcatcctg 3360
 gagatgaagg tgatggagtt ttcatgaaa gtgtacggct acaggggcaa gcacctgggc 3420
 55 ggacagcagga agccagatgg cgcatctac accgtgggca gcccaatcga ctacggcgtg 3480

ES 2 785 329 T3

atcgtggata ccaaggctta cagcggcggc tacaacctgc cgatcggcca ggctgatgag 3540
 atgcagaggt acgtggagga gaatcaaacc aggaacaagc acatcaacc aaacgagtgg 3600
 5 tggaaagtgt acccgagcag cgtgaccgag ttcaagtcc tgttcgtgag cggccacttc 3660
 aagggaact acaaggctca gctcaccagg ctgaaccaca tcaccaactg caacggcgcc 3720
 10 gtgctgagcg tggaggagct gctgatcggc ggcgagatga tcaaggctgg caccctgacc 3780
 ctggaggagg tgaggaggaa gttcaacaac ggcgagatca acttctga 3828

 15 <210> 90
 <211> 2910
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 20 <220>
 <223> Xanthomonas ssp, Zea mays

 <400> 90
 atggctagct ccccccgaa gaagaagagg aaggtcagct ggaaggatgc tagcggctgg 60
 25 agcaggatgc acgctgatcc atggccaagg aggagggccg ctgagccaag cgatgctagc 120
 cccgccgctc aggtcgacct caggacctg ggctacagcc agcagcagca ggagaagatc 180
 30 aagccgaagg tgaggagcac cgtggcccag caccacgagg ctctggtggg ccacggcttc 240
 acccacgctc acatcgtggc cctgagccag cacccagctg ctctgggcac cgtggctgtg 300
 acctaccagc acatcatcac cgcctgccag gaggctacct acgaggacat cgtgggcgtg 360
 35 ggcaagcagt ggagcggcgc tagggcctg gaggctctgc tgaccgatgc tggcgagctg 420
 agggggccac cgctccagct ggataccggc cagctggtga agatcgcaa gaggggcggc 480
 40 gtgaccgcta tggaggctgt gcacgccagc aggaacgctc tgaccggcgc tccactgaac 540
 ctgacccccg accaggtggt ggccatcgcg agccacgacg gcggcaagca ggctctcga 600
 accgtgcaga ggctgctccc ggtgctgtgc caggcccacg gcctacccc agaccaggtc 660
 45 gtcgcatcg cctcccacga tggcggcaag caggccctgg agactgtgca ggcctgctg 720
 cccgtctgt gccaggacca cggcctcacc ccggagcagg tcgtcgctat cgctagcaac 780
 50 ggccggcgga agcaggcgtc cgaaacgctc cagaggctcc tccagtcct ctgccaggat 840
 cacggcctga ccccgatca ggtggtgcgc atcgctcca acatcggcgg caagcaggcg 900
 ctggagactg tccagcgcct cctcccagtc ctctccagg cgcacggcct caccctcgat 960
 55 caggtcgtgg cgatcgcgag caacatcggc ggcaagcagg ctctcgaac cgtgcagagg 1020

ES 2 785 329 T3

ctgctgccgg tgctctgcca ggctcacggc ctgaccccag accaggtggt ggctatcgcc 1080
 5 tccaacatcg gcggcaagca ggccctggag actgtgcaga ggctcctccc agtctctgtc 1140
 caggcccacg gctgacccc cgagcaggtg gtcgcatcg cgagccacga cggcggcaag 1200
 caggcgctcg aaacctca gaggctctc cccgtgctct gccaggatca cggcctgacc 1260
 10 ccagagcagg tggggctat cgcgagcaac atcggcggca agcaggctct cgaaacctc 1320
 cagaggctcc tccagtgtct ctgccaggct cacggcctca ccccgacca ggtcgtcgcc 1380
 atcgttcca acatcggcg caagcaggct ctcgaaaccg tgcaaggct gctcccgtg 1440
 15 ctgtgccagg cccacggcct caccacagac caggctctcg cgatgcctc caacatcggc 1500
 ggcaagcagg ccctggagac tgtgcagcgc ctgtgcccg tcctgtgcca ggaccacggc 1560
 20 ctcaccccgg agcaggtcgt cgctatcgct agcaacaacg gcggcaagca ggcgctcгаа 1620
 accgtccaga ggctcctccc agtctctgc caggatcacg gcctgacccc ggatcaggtg 1680
 gtcgcatcg cttcaacaa cggcggcaag caggcgctgg agactgtcca gcgctctc 1740
 25 ccagtctct gccaggcga cggcctcacc cccgatcagg tcgtggcgat cgcgagcaac 1800
 atcggcggca agcaggctct cgaaacctg cagaggctgc tgccggtgct ctgccaggct 1860
 30 cacggcctga cccagacca ggtgggtgct atcgctcca acaacggcgg caagcaggcc 1920
 ctggagactg tgcaaggct cctcccagtc ctgtgccagg cccacggcct gacccccgag 1980
 cagggtgctc cgatcgcgag caacaacggc ggcaagcagg cgctcгааac cgtccagagg 2040
 35 ctctccccg tgctctgcca ggatcacggc ctcacccccg accaggtcgt ggctatcgcg 2100
 tccaacggcg gcaagcaggc tctcagagc atcgtggccc agctgagcag gccggacccg 2160
 40 gccctggccg ccctgaccaa cgatcacctg gtggctctgg cctgcctggg cggcaggcca 2220
 gccatggacg ctgtgaagaa gggcctgccg cacgtccag agctgatccg cagggtgaac 2280
 aggaggatcg gcgagaggac cagccacagg gtggcctgc agctcgtgaa gagcgagctg 2340
 45 gaggagaaga agagcgagct gaggcataaa ctgaagtacg tgccacacga gtacatcgag 2400
 ctgatcgaga tcgccaggaa cagcaccag gatcgcattc tggagatgaa ggtgatggag 2460
 50 ttcttcatga aagtgtacgg ctacaggggc aagcacctgg gcggcagcag gaagccagat 2520
 ggcgcatct acacctggg cagcccaatc gactacggcg tgatcgtgga taccaaggct 2580
 tacagcggcg gctacaacct gccgatcggc caggctgatg agatgcagag gtactggag 2640
 55 gagaatcaaa ccaggaacaa gcatcaaac ccaaacgagt ggtggaaggt gtacccgagc 2700

ES 2 785 329 T3

agcgtgaccg agttcaagtt cctgttcgtg agcggccact tcaagggcaa ctacaaggct 2760
 5 cagctcacca ggctgaacca catcaccaac tgcaacggcg ccgtgctgag cgtggaggag 2820
 ctgctgatcg gcggcgagat gatcaaggct ggcaccctga ccctggagga ggtgaggagg 2880
 aagttcaaca acggcgagat caacttctga 2910
 10 <210> 91
 <211> 3075
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 15 <220>
 <223> Xanthomonas ssp, Zea mays
 <400> 91
 20 atgggaaaac ctattcctaa tcctctgctg ggcctggatt ctaccggagg catggccct 60
 aagaaaaagc ggaaggtgga cggcggagtg gacctgagaa cactgggata ttctcagcag 120
 cagcaggaga agatcaagcc caagtgaga tctacagtgg cccagcacca cgaagccctg 180
 25 gtgggacacg gatttacaca cgccacatt gtggccctgt ctacagacc tgccgcctg 240
 ggaacagtgg ccgtgaaata tcaggatatg attgccgcc tgcctgaggc cacacacgaa 300
 30 gccattgtgg gagggggaaa acagtgtct ggagccagag ccctggaagc cctgctgaca 360
 gtggccggag aactgagagg acctcctctg cagctggata caggacagct gctgaagatt 420
 gccaaaaggg gcggagtac cgcggtggaa gccgtgcacg cctggagaaa tgcctgaca 480
 35 ggagcccctc tgaacctgac ccccgaacag gtggtggcca tgccagcca cgacggcggc 540
 aagcaggccc tggaaaccgt gcagagactg ctgcccgtgc tgtgccaggc ccatggcctg 600
 40 acacctgaac aggtggtggc tatcgcctct cacgacggag gaaaacaggc tctggaaca 660
 gtgcagcggc tgctgcctgt gctgtgtcag gctcacggct tgactccaga acagtggtg 720
 gctattgctt ccaacggcgg ggggaaacag gccctggaaa ctgtgcagcg cctgctgcca 780
 45 gtgctgtgcc aggctcacgg actgaccccc gaacaggtgg tggccattgc cagcaacatc 840
 ggccgcaagc agccctgga aacctgcag agactgctgc ccgtgctgtg ccaggccat 900
 50 ggctgacac ctgaacaggt ggtggctatc gcctctaata tcggaggaaa acaggctctg 960
 gaaacagtgc agcggctgct gcctgtgctg tgcaggctc acggcttgac tccagaacag 1020
 gtggtggcta ttgcttcaa tattgggggg aaacaggccc tggaaactgt gcagcgcctg 1080
 55 ctgccagtgc tgtgccaggc tcacgggctg acccccgaac aggtggtggc cattgccagc 1140

ES 2 785 329 T3

caccagggcg gcaagcaggc cctggaacc gtgcagagac tgctgccctg gctgtgccag 1200
 5 gccatggcc tgacacctga acaggtggg gctatcgct ctaatatcg aggaaacag 1260
 gctctgaaa cagtgcagcg gctgctgct gtgctgtgc aggctcacgg cttgactcca 1320
 gaacaggtgg tggctattgc ttccaatatt ggggggaaac aggcctgga aactgtgcag 1380
 10 cgctgctgc cagtgtgtg ccaggctcac ggcctcactc ccgaacaggt ggtggccatt 1440
 gccagcaaca tcggcgcaa gcaggccctg gaaaccgtgc agagactgct gccctgctg 1500
 15 tgccaggccc atggcctgac acctgaacag gtggtggcta tcgctctaa caacggagga 1560
 aaacaggctc tggaaacagt gcagcggctg ctgctgtgc tgtgtcaggc tcacggcttg 1620
 actccagaac aggtggggc tattgcttc aacaacgggg ggaaacaggc cctggaaact 1680
 20 gtgcagcgc tgctgccagt gctgtgccag gctcacggac tgacccccga acaggtggg 1740
 gccattgcca gcaacatcg cggcaagcag gcctggaaa ccgtgcagag actgctgccc 1800
 gtgctgtcc aggccatgg cctgacacct gaacaggtgg tggctatgc cttaacaac 1860
 25 ggaggaaaac aggctctgga aacagtgcag cggctgctg ctgtgctgtg tcaggctcac 1920
 ggcttgactc cagaacaggt ggtggtatt gctccaaca acgggggaa acaggccctg 1980
 30 gaaactgtgc agcgcctgct gccagtgtg tgccaggctc acgggctgac ccccgaacag 2040
 gtggtggcca ttccagcaa cggcggcggc aagcaggccc tggaaaccgt gcagagactg 2100
 ctgcccgtgc tgtgccaggc ccatggcctg acacctgaac agtggtggc tatgcctct 2160
 35 caccagggag gaaaacaggc tctggaaca gtgcagcggc tgctgcctgt gctgtgtcag 2220
 gctcacggct tgactcaca gcaggtcgtg gcaattgcta gccacgacgg cggacggccc 2280
 40 gcctggaga gcattgtggc ccagctgtct agacctgatc ctgccctggc cgcctgaca 2340
 aatgatcacc tgggtggcct ggctgtctg ggaggcagac ctgccctgga tgccgtgaaa 2400
 aaaggactgc ctcacgccc tgccctgatt aaaagaaca atagaagaat ccccgagcgg 2460
 45 acctctaca gagggtggc atccagctg gtgaaatctg agctggagga gaagaagtct 2520
 gagctgagac acaagctgaa gtactgtcct cagagtaca tcgagctgat cgagatgcc 2580
 50 agaaatagca cccaggatag aatcctggag atgaaggtga tggagttct catgaaagt 2640
 tacggctaca gaggaaagca tctgggagga agcagaaaac ctgacggagc cattataca 2700
 gtgggcagcc ctatgatta tggcgtgatc gtggatacaa aggcctacag cggaggctac 2760
 55 aatctgcta ttgacaggc cgatgatg cagagatacg tggaggagaa ccaaaccagg 2820

ES 2 785 329 T3

aacaagcata tcaaccctaa cgagtgggtg aaggtgtacc cttctagcgt gaccgagttc 2880

5 aagttcctgt ttgtgagcgg ccacttcaag ggcaattata aggcccagct gaccaggctg 2940

aaccacatca caaattgtaa tggcgccgtg ctgtctgtgg aggaactgct gattggagga 3000

gagatgatta aggccggaac actgacactg gaggaggtga gaagaaagt caacaacggc 3060

10 gagatcaact tctga 3075

<210> 92
<211> 19

15 <212> ADN
<213> Zea mays

<400> 92
cacacctcgt tgccaaagc 19

20

<210> 93
<211> 21
<212> ADN

25 <213> Zea mays

<400> 93
catcgcgtcc taaacaaagg a 21

30

<210> 94
<211> 15
<212> ADN
<213> Zea mays

35

<400> 94
cctgtcctgc actgc 15

40 <210> 95
<211> 15
<212> ADN
<213> Zea mays

45 <400> 95
gcagtgagg acagg 15

<210> 96

50 <211> 22
<212> ADN
<213> Zea mays

<400> 96

55 tgagtgagc tgagggacag ga 22

ES 2 785 329 T3

<210> 97
 <211> 23
 <212> ADN
 5 <213> Zea mays

 <400> 97
 ctcgttgcc aagctgcatc cgt 23

 10
 <210> 98
 <211> 1176
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 15
 <220>
 <223> Escherichia coli

 <400> 98
 20 atgcaaaaac tcattaactc agtgcaaaac tatgcctggg gcagcaaaac ggcgttgact 60
 gaactttatg gtatggaaaa tccgtccagc cagccgatgg ccgagctgtg gatgggcgca 120
 catccgaaaa gcagttcagc agtgcagaat gccgccggag atatcgtttc actgcgtgat 180
 25 gtgattgaga gtgataaatc gactctgctc ggagaggccg ttgccaaacg ctttggcgaa 240
 ctgcctttcc tgttcaaagt attatgcgca gcacagccac tctccattca ggttcatcca 300
 30 aacaaacaca attctgaaat cggttttgcc aaagaaaatg ccgcaggtat cccgatggat 360
 gccgccgagc gtaactataa agatcctaac cacaagccgg agctggtttt tgcgctgacg 420
 ctttccttg cgatgaacgc gtttcgtgaa tttccgaga ttgtctcct actccagccg 480
 35 gtcgcaggtg cacatccggc gattgctcac ttttacaac agcctgatgc cgaacgttta 540
 agcgaactgt tcgccagcct gttgaatatg cagggtgaag aaaaatcccg cgcgctggcg 600
 40 attttaaata cggccctcga tagccagcag ggtgaaccgt ggcaaacgat tcgtttaatt 660
 tctgaatfff acccgaaga cagcggctctg ttctccccgc tattgctgaa tgtggtgaaa 720
 ttgaaccttg gcgaagcgat gttcctgttc gctgaaacac cgcacgctta cctgcaaggc 780
 45 gtggcgctgg aagtgatggc aaactccgat aacgtgctgc gtgcgggtct gacgcctaaa 840
 tacattgata ttccggaact ggttgccaat gtgaaattcg aagccaaacc ggtaaccag 900
 50 ttgttgacc agccggtgaa acaaggtgca gaactggact tcccattcc agtggatgat 960
 tttgccttct cgctgatga ccttagtgat aaagaaacca ccattagcca gcagagtgcc 1020
 gccattttgt tctgcctcga aggcgatgca acgttggtga aaggtttctca gcagttacag 1080
 55 cttaaaccgg gtgaatcagc gtttattgcc gccaacgaat caccggtgac tgtcaaaggc 1140

cacggccgtt tagcgcgtgt ttacaacaag ctgtaa 1176

5 <210> 99
 <211> 50
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Escherichia coli

<400> 99
 ttaactcagt gcaaaactat gcctggggca gcaaaacggc gttgactgaa 50

15

<210> 100
 <211> 53
 <212> ADN
 20 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Escherichia coli

25 <400> 100
 tctccattca ggttcatcca aacaacaca attctgaaat cggttttgcc aaa 53

<210> 101
 30 <211> 53
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 35 <223> Escherichia coli

<400> 101
 tgcacatcgc gcgattgctc actttttaca acagcctgat gccgaacgtt taa 53

40

<210> 102
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

45

<220>
 <223> Escherichia coli

<400> 102
 50 ttaactcagt gcaaaact 18

<210> 103
 <211> 18
 55 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Escherichia coli

5 <400> 103
 ttcagtcaac gccgtttt 18

10 <210> 104
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223> Escherichia coli

<400> 104
 tctccattca ggttcattcc 19

20 <210> 105
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223> Escherichia coli

30 <400> 105
 tttggcaaaa ccgatttca 19

35 <210> 106
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> Escherichia coli

<400> 106
 tgcacatccg gcgattgct 19

45 <210> 107
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

50 <220>
 <223> Escherichia coli

<400> 107
 ttaaagttc ggcattcag 18

55

<210> 108
 <211> 1000
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> Xanthomonas ssp, Escherichia coli

10

<400> 108
 Met Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Val Asp Leu Arg Thr
 1 5 10 15

15

Leu Gly Tyr Ser Gln Gln Gln Glu Lys Ile Lys Pro Lys Val Arg
 20 25 30

20

Ser Thr Val Ala Gln His His Glu Ala Leu Val Gly His Gly Phe Thr
 35 40 45

25

His Ala His Ile Val Ala Leu Ser Gln His Pro Ala Ala Leu Gly Thr
 50 55 60

30

Val Ala Val Thr Tyr Gln His Ile Ile Thr Ala Leu Pro Glu Ala Thr
 65 70 75 80

His Glu Asp Ile Val Gly Val Gly Lys Gln Trp Ser Gly Ala Arg Ala
 85 90 95

35

Leu Glu Ala Leu Leu Thr Asp Ala Gly Glu Leu Arg Gly Pro Pro Leu
 100 105 110

40

Gln Leu Asp Thr Gly Gln Leu Val Lys Ile Ala Lys Arg Gly Gly Val
 115 120 125

45

Thr Ala Met Glu Ala Val His Ala Ser Arg Asn Ala Leu Thr Gly Ala
 130 135 140

Pro Leu Asn Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly
 145 150 155 160

50

Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu
 165 170 175

55

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

5 Asn Ile Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro
 195 200 205

10 Val Leu Cys Gln Asp His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile
 210 215 220

15 Ala Arg Asn Ile Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu
 225 230 235 240

20 Ala Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln
 260 265 270

25 Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Asp Gln
 275 280 285

30 Val Val Ala Ile Ala Arg Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr
 290 295 300

35 Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro
 305 310 315 320

40 Asp Gln Val Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu
 325 330 335

45 Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu
 340 345 350

50 Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Arg Asn Ile Gly Gly Lys Gln
 355 360 365

55 Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Asp His
 370 375 380

60 Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Lys Gly Gly
 385 390 395 400

65 Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln
 405 410 415

ES 2 785 329 T3

5 Asp His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly
420 425 430

10 Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu
435 440 445

15 Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala Ser
450 455 460

20 Asn Lys Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro
465 470 475 480

25 Val Leu Cys Gln Asp His Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala Ile
485 490 495

30 Ala Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu
500 505 510

35 Leu Pro Val Leu Cys Gln Asp His Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val Val
515 520 525

40 Ala Ile Ala Ser Asn Ile Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln
530 535 540

45 Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Asp His Gly Leu Thr Pro Asp Gln
545 550 555 560

50 Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Ile Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr
565 570 575

55 Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro
580 585 590

60 Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Arg Asn Ile Gly Gly Lys Gln Ala Leu
595 600 605

65 Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu
610 615 620

70 Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Ile Gly Gly Lys Gln
625 630 635 640

ES 2 785 329 T3

5 Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His
645 650 655

10 Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala Arg His Asp Gly Gly
660 665 670

15 Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln
675 680 685

20 Asp His Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly
690 695 700

25 Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Ser Ile Val Ala Gln Leu Ser Arg Pro
705 710 715 720

30 Asp Pro Ala Leu Ala Ala Leu Thr Asn Asp His Leu Val Ala Leu Ala
725 730 735

35 Cys Leu Gly Gly Arg Pro Ala Met Asp Ala Val Lys Lys Gly Leu Pro
740 745 750

40 His Ala Pro Glu Leu Ile Arg Arg Val Asn Arg Arg Ile Gly Glu Arg
755 760 765

45 Thr Ser His Arg Val Ala Asp Tyr Ala Gln Val Val Arg Val Leu Glu
770 775 780

50 Phe Phe Gln Cys His Ser His Pro Ala Tyr Ala Phe Asp Glu Ala Met
785 790 795 800

55 Thr Gln Phe Gly Gln Leu Val Lys Ser Glu Leu Glu Glu Lys Lys Ser
805 810 815

60 Glu Leu Arg His Lys Leu Lys Tyr Val Pro His Glu Tyr Ile Glu Leu
820 825 830

65 Ile Glu Ile Ala Arg Asn Ser Thr Gln Asp Arg Ile Leu Glu Met Lys
835 840 845

70 Val Met Glu Phe Phe Met Lys Val Tyr Gly Tyr Arg Gly Lys His Leu
850 855 860

Gly Gly Ser Arg Lys Pro Asp Gly Ala Ile Tyr Thr Val Gly Ser Pro
 865 870 875 880
 5

Ile Asp Tyr Gly Val Ile Val Asp Thr Lys Ala Tyr Ser Gly Gly Tyr
 885 890 895
 10

Asn Leu Pro Ile Gly Gln Ala Asp Glu Met Gln Arg Tyr Val Glu Glu
 900 905 910
 15

Asn Gln Thr Arg Asn Lys His Ile Asn Pro Asn Glu Trp Trp Lys Val
 915 920 925
 20

Tyr Pro Ser Ser Val Thr Glu Phe Lys Phe Leu Phe Val Ser Gly His
 930 935 940
 25

Phe Lys Gly Asn Tyr Lys Ala Gln Leu Thr Arg Leu Asn His Ile Thr
 945 950 955 960
 30

Asn Cys Asn Gly Ala Val Leu Ser Val Glu Glu Leu Leu Ile Gly Gly
 965 970 975
 35

Phe Asn Asn Gly Glu Ile Asn Phe
 995 1000
 40

<210> 109
 <211> 1000
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 45

<220>
 <223> Xanthomonas ssp, Escherichia coli
 <400> 109
 50

Met Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Val Asp Leu Arg Thr
 1 5 10 15
 55

Leu Gly Tyr Ser Gln Gln Gln Gln Glu Lys Ile Lys Pro Lys Val Arg
 20 25 30

ES 2 785 329 T3

Ser Thr Val Ala Gln His His Glu Ala Leu Val Gly His Gly Phe Thr
 35 40 45

5 His Ala His Ile Val Ala Leu Ser Gln His Pro Ala Ala Leu Gly Thr
 50 55 60

Val Ala Val Thr Tyr Gln His Ile Ile Thr Ala Leu Pro Glu Ala Thr
 10 65 70 75 80

His Glu Asp Ile Val Gly Val Gly Lys Gln Trp Ser Gly Ala Arg Ala
 15 85 90 95

Leu Glu Ala Leu Leu Thr Asp Ala Gly Glu Leu Arg Gly Pro Pro Leu
 20 100 105 110

Gln Leu Asp Thr Gly Gln Leu Val Lys Ile Ala Lys Arg Gly Gly Val
 115 120 125

25 Thr Ala Met Glu Ala Val His Ala Ser Arg Asn Ala Leu Thr Gly Ala
 130 135 140

Pro Leu Asn Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly
 30 145 150 155 160

Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu
 35 165 170 175

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

40 His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro
 195 200 205

45 Val Leu Cys Gln Asp His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile
 210 215 220

Ala Arg Asn Ile Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu
 50 225 230 235 240

Leu Pro Val Leu Cys Gln Asp His Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val Val
 245 250 255

55

ES 2 785 329 T3

Ala Ile Ala Ser Asn Lys Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln
260 265 270

5 Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Asp Gln
275 280 285

10 Val Val Ala Ile Ala Arg Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr
290 295 300

15 Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro
305 310 315 320

20 Asp Gln Val Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu
325 330 335

25 Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Arg Asn Ile Gly Gly Lys Gln
355 360 365

30 Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Asp His
370 375 380

35 Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Ile Gly Gly
385 390 395 400

40 Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln
405 410 415

45 Asp His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser His Asp
420 425 430

50 Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu
435 440 445

55 Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala Ser
450 455 460

Asn Lys Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro
465 470 475 480

ES 2 785 329 T3

Val Leu Cys Gln Asp His Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala Ile
485 490 495

5 Ala Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu
500 505 510

10 Leu Pro Val Leu Cys Gln Asp His Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val Val
515 520 525

15 Ala Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln
530 535 540

20 Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Asp His Gly Leu Thr Pro Asp Gln
545 550 555 560

25 Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Lys Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr
565 570 575

30 Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Arg Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu
595 600 605

35 Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu
610 615 620

40 Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Lys Gln
625 630 635 640

45 Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His
645 650 655

50 Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala Arg Asn Gly Gly Gly
660 665 670

55 Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln
675 680 685

Asp His Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly
690 695 700

ES 2 785 329 T3

Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Ser Ile Val Ala Gln Leu Ser Arg Pro
 705 710 715 720

5 Asp Pro Ala Leu Ala Ala Leu Thr Asn Asp His Leu Val Ala Leu Ala
 725 730 735

10 Cys Leu Gly Gly Arg Pro Ala Met Asp Ala Val Lys Lys Gly Leu Pro
 740 745 750

15 His Ala Pro Glu Leu Ile Arg Arg Val Asn Arg Arg Ile Gly Glu Arg
 755 760 765

20 Thr Ser His Arg Val Ala Asp Tyr Ala Gln Val Val Arg Val Leu Glu
 770 775 780

25 Phe Phe Gln Cys His Ser His Pro Ala Tyr Ala Phe Asp Glu Ala Met
 785 790 795 800

30 Thr Gln Phe Gly Gln Leu Val Lys Ser Glu Leu Glu Glu Lys Lys Ser
 805 810 815

35 Glu Leu Arg His Lys Leu Lys Tyr Val Pro His Glu Tyr Ile Glu Leu
 820 825 830

40 Ile Glu Ile Ala Arg Asn Ser Thr Gln Asp Arg Ile Leu Glu Met Lys
 835 840 845

45 Val Met Glu Phe Phe Met Lys Val Tyr Gly Tyr Arg Gly Lys His Leu
 850 855 860

50 Gly Gly Ser Arg Lys Pro Asp Gly Ala Ile Tyr Thr Val Gly Ser Pro
 865 870 875 880

55 Ile Asp Tyr Gly Val Ile Val Asp Thr Lys Ala Tyr Ser Gly Gly Tyr
 885 890 895

60 Asn Leu Pro Ile Gly Gln Ala Asp Glu Met Gln Arg Tyr Val Glu Glu
 900 905 910

65 Asn Gln Thr Arg Asn Lys His Ile Asn Pro Asn Glu Trp Trp Lys Val
 915 920 925

ES 2 785 329 T3

Tyr Pro Ser Ser Val Thr Glu Phe Lys Phe Leu Phe Val Ser Gly His
 930 935 940

5 Phe Lys Gly Asn Tyr Lys Ala Gln Leu Thr Arg Leu Asn His Ile Thr
 945 950 955 960

10 Asn Cys Asn Gly Ala Val Leu Ser Val Glu Glu Leu Leu Ile Gly Gly
 965 970 975

15 Glu Met Ile Lys Ala Gly Thr Leu Thr Leu Glu Glu Val Arg Arg Lys
 980 985 990

20 Phe Asn Asn Gly Glu Ile Asn Phe
 995 1000

<210> 110
 <211> 1001
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223> Xanthomonas ssp, Escherichia coli

30 <400> 110

Met Gly Asp Pro Lys Lys Lys Arg Lys Val Ile Asp Tyr Pro Tyr Asp
 1 5 10 15

35 Val Pro Asp Tyr Ala Ile Asp Ile Ala Asp Leu Arg Thr Leu Gly Tyr
 20 25 30

40 Ser Gln Gln Gln Gln Glu Lys Ile Lys Pro Lys Val Arg Ser Thr Val
 35 40 45

45 Ala Gln His His Glu Ala Leu Val Gly His Gly Phe Thr His Ala His
 50 55 60

Ile Val Ala Leu Ser Gln His Pro Ala Ala Leu Gly Thr Val Ala Val
 65 70 75 80

50 Lys Tyr Gln Asp Met Ile Ala Ala Leu Pro Glu Ala Thr His Glu Ala
 85 90 95

55 Ile Val Gly Val Gly Lys Gln Trp Ser Gly Ala Arg Ala Leu Glu Ala
 100 105 110

ES 2 785 329 T3

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

ES 2 785 329 T3

5 Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val
340 345 350

10 Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu
355 360 365

15 Gln Val Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu
370 375 380

20 Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr
385 390 395 400

25 Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala
405 410 415

30 Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly
420 425 430

35 Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Asn Gly Gly Lys
435 440 445

40 Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala
450 455 460

45 His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Asn Gly
465 470 475 480

50 Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys
485 490 495

55 Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser His
500 505 510

60 Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val
515 520 525

65 Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala
530 535 540

70 Ser Asn Asn Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu
545 550 555 560

ES 2 785 329 T3

5 Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala
565 570 575

10 Ile Ala Ser Asn Ile Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Ala
580 585 590

15 Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val
595 600 605

20 Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val
610 615 620

25 Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln
625 630 635 640

30 Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu
645 650 655

35 Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr
660 665 670

40 Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Asn Gly Gly Lys Gln Ala
675 680 685

45 Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly
690 695 700

50 Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys
705 710 715 720

55 Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala
725 730 735

60 His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly
740 745 750

65 Gly Arg Pro Ala Leu Glu Ser Ile Val Ala Gln Leu Ser Arg Pro Asp
755 760 765

70 Pro Ala Leu Ala Ala Leu Thr Asn Asp His Leu Val Ala Leu Ala Cys
770 775 780

ES 2 785 329 T3

5 Leu Gly Gly Arg Pro Ala Leu Asp Ala Val Lys Lys Gly Leu Gly Asp
785 790 795 800

10 Pro Ile Ser Arg Ser Gln Leu Val Lys Ser Glu Leu Glu Glu Lys Lys
805 810 815

15 Ser Glu Leu Arg His Lys Leu Lys Tyr Val Pro His Glu Tyr Ile Glu
820 825 830

20 Leu Ile Glu Ile Ala Arg Asn Ser Thr Gln Asp Arg Ile Leu Glu Met
835 840 845

25 Lys Val Met Glu Phe Phe Met Lys Val Tyr Gly Tyr Arg Gly Lys His
850 855 860

30 Leu Gly Gly Ser Arg Lys Pro Asp Gly Ala Ile Tyr Thr Val Gly Ser
865 870 875 880

35 Pro Ile Asp Tyr Gly Val Ile Val Asp Thr Lys Ala Tyr Ser Gly Gly
885 890 895

40 Tyr Asn Leu Pro Ile Gly Gln Ala Asp Glu Met Gln Arg Tyr Val Glu
900 905 910

45 Glu Asn Gln Thr Arg Asn Lys His Ile Asn Pro Asn Glu Trp Trp Lys
915 920 925

50 Val Tyr Pro Ser Ser Val Thr Glu Phe Lys Phe Leu Phe Val Ser Gly
930 935 940

55 His Phe Lys Gly Asn Tyr Lys Ala Gln Leu Thr Arg Leu Asn His Ile
945 950 955 960

60 Thr Asn Cys Asn Gly Ala Val Leu Ser Val Glu Glu Leu Leu Ile Gly
965 970 975

65 Gly Glu Met Ile Lys Ala Gly Thr Leu Thr Leu Glu Glu Val Arg Arg
980 985 990

70 Lys Phe Asn Asn Gly Glu Ile Asn Phe
995 1000

ES 2 785 329 T3

<210> 111
<211> 1007
5 <212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Xanthomonas ssp, Escherichia coli
10

<400> 111

Met Gly Asp Pro Lys Lys Lys Arg Lys Val Ile Asp Lys Glu Thr Ala
1 5 10 15

15

Ala Ala Lys Phe Glu Arg Gln His Met Asp Ser Ile Asp Ile Ala Asp
20 25 30

20

Leu Arg Thr Leu Gly Tyr Ser Gln Gln Gln Glu Lys Ile Lys Pro
35 40 45

25

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

30

Gly Phe Thr His Ala His Ile Val Ala Leu Ser Gln His Pro Ala Ala
65 70 75 80

35

Leu Gly Thr Val Ala Val Lys Tyr Gln Asp Met Ile Ala Ala Leu Pro
85 90 95

40

Glu Ala Thr His Glu Ala Ile Val Gly Val Gly Lys Gln Trp Ser Gly
100 105 110

45

Ala Arg Ala Leu Glu Ala Leu Leu Thr Val Ala Gly Glu Leu Arg Gly
115 120 125

50

Pro Pro Leu Gln Leu Asp Thr Gly Gln Leu Leu Lys Ile Ala Lys Arg
130 135 140

55

Gly Gly Val Thr Ala Val Glu Ala Val His Ala Trp Arg Asn Ala Leu
145 150 155 160

Thr Gly Ala Pro Leu Asn Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala
165 170 175

ES 2 785 329 T3

Ser Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu
180 185 190

5 Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala
195 200 205

10 Ile Ala Ser Asn Ile Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Ala
210 215 220

15 Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val
225 230 235 240

20 Val Ala Ile Ala Ser Asn Ile Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val
245 250 255

25 Gln Ala Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu
260 265 270

30 Thr Val Gln Ala Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr
290 295 300

35 Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala
305 310 315 320

40 Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly
325 330 335

45 Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Asn Gly Gly Lys
340 345 350

50 Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala
355 360 365

55 His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly
370 375 380

Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys
385 390 395 400

ES 2 785 329 T3

Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn
405 410 415

5 Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val
420 425 430

10 Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala
435 440 445

15 Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu
450 455 460

20 Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala
465 470 475 480

25 Ile Ala Ser Asn Asn Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg
485 490 495

30 Val Ala Ile Ala Ser Asn Asn Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val
515 520 525

35 Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu
530 535 540

40 Gln Val Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu
545 550 555 560

45 Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr
565 570 575

50 Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Ile Gly Gly Lys Gln Ala
580 585 590

55 Leu Glu Thr Val Gln Ala Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly
595 600 605

60 Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Lys
610 615 620

ES 2 785 329 T3

Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala
625 630 635 640

5 His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly
 645 650 655

Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys
10 660 665 670

Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn
15 675 680 685

Ile Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Ala Leu Leu Pro Val
 690 695 700

20 Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala
 705 710 715 720

25 Ser Asn Asn Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu
 725 730 735

Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala
30 740 745 750

Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Arg Pro Ala Leu Glu Ser Ile Val Ala
35 755 760 765

Gln Leu Ser Arg Pro Asp Pro Ala Leu Ala Ala Leu Thr Asn Asp His
 770 775 780

40 Leu Val Ala Leu Ala Cys Leu Gly Gly Arg Pro Ala Leu Asp Ala Val
 785 790 795 800

45 Lys Lys Gly Leu Gly Asp Pro Ile Ser Arg Ser Gln Leu Val Lys Ser
 805 810 815

Glu Leu Glu Glu Lys Lys Ser Glu Leu Arg His Lys Leu Lys Tyr Val
50 820 825 830

Pro His Glu Tyr Ile Glu Leu Ile Glu Ile Ala Arg Asn Ser Thr Gln
 835 840 845

55

ES 2 785 329 T3

Asp Arg Ile Leu Glu Met Lys Val Met Glu Phe Phe Met Lys Val Tyr
 850 855 860

5 Gly Tyr Arg Gly Lys His Leu Gly Gly Ser Arg Lys Pro Asp Gly Ala
 865 870 875 880

10 Ile Tyr Thr Val Gly Ser Pro Ile Asp Tyr Gly Val Ile Val Asp Thr
 885 890 895

15 Lys Ala Tyr Ser Gly Gly Tyr Asn Leu Pro Ile Gly Gln Ala Asp Glu
 900 905 910

20 Met Gln Arg Tyr Val Glu Glu Asn Gln Thr Arg Asn Lys His Ile Asn
 915 920 925

25 Phe Leu Phe Val Ser Gly His Phe Lys Gly Asn Tyr Lys Ala Gln Leu
 945 950 955 960

30 Thr Arg Leu Asn His Ile Thr Asn Cys Asn Gly Ala Val Leu Ser Val
 965 970 975

35 Glu Glu Leu Leu Ile Gly Gly Glu Met Ile Lys Ala Gly Thr Leu Thr
 980 985 990

40 Leu Glu Glu Val Arg Arg Lys Phe Asn Asn Gly Glu Ile Asn Phe
 995 1000 1005

45 <210> 112
 <211> 3003
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

50 atggagcaga agctgatcag cgaggaggac ctcgtcgacc tcaggaccct gggtacagc 60
 cagcagcagc aggagaagat caagccaag gtgaggagca ccgtggccca gcaccacgag 120
 gctctggtgg gccacggctt caccacgct cacatcgtgg ccctgagcca gcaccacgct 180
 55 gctctgggca ccgtggctgt gacctaccag cacatcatca ccgccctgcc agaggctacc 240

ES 2 785 329 T3

caccaggaca tcgtgggcgt gggcaagcag tggagcggcg ctaggccct ggaggctctg 300
 ctgaccgatg ctggcgagct gaggggccca ccgctccagc tggataccgg ccagctggtg 360
 5 aagatcgcca agagggggcg cgtgaccgct atggaggctg tgcacgccag caggaacgct 420
 ctgaccggcg ctccactgaa cctgaccccc gaccaggtgg tggccatcgc gagcaacggc 480
 10 ggccgcaagc aggctctcga aacctgacag aggctgctcc cggctgtgtg ccaggccac 540
 ggctcacc cagaccaggt cgtcgcgatc gcctcaaca tcggcggcaa gcaggccctg 600
 gagactgtgc agcgcctgct gccctcctg tggcaggacc acggcctcac cccggagcag 660
 15 gtcgtcgta tcgctagaaa catcggcggc aagcaggcgc tcgaaaccgt ccagaggctc 720
 ctcccagtcc tctgccagga tcacggcctg acccggatc agtggtcgc catcgttca 780
 20 caccagcggc gcaagcaggc gctggagact gtccagcgc tcctcccagt cctctgccag 840
 gcgcacggcc tcacccccga tcaggtcgtg gcgatcgcga gaaacggcgg cggcaagcag 900
 gctctcga aa ccgtcagag gctgtgccg gtgctctgcc aggtcacgg cctgaccca 960
 25 gaccaggtgg tggctatcgc ctcccacgac ggccgcaagc aggccctgga gactgtgac 1020
 aggtgctgc cggctcctgt ccaggccac ggctcacc ccgagcaggt cgtcgcgatc 1080
 30 gctagaaaca tcggcggcaa gcaggccctg gagactgtcc agaggctcct cccggtcctg 1140
 tggcaggacc acggcctgac cccggaccag gtggtcgcca tcgcctcaa caaggcggc 1200
 aagcaggcgc tcgaaaccgt gcagaggctc ctgccggtg tctgccagga tcacggcctg 1260
 35 acccagagc agtggtggc tatcgcgagc aacggcggcg gcaagcaggc tctgaaacc 1320
 gtccagaggc tcctcccagt gctctgccag gctcacggcc tcacccgga ccaggtcgtc 1380
 40 gccatcgtt caaacaaggc cggcaagcag gccctggaga ctgtgacag gctgtgccc 1440
 gtgctgtgcc aggaccagc cctgaccca gatcaggtgg tggctatcgc tagccacgac 1500
 ggccgcaagc aggcgctgga gactgtccag aggtcctcc cagtctgtg ccaggatcac 1560
 45 ggctcacc cggaccaggt cgtcgcctc gcttcaaca tcggcggcaa gcaggccctg 1620
 gagactgtgc agaggctgct gccctgctg tggcaggacc acggcctcac cccgatcag 1680
 50 gtcgtggcca tcgctcaa catcggcggc aagcaggcgc tggagactgt ccagaggctg 1740
 ctgcccgtcc tgtccaggc gcacggcctc acccagagc aggtcgtcgc catcgcaga 1800
 aacatcggc gcaagcaggc tctgaaacc gtgcagaggc tgctgccctg gctctgccag 1860
 55 gccacggcc tgacccgga gcaggtggtg gcgatcgcct ccaacatcgg cggcaagcag 1920

ES 2 785 329 T3

gctctcgaaa ccgtgcagag gctcctcccc gtgctctgcc aggctcacgg cctgaccccc 1980

gatcaggtgg tcgcatcgc tagacacgac ggcggcaagc aggccttga gactgtccag 2040

5 cgctgtctgc cagtctgtg ccaggaccac ggcctcacc cagaccaggt cgtggctatc 2100

gcgtccaacg gcggcggcaa gcaggctctc gagagcatcg tggcccagct gagcaggccg 2160

10 gacccggccc tggccgcctt gaccaacgat cacctggtgg ctctggcctg cctgggccc 2220

aggccagcca tggacgtgt gaagaaggc ctgccgacg ctccagagct gatccgagg 2280

gtgaacagga ggatcggcga gaggaccagc cacagggtgg ccgactacg tcaggtggtg 2340

15 aggggtctgg agttcttca gtccacagc caccggcct acgccttca cgaggctatg 2400

accagttcg gccagctctg gaagagcgag ctggaggaga agaagagcga gctgaggcac 2460

20 aagctgaagt acgtccaca cgagtacatc gagctgatcg agatccagc gaacagcacc 2520

caggatcga tcttgagat gaaggtgatg gatttctca tgaaggtga cggctacagg 2580

ggcaagcacc tggcggcag caggaagcca gatggcgc tctacaccgt gggcagccca 2640

25 atcgactacg gcgtgatctg ggataccaag gcttacagc gcggctaca cctgccgatc 2700

ggccaggctg atgagatgca gaggtagtg gaggagaacc agaccaggaa caagcacatc 2760

30 aacccaaacg agtggtgaa ggtgtaccg agcagcgtga ccgagttcaa gttcctgttc 2820

gtgagcggcc actcaaggc caactacaag gctcagctca ccaggctgaa ccacatcacc 2880

aactgcaacg gcgccgtgct gagcgtggag gagctgctga tcggcggcga gatgatcaag 2940

35 gctggcacc tgaccctgga ggaggtgagg aggaagtca acaacggcga gatcaactc 3000

tga 3003

40

<210> 113
 <211> 3003
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

45

<220>
 <223> Xanthomonas ssp, Escherichia coli

<400> 113

50 atggagcaga agctgatcag cgaggaggac ctctcgacc tcaggaccct gggctacagc 60

cagcagcagc aggagaagat caagccaag gtgaggagca ccgtggccca gcaccagag 120

gctctggtgg gccacggctt caccacgct cacatcgtgg cctgagcca gcaccagct 180

55 gctctgggca ccgtggctgt gacctaccag cacatcatca ccgccctgcc agaggctacc 240

ES 2 785 329 T3

caccaggaca tcgtgggcgt gggcaagcag tggagcggcg ctaggccct ggaggctctg 300
 ctgaccgatg ctggcgagct gaggggccca ccgctccagc tggataccgg ccagctggtg 360
 5 aagatcgcca agagggggcg cgtgaccgct atggaggctg tgcacgccag caggaacgct 420
 ctgaccggcg ctccactgaa cctgaccccc gaccaggtgg tggccatcgc gagcaacggc 480
 10 ggccgcaagc aggctctga aacctgcag aggctgctcc cggctgtgtg ccaggccac 540
 ggctcacc cagaccaggt cgtcgcgatc gcctccacg acggcggcaa gcaggccctg 600
 gagactgtgc agcgcctgct gccctctg tgcaggacc acggcctcac cccggagcag 660
 15 gtcgtcgcta tcgtagaaa catcggcggc aagcaggcgc tcgaaaccgt ccagaggctc 720
 ctcccagtcc tctgccagga tcacggcctg acccggatc agtggtcgc catcgttca 780
 20 aacaagggcg gcaagcaggc gctggagact gtccagcgc tcctcccagt cctctgccag 840
 gcgcacggcc tcacccccga tcagtcgtg gcgatcgcga gaaacggcgg cggcaagcag 900
 gctctgaaa ccgtgcagag gctgtgccg gtgctctgcc aggctcacgg cctgaccca 960
 25 gaccaggtgg tggctatcgc ctcccacgac ggccgcaagc aggcctgga gactgtcag 1020
 aggctgtgc cggctctgtg ccaggccac ggctcacc cagagcaggt cgtcgcgatc 1080
 30 gtagaaaca tcggcggcaa gcaggccctg gagactgtcc agaggctcct cccggtcctg 1140
 tgccaggacc acggcctgac cccggaccag gtggtcgcca tcgcctcaa catcggcggc 1200
 aagcaggcgc tcgaaaccgt gcagaggctc ctgccggtg tctgccagga tcacggcctg 1260
 35 acccagagc agtggtggc tatcgcgagc cacgacggcg gcaagcaggc tctgaaacc 1320
 gtccagaggc tcctcccagt gctctgccag gctcacggcc tcacccgga ccagtcgtc 1380
 40 gccatcgtt caaacaaggc cggcaagcag gccctggaga ctgtgcagag gctgtgccc 1440
 gtgctgtgcc aggaccagc cctgaccca gatcaggtgg tggctatcgc tagccacgac 1500
 ggccgcaagc aggcgctgga gactgtccag aggctcctc cagtctgtg ccaggatcac 1560
 45 ggctcacc cggaccaggt cgtcgcctc gcttcacacg acggcggcaa gcaggccctg 1620
 gagactgtgc agaggctgct gccctgtg tgcaggacc acggcctcac cccgatcag 1680
 50 gtcgtggcca tcgctcaa caagggcggc aagcaggcgc tggagactgt ccagaggctg 1740
 ctcccgtcc tgtccaggc gcacggcctc acccagagc aggtcgtcgc catcgcaga 1800
 aacggcggcg gcaagcaggc tctgaaacc gtgcagaggc tgctgccctg gctctgccag 1860
 55 gccacggcc tgacccgga gcaggtggtg gcgatcgcct ccaacggcgg cggcaagcag 1920

ES 2 785 329 T3

gctctcgaaa ccgtgcagag gctcctcccc gtgctctgcc aggctcacgg cctgaccccc 1980
 gatcaggtgg tcgcatcgc tagaaacggc ggcggcaagc aggccttga gactgtccag 2040
 5 cgctgtctgc cagtctgtg ccaggaccac ggcctcacc cagaccaggt cgtggctatc 2100
 gcgtccaacg gcggcggcaa gcaggctctc gagagcatcg tggcccagct gagcaggccg 2160
 10 gacccggccc tggccgcctt gaccaacgat cacctggtgg ctctggcctg cctgggaggc 2220
 aggccagcca tggacgtgtg gaagaaggc ctgccgacg ctccagagct gatccgagg 2280
 gtgaacagga ggatcggcga gaggaccagc cacagggtgg ccgactacg tcaggtggtg 2340
 15 aggggtctgg agttcttca gtccacagc caccggcct acgccttca cgaggctatg 2400
 acccagttcg gccagctctg gaagagcag ctggaggaga agaagagcga gctgaggcac 2460
 20 aagctgaagt acgtccaca cgagtacatc gagctgatc agatccagc gaacagcacc 2520
 caggatcga tcttgagat gaaggtgatg gatttctca tgaaggtga cggctacagg 2580
 ggcaagcacc tggcggcag caggaagcca gatggcgcca tctacaccg tggcagccca 2640
 25 atcgactacg gcgtgatcgt ggataccaag gcttacagc gcggctaca cctgccgatc 2700
 ggccaggctg atgagatgca gaggtagtg gaggagaacc agaccaggaa caagcacatc 2760
 30 aacccaaacg agtgggtgaa ggtgtaccg agcagcgtga ccgagttcaa gttcctgttc 2820
 gtgagcggcc acttaaggc caactacaag gctcagctca ccaggctgaa ccacatcacc 2880
 aactgcaacg gcgccgtgct gagcgtggag gagctgctga tcggcggcga gatgatcaag 2940
 35 gctggcacc tgaccctgga ggaggtgagg aggaagtca acaacggcga gatcaactc 3000
 tga 3003
 40
 <210> 114
 <211> 3006
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 45
 <220>
 <223> Xanthomonas ssp, Escherichia coli
 <400> 114
 50 atgggcgatc ctaaaaagaa acgtaaggc atcgattacc catacgtatg tccagattac 60
 gctatcgata tcgccgatc acgcagctc ggctacagcc agcagcaaca ggagaagatc 120
 aaaccgaagg ttcgttcgac agtggcgag caccagagg cactggtcgg ccacgggttt 180
 55 acacacgcgc acatcgttg gtaagccaa caccggcag cgttagggac cgtcgtctc 240

ES 2 785 329 T3

aagtatcagg acatgatcgc agcgttgcca gaggcgacac acgaagcgat cgttggcgtc 300
 5 ggcaaacagt ggtccggcgc acgcgctctg gaggccttgc tcacggtggc gggagagttg 360
 agaggtccac cgttacagtt ggacacaggc caacttctca agattgcaaa acgtggcggc 420
 gtgaccgtag tggaggcagt gcatgcatgg cgcaatgcac tgacgggtgc cccgctcaac 480
 10 ttgaccccc agcaggtggt ggccatgcc agcaataatg gtggcaagca ggcgctggag 540
 acggtccagc ggctgttgc ggtgctgtgc caggcccacg gcttgacccc gagcaggtg 600
 gtggccatcg ccagccacga tggcggcaag caggcgctgg agacggtcca gcggtgttg 660
 15 ccggtgctgt gccaggccca cggcttgacc ccggagcagg tggggccat cgccagcaat 720
 attggtggca agcaggcgct ggagacggtg caggcgctgt tgccggtgct gtccaggcc 780
 20 cacggcttga ccccgagca ggtggtggcc atcgccagcc acgatggcgg caagcaggcg 840
 ctggagacgg tccagcggct gttgccgtg ctgtgccagg cccacggctt gacccccgag 900
 cagtggtgg ccacgccag caatattggt ggcaagcagg cgctggagac ggtgcaggcg 960
 25 ctgttgccg tgctgtcca ggcccacggc ttgaccccc agcaggtggt ggccatgcc 1020
 agcaatggcg gtggcaagca ggcgctggag acggtccagc ggctgttgc ggtgctgtgc 1080
 30 caggcccacg gcttgacccc ggagcaggtg gtggccatcg ccagccacga tggcggcaag 1140
 caggcgctgg agacggtcca gcggtgttg ccggtgctgt gccaggccca cggcttgacc 1200
 ccggagcagg tggggccat cgccagccac gatggcggca agcaggcgct ggagacggtc 1260
 35 cagcggctgt tgccggtgct gtgccaggcc cacggcttga cccccagca ggtggtggcc 1320
 atcgccagca ataatggtgg caagcaggcg ctggagacgg tccagcggct gttgccgtg 1380
 40 ctgtgccagg cccacggctt gacccccag caggtggtgg ccacgccag caataatgt 1440
 ggcaagcagg cgctggagac ggtccagcgg ctgttgccg tgctgtcca ggcccacggc 1500
 ttgacccgg agcaggtggt ggccatgcc agccacgatg gcggcaagca ggcgctggag 1560
 45 acggtccagc ggctgttgc ggtgctgtgc caggcccacg gcttgacccc ccagcaggtg 1620
 gtggccatcg ccagcaataa tggggcaag caggcgctgg agacggtcca gcggtgttg 1680
 50 ccggtgctgt gccaggccca cggcttgacc ccggagcagg tggggccat cgccagcaat 1740
 attggtggca agcaggcgct ggagacggtg caggcgctgt tgccggtgct gtccaggcc 1800
 cacggcttga cccccagca ggtggtggcc atcgccagca atggcgggtg caagcaggcg 1860
 55 ctggagacgg tccagcggct gttgccgtg ctgtgccagg cccacggctt gacccccag 1920

ES 2 785 329 T3

caggtggtgg ccatgccag caatggcggg ggcaagcagg cgctggagac ggtccagcgg 1980
 ctgttgccgg tgctgtgcca ggcccacggc ttgaccccc agcaggtggt ggccatcgcc 2040
 5 agcaataatg gtggcaagca ggcgctggag acggtccagc ggctgttgcc ggtgctgtgc 2100
 caggcccacg gcttgacccc ggagcaggtg gtggccatcg ccagccacga tggcggcaag 2160
 10 caggcgctgg agacggtcca gcggtgttg ccggtgctgt gccaggccca cggcttgacc 2220
 cctcagcagg tggggccat cgccagcaat ggcggcggca ggccggcgt ggagagcatt 2280
 gttgccagt tatctgccc tgatccggcg ttggccgct tgaccaacga ccacctcgtc 2340
 15 gccttggcct gcctcggcgg gctcctcgc ctggatgcag tgaanaagg attgggggat 2400
 cctatcagcc gttccagct ggtgaaatct gagctggagg agaagaagtc tgagctgaga 2460
 20 cacaagctga agtacgtgcc tcacgagtac atcgagctga tcgagatcgc cagaatagc 2520
 acccaggata gaatcctgga gatgaaggtg atggagtct tcatgaaagt gtacggctac 2580
 agaggaaagc atctgggagg aagcagaaaa cctgacggag ccattatac agtgggcagc 2640
 25 cctatcgatt atggcgtgat cgtggataca aaggcctaca gcggaggcta caatctgct 2700
 attggacagg ccgatgagat gcagagatac gtggaggaga accaaaccag gaacaagcat 2760
 30 atcaacccta acgagtgtg gaaggtgtac cttctagcg tgaccgagtt caagttcctg 2820
 tttgtgagcg gccactcaa gggcaattat aaggcccagc tgaccaggct gaaccacatc 2880
 acaaattgta atggcgcct gctgtctgtg gaggaactgc tgattggagg agagatgatt 2940
 35 aaggccgga cactgacact ggaggaggtg agaagaaagt tcaacaacgg cgagatcaac 3000
 ttctga 3006
 40
 <210> 115
 <211> 3024
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 45
 <220>
 <223> Xanthomonas ssp, Escherichia coli
 <400> 115
 50 atgggcgatc ctaaaaagaa acgtaaggtc atcgataagg agaccgccgc tgccaagttc 60
 gagagacagc acatggacag catcgatata gccgatctac gcacgctcgg ctacagccag 120
 cagcaacagg agaagatcaa accgaaggtt cgttcgacag tggcgcagca ccacgaggca 180
 55 ctggtcggcc acgggttac acacgcgc atcgttgcgt taagccaaca cccggcagcg 240

ES 2 785 329 T3

ttagggaccg tcgctgtcaa gtatcaggac atgatcgag cgttgccaga ggcgacacac 300
 gaagcgatcg ttggcgtcgg caaacagtgg tccggcgcac gcgctctgga ggccttgctc 360
 5 acggtggcgg gagagttgag aggtccaccg ttacagtgg acacaggcca acttctcaag 420
 attgcaaac gtggcggcgt gaccgcagtg gaggcagtgc atgcatggcg caatgcactg 480
 10 acgggtgcc cgtcaactt gacccccag caggtggtgg ccatgccag caatggcgg 540
 ggcaagcagg cgctggagac ggtccagcgg ctgttgccgg tgctgtgcca ggcccacggc 600
 ttgaccccgg agcaggtggt ggccatgcc agcaatattg gtggcaagca ggcgctggag 660
 15 acggtgcagg cgctgttcc ggtgctgtc caggcccacg gcttgacccc ggagcaggtg 720
 gtggccatcg ccagcaatat tggtggaag caggcgtgg agacggtgca ggcgctgtt 780
 20 ccggtgctgt gccaggccca cgcttgacc ccggagcagg tggtgccat cgccagcaat 840
 attggtggca agcaggcgtt ggagacggtg caggcgtgtg tgccggtgct gtccaggcc 900
 cacggcttga ccccgagca ggtggtggcc atcgccagcc acgatggcgg caagcaggcg 960
 25 ctggagacgg tccagcggct gttccgggtg ctgtgccagg cccacggctt gacccccag 1020
 caggtggtgg ccatgccag caataatgtt ggcaagcagg cgctggagac ggtccagcgg 1080
 30 ctgttgccgg tgctgtgcca ggcccacggc ttgaccccc agcaggtggt ggccatcgcc 1140
 agcaatggcg gtggcaagca ggcgctggag acggtccagc ggctgttcc ggtgctgtc 1200
 caggcccacg gcttgacccc ccagcaggtg gtggccatcg ccagcaatgg cgggtggaag 1260
 35 caggcgtgg agacggtcca gcggtgttg ccggtgctgt gccaggccca cgcttgacc 1320
 ccggagcagg tggtgccat cgccagccac gatggcggca agcaggcgtt ggagacggtc 1380
 40 cagcggctgt tgccggtgct gtccaggcc cacgcttga cccccagca ggtggtggcc 1440
 atcgccagca ataatggtg caagcaggcg ctggagacgg tccagcggct gttccgggtg 1500
 ctgtgccagg cccacggctt gacccccag caggtggtgg ccatgccag caataatgtt 1560
 45 ggcaagcagg cgctggagac ggtccagcgg ctgttgccgg tgctgtgcca ggcccacggc 1620
 ttgaccccgg agcaggtggt ggccatgcc agccacgatg gcggcaagca ggcgctggag 1680
 50 acggtccagc ggtgttggc ggtgctgtc caggcccacg gcttgacccc ggagcaggtg 1740
 gtggccatcg ccagcaatat tggtggaag caggcgtgg agacggtgca ggcgctgtt 1800
 ccggtgctgt gccaggccca cgcttgacc cccagcagg tggtgccat cgccagcaat 1860
 55 ggccgtggca agcaggcgtt ggagacggtc caggcgtgtg tgccggtgct gtccaggcc 1920

ES 2 785 329 T3

cacggcttga ccccgagca ggtggtggcc atcgccagcc acgatggcgg caagcaggcg 1980
 ctggagacgg tccagcggct gttgccggg ctgtgccagg cccacggctt gaccccgag 2040
 5 caggtggtgg ccatgccag caatattgt ggcaagcagg cgctggagac ggtgcaggcg 2100
 ctgttccgg tgctgtcca ggcccacggc ttgaccccc agcaggtggt ggccatcgcc 2160
 10 agcaataatg gtggcaagca ggcgctggag acggtccagc ggctgttcc ggtgctgtgc 2220
 caggcccacg gcttgacccc tcagcaggtg gtggccatcg ccagcaatgg cggcggcagg 2280
 ccggcgtgg agagcattgt tgcccagtta tctgccctg atccggcgtt ggccgcttg 2340
 15 accaacgacc acctcgtgc ctggcctgc ctcggcgggc gtctcgtcct ggatgcagtg 2400
 aaaaagggat tgggggatcc tatcagcctg tcccagctgg tgaatctga gctggaggag 2460
 20 aagaagtctg agctgagaca caagctgaag tacgtgcctc acgagtacat cgagctgatc 2520
 gagatcgcca gaaatagcac ccaggataga atcctggaga tgaagtgat ggagttcttc 2580
 atgaaagtgt acggctacag aggaaagcat ctgggaggaa gcagaaaacc tgacggagcc 2640
 25 atttatacag tgggcagccc tatcgattat ggcgtgatcg tggatacaaa ggcctacagc 2700
 ggaggctaca atctgcctat tggacaggcc gatgagatgc agagatacgt ggaggagaac 2760
 30 caaaccagga acaagcatat caaccctaac gagtgggtgga aggtgtaccc ttctagcgtg 2820
 accgagtca agttcctgtt tgtgagcggc cactcaagg gcaattataa ggcccagctg 2880
 accaggctga accacatcac aaattgtaat ggcgccctgc tgtctgtgga ggaactgctg 2940
 35 attggaggag agatgattaa ggccggaaca ctgacactgg aggaggtgag aagaaagttc 3000
 aacaacggcg agatcaactt ctga 3024
 40
 <210> 116
 <211> 53
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 45
 <220>
 <223> Escherichia coli
 <400> 116
 50 atagagatcc tctagatcg accatggtga tcaactgcagg catgcaagct tgt 53
 <210> 117
 <211> 18
 55 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Escherichia coli

5 <400> 117
 atagagatcc tctaggt 18

<210> 118
 10 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 15 <223> Escherichia coli

<400> 118
 acaagcttgc atgcctgc 18

20
 <210> 119
 <211> 1344
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

25
 <220>
 <223> Xanthomonas ssp, Escherichia coli

<400> 119
 30 Met Ala Ser Ser Pro Pro Lys Lys Lys Arg Lys Val Ser Trp Lys Asp
 1 5 10 15

35 Ala Ser Gly Trp Ser Arg Met His Ala Asp Pro Ile Arg Pro Arg Arg
 20 25 30

40 Pro Ser Pro Ala Arg Glu Leu Leu Pro Gly Pro Gln Pro Asp Arg Val
 35 40 45

45 Gln Pro Thr Ala Asp Arg Gly Val Ser Ala Pro Ala Gly Ser Pro Leu
 50 55 60

Asp Gly Leu Pro Ala Arg Arg Thr Val Ser Arg Thr Arg Leu Pro Ser
 65 70 75 80

50 Pro Pro Ala Pro Ser Pro Ala Phe Ser Ala Gly Ser Phe Ser Asp Leu
 85 90 95

55 Leu Arg Pro Phe Asp Pro Ser Leu Leu Asp Thr Ser Leu Leu Asp Ser
 100 105 110

ES 2 785 329 T3

5 Met Pro Ala Val Gly Thr Pro His Thr Ala Ala Ala Pro Ala Glu Trp
115 120 125

10 Asp Glu Met Gln Ser Ala Leu Arg Ala Ala Asp Asp Pro Pro Pro Thr
130 135 140

15 Val Arg Val Ala Val Thr Ala Ala Arg Pro Pro Arg Ala Lys Pro Ala
145 150 155 160

20 Pro Arg Arg Arg Ala Ala Gln Pro Ser Asp Ala Ser Pro Ala Ala Gln
165 170 175

25 Val Asp Leu Arg Thr Leu Gly Tyr Ser Gln Gln Gln Glu Lys Ile
180 185 190

30 Lys Pro Lys Val Arg Ser Thr Val Ala Gln His His Glu Ala Leu Val
195 200 205

35 Gly His Gly Phe Thr His Ala His Ile Val Ala Leu Ser Gln His Pro
210 215 220

40 Ala Ala Leu Gly Thr Val Ala Val Thr Tyr Gln His Ile Ile Thr Ala
225 230 235 240

45 Leu Pro Glu Ala Thr His Glu Asp Ile Val Gly Val Gly Lys Gln Trp
245 250 255

50 Ser Gly Ala Arg Ala Leu Glu Ala Leu Leu Thr Asp Ala Gly Glu Leu
260 265 270

55 Arg Gly Pro Pro Leu Gln Leu Asp Thr Gly Gln Leu Val Lys Ile Ala
275 280 285

60 Lys Arg Gly Gly Val Thr Ala Met Glu Ala Val His Ala Ser Arg Asn
290 295 300

65 Ala Leu Thr Gly Ala Pro Leu Asn Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala
305 310 315 320

70 Ile Ala Ser Asn Ile Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg
325 330 335

5 Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val
 340 345 350

10 Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val
 355 360 365

15 Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Asp His Gly Leu Thr Pro Glu
 370 375 380

20 Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Asp His Gly Leu Thr
 405 410 415

25 Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Asn Gly Gly Lys Gln Ala
 420 425 430

30 Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly
 435 440 445

35 Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Ile Gly Gly Lys
 450 455 460

40 Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala
 465 470 475 480

45 His Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Asn Gly
 485 490 495

50 Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys
 500 505 510

55 Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn
 515 520 525

60 Ile Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val
 530 535 540

65 Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala
 545 550 555 560

ES 2 785 329 T3

5 Ser Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu
565 570 575

10 Pro Val Leu Cys Gln Asp His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala
580 585 590

15 Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg
595 600 605

20 Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val
625 630 635 640

25 Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Asp
645 650 655

30 Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu
660 665 670

35 Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Asp His Gly Leu Thr
675 680 685

40 Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala
690 695 700

45 Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Asp His Gly
705 710 715 720

50 Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Lys
725 730 735

55 Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala
740 745 750

60 His Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Ile Gly
755 760 765

65 Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys
770 775 780

ES 2 785 329 T3

5 Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn
785 790 795 800

10 Asn Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val
805 810 815

15 Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala
820 825 830

20 Ser Asn Ile Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu
835 840 845

25 Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala
850 855 860

30 Ile Ala Ser Asn Asn Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg
865 870 875 880

35 Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Asp His Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val
885 890 895

40 Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Ser Ile
900 905 910

45 Val Ala Gln Leu Ser Arg Pro Asp Pro Ala Leu Ala Ala Leu Thr Asn
915 920 925

50 Asp His Leu Val Ala Leu Ala Cys Leu Gly Gly Arg Pro Ala Met Asp
930 935 940

55 Ala Val Lys Lys Gly Leu Pro His Ala Pro Glu Leu Ile Arg Arg Val
945 950 955 960

60 Asn Arg Arg Ile Gly Glu Arg Thr Ser His Arg Val Ala Asp Tyr Ala
965 970 975

65 Gln Val Val Arg Val Leu Glu Phe Phe Gln Cys His Ser His Pro Ala
980 985 990

70 Tyr Ala Phe Asp Glu Ala Met Thr Gln Phe Gly Met Ser Arg Asn Gly
995 1000 1005

ES 2 785 329 T3

5 Leu Val Gln Leu Phe Arg Arg Val Gly Val Thr Glu Leu Glu Ala
 1010 1015 1020
 Arg Gly Gly Thr Leu Pro Pro Ala Ser Gln Arg Trp Asp Arg Ile
 1025 1030 1035
 10 Leu Gln Ala Ser Gly Met Lys Arg Ala Lys Pro Ser Pro Thr Ser
 1040 1045 1050
 15 Ala Gln Thr Pro Asp Gln Ala Ser Leu His Ala Phe Ala Asp Ser
 1055 1060 1065
 20 Leu Glu Arg Asp Leu Asp Ala Pro Ser Pro Met His Glu Gly Asp
 1070 1075 1080
 25 Gln Thr Arg Ala Ser Ser Arg Lys Arg Ser Arg Ser Asp Arg Ala
 1085 1090 1095
 Val Thr Gly Pro Ser Ala Gln Gln Ala Val Glu Val Arg Val Pro
 1100 1105 1110
 30 Glu Gln Arg Asp Ala Leu His Leu Pro Leu Ser Trp Arg Val Lys
 1115 1120 1125
 35 Arg Pro Arg Thr Arg Ile Trp Gly Gly Leu Pro Asp Pro Gly Thr
 1130 1135 1140
 40 Pro Thr Ala Ala Asp Gln Leu Val Lys Ser Glu Leu Glu Glu Lys
 1145 1150 1155
 45 Lys Ser Glu Leu Arg His Lys Leu Lys Tyr Val Pro His Glu Tyr
 1160 1165 1170
 Ile Glu Leu Ile Glu Ile Ala Arg Asn Ser Thr Gln Asp Arg Ile
 1175 1180 1185
 50 Leu Glu Met Lys Val Met Glu Phe Phe Met Lys Val Tyr Gly Tyr
 1190 1195 1200
 55 Arg Gly Lys His Leu Gly Gly Ser Arg Lys Pro Asp Gly Ala Ile
 1205 1210 1215

ES 2 785 329 T3

Tyr Thr Val Gly Ser Pro Ile Asp Tyr Gly Val Ile Val Asp Thr
 1220 1225 1230
 5

Lys Ala Tyr Ser Gly Gly Tyr Asn Leu Pro Ile Gly Gln Ala Asp
 1235 1240 1245
 10

Glu Met Gln Arg Tyr Val Glu Glu Asn Gln Thr Arg Asn Lys His
 1250 1255 1260
 15

Ile Asn Pro Asn Glu Trp Trp Lys Val Tyr Pro Ser Ser Val Thr
 1265 1270 1275
 20

Glu Phe Lys Phe Leu Phe Val Ser Gly His Phe Lys Gly Asn Tyr
 1280 1285 1290
 25

Lys Ala Gln Leu Thr Arg Leu Asn His Ile Thr Asn Cys Asn Gly
 1295 1300 1305
 30

Ala Val Leu Ser Val Glu Glu Leu Leu Ile Gly Gly Glu Met Ile
 1310 1315 1320
 35

Lys Ala Gly Thr Leu Thr Leu Glu Glu Val Arg Arg Lys Phe Asn
 1325 1330 1335
 40

Asn Gly Glu Ile Asn Phe
 1340
 <210> 120
 <211> 1344
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Xanthomonas ssp, Escherichia coli
 <400> 120
 Met Ala Ser Ser Pro Pro Lys Lys Lys Arg Lys Val Ser Trp Lys Asp
 1 5 10 15
 Ala Ser Gly Trp Ser Arg Met His Ala Asp Pro Ile Arg Pro Arg Arg
 20 25 30
 55

ES 2 785 329 T3

Pro Ser Pro Ala Arg Glu Leu Leu Pro Gly Pro Gln Pro Asp Arg Val
 35 40 45

5 Gln Pro Thr Ala Asp Arg Gly Val Ser Ala Pro Ala Gly Ser Pro Leu
 50 55 60

10 Asp Gly Leu Pro Ala Arg Arg Thr Val Ser Arg Thr Arg Leu Pro Ser
 65 70 75 80

15 Pro Pro Ala Pro Ser Pro Ala Phe Ser Ala Gly Ser Phe Ser Asp Leu
 85 90 95

20 Leu Arg Pro Phe Asp Pro Ser Leu Leu Asp Thr Ser Leu Leu Asp Ser
 100 105 110

25 Met Pro Ala Val Gly Thr Pro His Thr Ala Ala Ala Pro Ala Glu Trp
 115 120 125

30 Val Arg Val Ala Val Thr Ala Ala Arg Pro Pro Arg Ala Lys Pro Ala
 145 150 155 160

35 Pro Arg Arg Arg Ala Ala Gln Pro Ser Asp Ala Ser Pro Ala Ala Gln
 165 170 175

40 Val Asp Leu Arg Thr Leu Gly Tyr Ser Gln Gln Gln Gln Glu Lys Ile
 180 185 190

45 Lys Pro Lys Val Arg Ser Thr Val Ala Gln His His Glu Ala Leu Val
 195 200 205

50 Gly His Gly Phe Thr His Ala His Ile Val Ala Leu Ser Gln His Pro
 210 215 220

55 Ala Ala Leu Gly Thr Val Ala Val Thr Tyr Gln His Ile Ile Thr Ala
 225 230 235 240

Leu Pro Glu Ala Thr His Glu Asp Ile Val Gly Val Gly Lys Gln Trp
 245 250 255

ES 2 785 329 T3

Ser Gly Ala Arg Ala Leu Glu Ala Leu Leu Thr Asp Ala Gly Glu Leu
 260 265 270

5 Arg Gly Pro Pro Leu Gln Leu Asp Thr Gly Gln Leu Val Lys Ile Ala
 275 280 285

10 Lys Arg Gly Gly Val Thr Ala Met Glu Ala Val His Ala Ser Arg Asn
 290 295 300

15 Ala Leu Thr Gly Ala Pro Leu Asn Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala
 305 310 315 320

Ile Ala Ser Asn Ile Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg
 325 330 335

20 Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val
 340 345 350

25 Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val
 355 360 365

30 Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Asp His Gly Leu Thr Pro Glu
 370 375 380

35 Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Ile Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu
 385 390 395 400

Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Asp His Gly Leu Thr
 405 410 415

40 Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Ile Gly Gly Lys Gln Ala
 420 425 430

45 Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly
 435 440 445

50 Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Asn Gly Gly Lys
 450 455 460

55 Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala
 465 470 475 480

ES 2 785 329 T3

His Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly
485 490 495

5 Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys
500 505 510

10 Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn
515 520 525

15 Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val
530 535 540

20 Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala
545 550 555 560

25 Ser Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu
565 570 575

30 Ile Ala Ser Asn Asn Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg
595 600 605

35 Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val
610 615 620

40 Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val
625 630 635 640

45 Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Asp
645 650 655

50 Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Asp His Gly Leu Thr
675 680 685

55 Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala
690 695 700

ES 2 785 329 T3

Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Asp His Gly
705 710 715 720

5 Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Asn Gly Gly Lys
 725 730 735

Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala
10 740 745 750

His Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly
15 755 760 765

Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys
20 770 775 780

Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala Ser His
25 785 790 795 800

Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val
30 805 810 815

Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala
35 820 825 830

Ser Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu
40 835 840 845

Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala
45 850 855 860

Ile Ala Ser Asn Asn Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg
50 865 870 875 880

Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Asp His Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val
55 885 890 895

Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Ser Ile
 900 905 910

Val Ala Gln Leu Ser Arg Pro Asp Pro Ala Leu Ala Ala Leu Thr Asn
 915 920 925

ES 2 785 329 T3

Asp His Leu Val Ala Leu Ala Cys Leu Gly Gly Arg Pro Ala Met Asp
 930 935 940

5 Ala Val Lys Lys Gly Leu Pro His Ala Pro Glu Leu Ile Arg Arg Val
 945 950 955 960

10 Asn Arg Arg Ile Gly Glu Arg Thr Ser His Arg Val Ala Asp Tyr Ala
 965 970 975

15 Gln Val Val Arg Val Leu Glu Phe Phe Gln Cys His Ser His Pro Ala
 980 985 990

Tyr Ala Phe Asp Glu Ala Met Thr Gln Phe Gly Met Ser Arg Asn Gly
 995 1000 1005

20 Leu Val Gln Leu Phe Arg Arg Val Gly Val Thr Glu Leu Glu Ala
 1010 1015 1020

25 Arg Gly Gly Thr Leu Pro Pro Ala Ser Gln Arg Trp Asp Arg Ile
 1025 1030 1035

30 Leu Gln Ala Ser Gly Met Lys Arg Ala Lys Pro Ser Pro Thr Ser
 1040 1045 1050

35 Ala Gln Thr Pro Asp Gln Ala Ser Leu His Ala Phe Ala Asp Ser
 1055 1060 1065

Leu Glu Arg Asp Leu Asp Ala Pro Ser Pro Met His Glu Gly Asp
 1070 1075 1080

40 Gln Thr Arg Ala Ser Ser Arg Lys Arg Ser Arg Ser Asp Arg Ala
 1085 1090 1095

45 Val Thr Gly Pro Ser Ala Gln Gln Ala Val Glu Val Arg Val Pro
 1100 1105 1110

50 Glu Gln Arg Asp Ala Leu His Leu Pro Leu Ser Trp Arg Val Lys
 1115 1120 1125

55 Arg Pro Arg Thr Arg Ile Trp Gly Gly Leu Pro Asp Pro Gly Thr
 1130 1135 1140

ES 2 785 329 T3

Pro Thr Ala Ala Asp Gln Leu Val Lys Ser Glu Leu Glu Glu Lys
 1145 1150 1155

 5 Lys Ser Glu Leu Arg His Lys Leu Lys Tyr Val Pro His Glu Tyr
 1160 1165 1170

 Ile Glu Leu Ile Glu Ile Ala Arg Asn Ser Thr Gln Asp Arg Ile
 10 1175 1180 1185

 Leu Glu Met Lys Val Met Glu Phe Phe Met Lys Val Tyr Gly Tyr
 1190 1195 1200
 15

 Arg Gly Lys His Leu Gly Gly Ser Arg Lys Pro Asp Gly Ala Ile
 1205 1210 1215
 20

 Tyr Thr Val Gly Ser Pro Ile Asp Tyr Gly Val Ile Val Asp Thr
 1220 1225 1230

 25 Lys Ala Tyr Ser Gly Gly Tyr Asn Leu Pro Ile Gly Gln Ala Asp
 1235 1240 1245

 Glu Met Gln Arg Tyr Val Glu Glu Asn Gln Thr Arg Asn Lys His
 30 1250 1255 1260

 Ile Asn Pro Asn Glu Trp Trp Lys Val Tyr Pro Ser Ser Val Thr
 1265 1270 1275
 35

 Glu Phe Lys Phe Leu Phe Val Ser Gly His Phe Lys Gly Asn Tyr
 1280 1285 1290

 40 Lys Ala Gln Leu Thr Arg Leu Asn His Ile Thr Asn Cys Asn Gly
 1295 1300 1305

 45 Ala Val Leu Ser Val Glu Glu Leu Leu Ile Gly Gly Glu Met Ile
 1310 1315 1320

 Lys Ala Gly Thr Leu Thr Leu Glu Glu Val Arg Arg Lys Phe Asn
 50 1325 1330 1335

 Asn Gly Glu Ile Asn Phe
 1340
 55

ES 2 785 329 T3

<210> 121
 <211> 1038
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> Xanthomonas ssp, Escherichia coli

10

<400> 121
 Met Ala Ser Ser Pro Pro Lys Lys Lys Arg Lys Val Ser Trp Lys Asp
 1 5 10 15

15

Ala Ser Gly Trp Ser Arg Met His Ala Asp Pro Trp Pro Arg Arg Arg
 20 25 30

20

Ala Ala Gln Pro Ser Asp Ala Ser Pro Ala Ala Gln Val Asp Leu Arg
 35 40 45

25

Thr Leu Gly Tyr Ser Gln Gln Gln Gln Glu Lys Ile Lys Pro Lys Val
 50 55 60

30

Arg Ser Thr Val Ala Gln His His Glu Ala Leu Val Gly His Gly Phe
 65 70 75 80

35

Thr His Ala His Ile Val Ala Leu Ser Gln His Pro Ala Ala Leu Gly
 85 90 95

40

Thr Val Ala Val Thr Tyr Gln His Ile Ile Thr Ala Leu Pro Glu Ala
 100 105 110

45

Thr His Glu Asp Ile Val Gly Val Gly Lys Gln Trp Ser Gly Ala Arg
 115 120 125

50

Ala Leu Glu Ala Leu Leu Thr Asp Ala Gly Glu Leu Arg Gly Pro Pro
 130 135 140

Leu Gln Leu Asp Thr Gly Gln Leu Val Lys Ile Ala Lys Arg Gly Gly
 145 150 155 160

55

Val Thr Ala Met Glu Ala Val His Ala Ser Arg Asn Ala Leu Thr Gly
 165 170 175

Ala Pro Leu Asn Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn
 180 185 190

5 Ile Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val
 195 200 205

10 Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala
 210 215 220

15 Ser Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu
 225 230 235 240

20 Pro Val Leu Cys Gln Asp His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala
 245 250 255

25 Ile Ala Ser Asn Ile Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg
 260 265 270

30 Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Asp His Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val
 275 280 285

35 Val Ala Ile Ala Ser Asn Asn Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val
 290 295 300

40 Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Asp
 305 310 315 320

45 Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Ile Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu
 325 330 335

50 Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr
 340 345 350

55 Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Asn Gly Gly Lys Gln Ala
 355 360 365

60 Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly
 370 375 380

65 Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Ile Gly Gly Lys
 385 390 395 400

70 Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala
 405 410 415

ES 2 785 329 T3

5 His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly
420 425 430

10 Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys
435 440 445

15 Gln Asp His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser His
450 455 460

20 Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val
465 470 475 480

25 Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala
485 490 495

30 Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu
500 505 510

35 Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala
515 520 525

40 Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg
530 535 540

45 Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Asp His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val
545 550 555 560

50 Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val
565 570 575

55 Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Asp His Gly Leu Thr Pro Asp
580 585 590

60 Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu
595 600 605

65 Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr
610 615 620

70 Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Ile Gly Gly Lys Gln Ala
625 630 635 640

ES 2 785 329 T3

5 Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly
645 650 655

10 Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Asn Gly Gly Lys
660 665 670

15 Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala
675 680 685

20 His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Ile Gly
690 695 700

25 Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys
705 710 715 720

30 Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn
725 730 735

35 Asn Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val
740 745 750

40 Leu Cys Gln Asp His Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala
755 760 765

45 Ser Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Ser Ile Val Ala Gln Leu
770 775 780

50 Ser Arg Pro Asp Pro Ala Leu Ala Ala Leu Thr Asn Asp His Leu Val
785 790 795 800

55 Ala Leu Ala Cys Leu Gly Gly Arg Pro Ala Met Asp Ala Val Lys Lys
805 810 815

60 Gly Leu Pro His Ala Pro Glu Leu Ile Arg Arg Val Asn Arg Arg Ile
820 825 830

65 Gly Glu Arg Thr Ser His Arg Val Ala Leu Gln Leu Val Lys Ser Glu
835 840 845

70 Leu Glu Glu Lys Lys Ser Glu Leu Arg His Lys Leu Lys Tyr Val Pro
850 855 860

ES 2 785 329 T3

5 His Glu Tyr Ile Glu Leu Ile Glu Ile Ala Arg Asn Ser Thr Gln Asp
 865 870 875 880

Arg Ile Leu Glu Met Lys Val Met Glu Phe Phe Met Lys Val Tyr Gly
 885 890 895

10 Tyr Arg Gly Lys His Leu Gly Gly Ser Arg Lys Pro Asp Gly Ala Ile
 900 905 910

15 Tyr Thr Val Gly Ser Pro Ile Asp Tyr Gly Val Ile Val Asp Thr Lys
 915 920 925

20 Ala Tyr Ser Gly Gly Tyr Asn Leu Pro Ile Gly Gln Ala Asp Glu Met
 930 935 940

25 Gln Arg Tyr Val Glu Glu Asn Gln Thr Arg Asn Lys His Ile Asn Pro
 945 950 955 960

Asn Glu Trp Trp Lys Val Tyr Pro Ser Ser Val Thr Glu Phe Lys Phe
 965 970 975

30 Leu Phe Val Ser Gly His Phe Lys Gly Asn Tyr Lys Ala Gln Leu Thr
 980 985 990

35 Arg Leu Asn His Ile Thr Asn Cys Asn Gly Ala Val Leu Ser Val Glu
 995 1000 1005

40 Glu Leu Leu Ile Gly Gly Glu Met Ile Lys Ala Gly Thr Leu Thr
 1010 1015 1020

45 Leu Glu Glu Val Arg Arg Lys Phe Asn Asn Gly Glu Ile Asn Phe
 1025 1030 1035

50 <210> 122
 <211> 1038
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Xanthomonas ssp, Escherichia coli

55 <400> 122

ES 2 785 329 T3

Met Ala Ser Ser Pro Pro Lys Lys Lys Arg Lys Val Ser Trp Lys Asp
 1 5 10 15

5 Ala Ser Gly Trp Ser Arg Met His Ala Asp Pro Trp Pro Arg Arg Arg
 20 25 30

10 Ala Ala Gln Pro Ser Asp Ala Ser Pro Ala Ala Gln Val Asp Leu Arg
 35 40 45

15 Thr Leu Gly Tyr Ser Gln Gln Gln Gln Glu Lys Ile Lys Pro Lys Val
 50 55 60

20 Arg Ser Thr Val Ala Gln His His Glu Ala Leu Val Gly His Gly Phe
 65 70 75 80

25 Thr His Ala His Ile Val Ala Leu Ser Gln His Pro Ala Ala Leu Gly
 85 90 95

30 Thr Val Ala Val Thr Tyr Gln His Ile Ile Thr Ala Leu Pro Glu Ala
 100 105 110

35 Thr His Glu Asp Ile Val Gly Val Gly Lys Gln Trp Ser Gly Ala Arg
 115 120 125

40 Ala Leu Glu Ala Leu Leu Thr Asp Ala Gly Glu Leu Arg Gly Pro Pro
 130 135 140

45 Leu Gln Leu Asp Thr Gly Gln Leu Val Lys Ile Ala Lys Arg Gly Gly
 145 150 155 160

50 Val Thr Ala Met Glu Ala Val His Ala Ser Arg Asn Ala Leu Thr Gly
 165 170 175

55 Ala Pro Leu Asn Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn
 180 185 190

60 Ile Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val
 195 200 205

65 Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala
 210 215 220

70

ES 2 785 329 T3

Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu
 225 230 235 240

5 Pro Val Leu Cys Gln Asp His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala
 245 250 255

10 Ile Ala Ser Asn Ile Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg
 260 265 270

15 Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Asp His Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val
 275 280 285

20 Val Ala Ile Ala Ser Asn Ile Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val
 290 295 300

25 Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Asp
 305 310 315 320

30 Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr
 340 345 350

35 Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala
 355 360 365

40 Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly
 370 375 380

45 Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Lys
 385 390 395 400

50 Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala
 405 410 415

55 His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly
 420 425 430

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

ES 2 785 329 T3

Gln Asp His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn
450 455 460

5 Asn Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val
465 470 475 480

10 Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala
485 490 495

15 Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu
500 505 510

20 Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala
515 520 525

25 Ile Ala Ser Asn Ile Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg
530 535 540

30 Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val
565 570 575

35 Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Asp His Gly Leu Thr Pro Asp
580 585 590

40 Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Asn Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu
595 600 605

45 Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr
610 615 620

50 Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala
625 630 635 640

55 Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly
645 650 655

Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys
660 665 670

ES 2 785 329 T3

Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala
675 680 685

5 His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly
690 695 700

Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys
10 705 710 715 720

Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn
15 725 730 735

Asn Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val
740 745 750

20 Leu Cys Gln Asp His Gly Leu Thr Pro Asp Gln Val Val Ala Ile Ala
755 760 765

25 Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Ser Ile Val Ala Gln Leu
770 775 780

Ser Arg Pro Asp Pro Ala Leu Ala Ala Leu Thr Asn Asp His Leu Val
30 785 790 795 800

Ala Leu Ala Cys Leu Gly Gly Arg Pro Ala Met Asp Ala Val Lys Lys
35 805 810 815

Gly Leu Pro His Ala Pro Glu Leu Ile Arg Arg Val Asn Arg Arg Ile
820 825 830

40 Gly Glu Arg Thr Ser His Arg Val Ala Leu Gln Leu Val Lys Ser Glu
835 840 845

45 Leu Glu Glu Lys Lys Ser Glu Leu Arg His Lys Leu Lys Tyr Val Pro
850 855 860

His Glu Tyr Ile Glu Leu Ile Glu Ile Ala Arg Asn Ser Thr Gln Asp
50 865 870 875 880

Arg Ile Leu Glu Met Lys Val Met Glu Phe Phe Met Lys Val Tyr Gly
55 885 890 895

ES 2 785 329 T3

Tyr Arg Gly Lys His Leu Gly Gly Ser Arg Lys Pro Asp Gly Ala Ile
 900 905 910

5 Tyr Thr Val Gly Ser Pro Ile Asp Tyr Gly Val Ile Val Asp Thr Lys
 915 920 925

Ala Tyr Ser Gly Gly Tyr Asn Leu Pro Ile Gly Gln Ala Asp Glu Met
 10 930 935 940

Gln Arg Tyr Val Glu Glu Asn Gln Thr Arg Asn Lys His Ile Asn Pro
 15 945 950 955 960

Asn Glu Trp Trp Lys Val Tyr Pro Ser Ser Val Thr Glu Phe Lys Phe
 20 965 970 975

Leu Phe Val Ser Gly His Phe Lys Gly Asn Tyr Lys Ala Gln Leu Thr
 25 980 985 990

Arg Leu Asn His Ile Thr Asn Cys Asn Gly Ala Val Leu Ser Val Glu
 995 1000 1005

Glu Leu Leu Ile Gly Gly Glu Met Ile Lys Ala Gly Thr Leu Thr
 30 1010 1015 1020

Leu Glu Glu Val Arg Arg Lys Phe Asn Asn Gly Glu Ile Asn Phe
 35 1025 1030 1035

<210> 123
 <211> 4035
 <212> ADN
 40 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Xanthomonas ssp, Escherichia coli

45 <400> 123
 atggctagct ccccccgaa gaagaagagg aaggtcagct ggaaggatgc tagcggctgg 60
 agcaggatgc acgctgatcc aatcaggccg aggaggccaa gccagcaag ggagctgctg 120

50 ccaggccac agccagatag ggtgcagcca accgccgata ggggcgtgag cgctccagct 180
 ggcagcccgc tggatggcct gccagctagg aggaccgtga gcaggaccag gctgccgagc 240

ccaccagctc cgagcccagc cttcagcgtc ggcagcttca gcgatctgct gaggccattc 300
 55 gatccgagcc tgctggatac atcgtctgct gatagcatgc cagctgtggg caccacac 360

ES 2 785 329 T3

accgctgctg ctccagctga gtgggatgag atgcagtccg ccctccgcgc cgccgacgac 420
 5 ccgccgcaa ccgtgagggt ggccgtgacc gctgctaggc cgccaagggc taagccagct 480
 ccaaggagga gggccgctca gccaaagcgt gctagccccg ccgcgaggt cgacctcagg 540
 accctgggct acagccagca gcagcaggag aagatcaagc cgaaggtgag gagcaccgtg 600
 10 gccagcacc acgaggctct ggtgggccac ggcttcacc acgctcacat cgtggccctg 660
 agccagcacc cagctgctct gggcaccgtg gctgtgacct accagcacat catcaccgcc 720
 ctgccagagg ctaccacga ggacatcgtg ggcgtgggca agcagtggag cggcgctagg 780
 15 gccctggagg ctctgctgac cgatgctggc gagctgaggg gccaccgct ccagctggat 840
 accggccagc tggatgaagat cgccaagagg ggcgcgctga ccgctatgga ggctgtgac 900
 20 gccagcagga acgctctgac cggcgctcca ctgaacctga cccccagca ggtggtggcc 960
 atcgcgagca acatcgcgcg caagcaggct ctcgaaaccg tgcagaggct gctcccgtg 1020
 ctgtgccagg cccacggcct cccccagac caggtcgtcg cgatcgctc caacggcggc 1080
 25 ggcaagcagg ccctggagac tgtgcagcgc ctgctccccg tcctgtgcca ggaccacggc 1140
 ctacccccgg agcaggctgt cgatatcgt agcaacatcg gcggcaagca ggcgctcga 1200
 30 accgtccaga ggctcctccc agtcctctgc caggatcacg gcctgacccc ggatcagggt 1260
 gtcgcatcg ctccaacaa cggcggcaag caggcgctgg agactgtcca gcgctcctc 1320
 ccagtctct gccaggcga cggcctcacc cccgatcagg tcgtggcgat cgcgagcaac 1380
 35 atcggcggca agcaggctct cgaaacctg cagaggctgc tgccggtgct ctgccaggct 1440
 cacggcctga cccagacca ggtggtggct atgcctcca acaacggcgg caagcaggcc 1500
 40 ctggagactg tgcagaggct cctcccgtc ctgtgccagg cccacggcct cccccgag 1560
 caggtcgtcg cgatcgtag caacatcggc ggcaagcagg ccctggagac tgtcagagg 1620
 ctgctcccag tcctgtgcca ggcccacggc ctgacccccg agcaggtggt cgcgatcgcg 1680
 45 agcaacggcg gcggcaagca ggcgctcga accgtccaga ggctcctccc cgtgctctgc 1740
 caggatcacg gcctgacccc agagcagggt gtggctatcg cgagccacga cggcggcaag 1800
 50 caggctctcg aaacctcca gaggctcctc ccagtgtct gccaggctca cggcctcacc 1860
 ccggaccagg tcgtgccat cgctccac gatggcgga agcaggctct cgaaacctg 1920
 cagaggctgc tccggtgct gtgccaggcc cacggcctca cccagacca ggtcgtcgcg 1980
 55 atcgctcca acggcggcg caagcaggcc ctggagactg tgcagcgcct gctgcccgtc 2040

ES 2 785 329 T3

ctgtgccagg accacggcct caccccgagg caggtcgtcg ctatcgctag ccacgacggc 2100
 ggcaagcagg cgctcgaac cgtccagagg ctctcccag tcctctgcca ggatcacggc 2160
 5 ctgaccccg atcaggtggt cgccatcgct tccaacggcg gcggcaagca ggcgctggag 2220
 actgtccagc gcctcctccc agtctctgc caggcgcacg gcctacccc cgatcaggtc 2280
 10 gtggcgatcg cgagcaacat cggcggcaag caggctctcg aaacctgca gaggctgctg 2340
 ccggtgctct gccaggctca cggcctgacc ccagaccagg tgggtgctat cgctccaac 2400
 aacggcggca agcaggcct ggagactgtg cagaggctcc tcccgtcct gtgccaggcc 2460
 15 cacggcctca cccccgagca ggtcgtcgcg atcgctagca acatcggcgg caagcaggcc 2520
 ctggagactg tgcaaggct gctcccagtc ctgtgccagg cccacggcct gacccccgag 2580
 20 caggtggtcg cgatcgcgag caacaacggc ggcaagcagg cgctcgaac cgtccagagg 2640
 ctctccccg tgctctgcca ggatcacggc ctacccccg accaggtcgt ggctatcgcg 2700
 tccaacggcg gcggcaagca ggctctcag agcatcgtgg cccagctgag caggccggac 2760
 25 ccggccctgg ccgccctgac caacgatcac ctggtggctc tggcctgcct gggcggcagg 2820
 ccagccatgg acgctgtgaa gaaggcctg ccgcacgctc cagagctgat ccgcagggtg 2880
 30 aacaggagga tcggcgagag gaccagccac aggggtggccg actacgctca ggtggtgagg 2940
 gtgctggagt tttccagtg ccacagccac ccggcctacg ccttcgacga ggctatgacc 3000
 cagttcggca tgagcaggaa cggcctggtg cagctgttca ggagggtggg cgtgaccgag 3060
 35 ctggaggcta ggggcggcac cctgccca gctagccaga ggtgggaccg catcctccag 3120
 gccagcggca tgaaggggc taagccaagc ccgaccagcg ctacagccc agatcaggct 3180
 40 agcctgcacg ctttcgccga cagcctggag agggatctgg atgctccgag cccaatgcac 3240
 gaggcgacc agaccaggc cagcagcagg aagaggagca ggagcgacag ggctgtgacc 3300
 ggcccagcg cccagcaggc tgtggaggtg aggggtccag agcagaggga tgcctgcac 3360
 45 ctgccgctga gctggagggt gaagaggcca aggaccagga tctggggcgg cctgccagat 3420
 ccgggcaccc caaccgtgc tgatcagctc gtgaagagcg agctggagga gaagaagagc 3480
 50 gagctgaggc ataaactgaa gtacgtgcca cacgagtaca tcgagctgat cgagatcgcc 3540
 aggaacagca cccaggatcg catcctggag atgaaggtga tggagttctt catgaaagtg 3600
 tacggctaca ggggcaagca cctgggcggc agcaggaagc cagatggcgc catctacacc 3660
 55 gtgggcagcc caatcgacta cggcgtgatc gtggatacca aggcttacag cggcggctac 3720

ES 2 785 329 T3

aacctgccga tcggccaggc tgatgagatg cagaggtacg tggaggagaa tcaaaccagg 3780
 aacaagcaca tcaacccaaa cgagtgggtg aaggtgtacc cgagcagcgt gaccgagttc 3840
 5 aagttcctgt tcgtgagcgg ccacttcaag ggcaactaca aggctcagct caccaggctg 3900
 aaccacatca ccaactgcaa cggcgccgtg ctgagcgtgg aggagctgct gatcggcggc 3960
 10 gagatgatca aggctggcac cctgaccctg gaggagtgga ggaggaagtt caacaacggc 4020
 gagatcaact tctga 4035

 15 <210> 124
 <211> 4035
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 20 <220>
 <223> Xanthomonas ssp, Escherichia coli

 <400> 124
 atggctagct ccccccgaa gaagaagagg aaggtcagct ggaaggatgc tagcggctgg 60
 25 agcaggatgc acgctgatcc aatcaggccg aggaggccaa gccagcaag ggagctgctg 120
 ccaggccac agccagatag ggtgcagcca accgccgata gggcgctgag cgctccagct 180
 30 ggagcccg cctgagcctt gccagctagg aggaccgtga gcaggaccag gctgccgagc 240
 ccaccagctc cgagcccagc cttcagcgtt ggagcttca gcgatctgct gaggccattc 300
 gatccgagcc tgctggatac atcgctgctg gatagcatgc cagctgtggg caccacac 360
 35 accgctgctg cttcagctga gtgggatgag atgcagtcg ccctccgagc cgccgacgac 420
 ccgcccga cgtgagggg ggccgtgacc gctgctaggc cgcaagggc taagccagct 480
 40 ccaaggagga gggccgctca gccaaagcgt gctagccccg ccgagcaggt cgacctcagg 540
 accctgggct acagccagca gcagcaggag aagatcaagc cgaaggtgag gagcaccgtg 600
 gccagcacc acgaggctct ggtgggccc ggcttacc acgctcacat cgtggcctg 660
 45 agccagcacc cagctgctt gggcaccgtg gctgtgacct accagcacat catcaccgcc 720
 ctgccagagg ctaccacga ggacatcgtg ggcgtgggca agcagtgag cgccgctagg 780
 50 gccctggagg ctctgctgac cgatgctggc gagctgaggg gccaccgct ccagctggat 840
 accggccagc tggtaagat cgccaagagg ggcggcgtga ccgctatgga ggctgtgac 900
 gccagcagga acgctctgac cggcgtcca ctgaacctga ccccgacca ggtgtggcc 960
 55 atcgcgagca acatcggcgg caagcaggct ctcgaaaccg tgcagaggct gctccggtg 1020

ES 2 785 329 T3

ctgtgccagg cccacggcct caccacagac caggctctcg cgatcgctc ccacgatggc 1080
 ggcaagcagg ccctggagac tgtgcagcgc ctgctgcccg tcctgtgcca ggaccacggc 1140
 5 ctcacccccg agcaggtcgt cgctatcgct agcaacatcg gcggcaagca ggcgctcgaa 1200
 accgtccaga ggctcctccc agtcctctgc caggatcacg gcctgacccc ggatcaggtg 1260
 10 gtcgcatcg cttccaacat cggcggcaag caggcgtgg agactgtcca ggcctcctc 1320
 ccagtctct gccaggcgca cggcctcacc cccgatcagg tcgtggcgat cgcgagcaac 1380
 aacggcggca agcaggctct cgaaacctg cagaggctgc tgccggtgct ctgccaggct 1440
 15 cacggcctga cccagacca ggtggggct atcgctccc acgatggcgg caagcaggcc 1500
 ctggagactg tgcagaggct cctcccgtc ctgtgccagg cccacggcct cacccccag 1560
 20 caggctctcg cgatcgctag caacggcggc ggcaagcagg ccctggagac tgtcagagg 1620
 ctgctcccag tcctgtgcca ggcccacggc ctgacccccg agcaggtggt cgcgatcgcg 1680
 agcaacggcg gcggcaagca ggcgctcgaa accgtccaga ggctcctccc cgtgctctgc 1740
 25 caggatcacg gcctgacccc agagcaggtg gtggctatcg cgagcaaaa cggcggcaag 1800
 caggctctcg aaacctcca gaggctcctc ccagtgtct gccaggctca cggcctcacc 1860
 30 ccggaccagg tcgtcgccat cgctccac gatggcggca agcaggctct cgaaacctg 1920
 cagaggctgc tcccgtgct gtgccaggcc cacggcctca cccagacca ggtcgtcgcg 1980
 atcgctcca acatcggcgg caagcaggcc ctggagactg tgcagcgcct gctcccgtc 2040
 35 ctgtgccagg accacggcct caccgggag caggctctcg ctatcgctag caacggcggc 2100
 ggcaagcagg cgctcgaac cgtccagagg ctctcccag tccttgcca ggatcacggc 2160
 40 ctgacccccg atcaggtggt cgccatcgct tcaacaacg gcggcaagca ggcgctggag 2220
 actgtccagc gcctcctccc agtcctctgc caggcgcacg gcctacccc cgatcaggtc 2280
 gtggcgatcg cgagccacga cggcggcaag caggctctcg aaacctgca gaggctgctg 2340
 45 ccggtgctct gccaggctca cggcctgacc ccagaccagg tgggtgctat cgctccac 2400
 gatggcggca agcaggcct ggagactgtg cagaggctcc tcccgtcct gtgccaggcc 2460
 50 cacggcctca ccccgagca ggtcgtcgc atcgtagca acggcggcgg caagcaggcc 2520
 ctggagactg tgcagaggct gctcccagtc ctgtgccagg cccacggcct gacccccgag 2580
 caggtggtcg cgatcgcgag caacaacggc ggcaagcagg cgctcgaaac cgtccagagg 2640
 55 ctctccccg tgcttgcca ggatcacggc ctacccccg accaggtcgt ggctatcgcg 2700

ES 2 785 329 T3

tcccacgatg gcggcaagca ggctctcgag agcatcgtgg cccagctgag caggccggac 2760
 5 cggccctgg ccgacctgac caacgatcac ctggtggctc tggcctgcct gggcggcagg 2820
 ccagccatgg acgctgtgaa gaagggcctg ccgcacgctc cagagctgat ccgagggtg 2880
 aacaggagga tcggcgagag gaccagccac aggggtggccg actacgctca ggtggtgagg 2940
 10 gtgctggagt tcttccagt ccacagccac ccggcctacg ccttcgacga ggctatgacc 3000
 cagttcggca tgagcaggaa cggcctggtg cagctgtca ggagggtggg cgtgaccgag 3060
 15 ctggaggcta gggcgccac cctccgccca gctagccaga ggtgggaccg catcctccag 3120
 gccagcggca tgaaaaggc taagccaagc ccgaccagcg ctacagccc agatcaggct 3180
 agcctgcacg ctttcgccga cagcctggag agggatctgg atgctccgag cccaatgcac 3240
 20 gagggcgacc agaccagggc cagcagcagg aagaggagca ggagcgacag ggctgtgacc 3300
 ggcccagcg cccagcaggc tgtggagggtg agggtgccag agcagagga tgcctgcac 3360
 ctgccgtga gctggagggt gaagaggcca aggaccagga tctggggcgg cctgccagat 3420
 25 ccgggcaccc caaccgtgc tgatcagctc gtgaagagcg agctggagga gaagaagagc 3480
 gagctgaggc ataaactgaa gtactgtcca cacgagtaca tcgagctgat cgagatcgcc 3540
 30 aggaacagca cccaggatcg catcctggag atgaaggtga tggagttctt catgaaagt 3600
 tacggctaca ggggcaagca cctgggcggc agcaggaagc cagatggcgc catctacacc 3660
 gtgggcagcc caatcgacta cggcgtgac gtggatacca aggcttacag cggcggctac 3720
 35 aacctgccga tcggccaggc tgatgagatg cagaggtacg tggaggagaa taaaccagg 3780
 aacaagcaca tcaacccaaa cgagtgggtg aaggtgtacc cgagcagcgt gaccgagttc 3840
 40 aagttcctgt tcgtgagcgg ccacttcaag ggcaactaca aggctcagct caccaggctg 3900
 aaccacatca ccaactgcaa cggcgcctg ctgagcgtgg aggagctgct gatcggcggc 3960
 45 gagatgatca aggtggcac cctgaccctg gaggaggtga ggaggaagtt caacaacggc 4020
 gagatcaact tctga 4035

<210> 125
 50 <211> 3114
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 55 <223> Xanthomonas ssp, Escherichia coli

ES 2 785 329 T3

<400> 125
 atggctagct ccccccgaa gaagaagagg aaggtcagct ggaaggatgc tagcggctgg 60
 5 agcaggatgc acgtgatcc atggccaagg aggaggccg ctcagccaag cgatgctagc 120
 cccgccgcg aggtcgacct caggacctg ggctacagcc agcagcagca ggagaagatc 180
 aagccgaagg ttaggagcac cgtggcccag caccacgagg ctctggtggg ccacggcttc 240
 10 acccacgctc acatcgtggc cctgagccag cacccagctg ctctgggcac cgtggctgtg 300
 acctaccagc acatcatcac gcacctcca gaggctacc acaggacat cgtgggcgtg 360
 ggcaagcagt ggagcggcgc tagggccctg gaggctctgc tgaccgatgc tggcagctg 420
 15 aggggcccac cgctccagct ggataccggc cagctggtga agatcgcaa gaggggcccgc 480
 gtgaccgcta tggaggctgt gcagccagc aggaacgctc tgaccggcgc tccactgaac 540
 20 ctgacccccg accaggtggt ggccatcgcg agcaacatcg gcggcaagca ggctctcga 600
 accgtgcaga ggctgctccc ggtgctgtgc caggcccacg gcctacccc agaccaggtc 660
 gtcgcatcg cctccaacgg cggcggcaag caggccctgg agactgtgca gcgcctgctg 720
 25 cccgtcctgt gccaggacca cggcctcacc ccggagcagg tcgtcgctat cgtagcaac 780
 atcggcggca agcaggcgtc gaaaccgtc cagaggctcc tccagtcct ctgccaggat 840
 30 cacggcctga ccccgatca ggtggtcgc atcgctcca acaacggcgg caagcaggcg 900
 ctggagactg tccagcgcct cctccagtc ctctgccagg gcacggcct caccaccgat 960
 caggtcgtgg cgatcgcgag caacatcggc ggcaagcagg ctctgaaac cgtgcagagg 1020
 35 ctgctcccgg tgctctgcca ggctcacggc ctgaccccag accaggtggt ggctatcgc 1080
 tccaacaacg gcggcaagca ggccctggag actgtgcaga ggctcctccc ggtcctgtgc 1140
 40 caggcccacg gcctacccc cgagcaggtc gtcgcatcg ctgcaacat cggcggcaag 1200
 caggccctgg agactgtgca gaggctgtc ccagtctgt gccaggcca cggcctgacc 1260
 cccgagcagg tggtcgcat cgcgagcaac ggcggcggca agcaggcgtc gaaaccgtc 1320
 45 cagaggctcc tcccgtgct ctgccaggat cacggcctga cccagagca ggtggtggct 1380
 atcgcgagcc acgacggcgg caagcaggct ctcgaaaccg tccagaggct cctccagtg 1440
 50 ctctgccagg ctacggcct caccgggac caggtcgtcg ccatcgctc ccacgatggc 1500
 ggcaagcagg ctctgaaac cgtgcagagg ctgctcccgg tgctgtgcca ggcccacggc 1560
 ctcaccccag accaggtcgt cgcgatcgc tccaacggcg gcggcaagca ggccctggag 1620
 55 actgtgcagc gcctgctgcc cgtcctgtgc caggaccacg gcctacccc ggagcaggtc 1680

ES 2 785 329 T3

gtcgctatcg ctagccacga cggcggcaag caggcgctcg aaacctcca gaggctcctc 1740
 5 cagtcctct gccaggatca cggcctgacc ccg gatcagg tggcgcctat cgctccaac 1800
 ggcggcggca agcaggcgct ggagactgtc cagcgcctcc tccagtcct ctgccaggcg 1860
 cacggcctca ccccgatca ggtcgtggcg atcgcgagca acatcggcgg caagcaggct 1920
 10 ctcgaaaccg tgcagaggct gctgccggcg ctctgccagg ctacggcct gacccagac 1980
 caggtggtgg ctatgcctc caacaacggc ggcaagcagg ccctggagac tgtgcagagg 2040
 ctctcccgg tcctgtcca ggcccacggc ctacccccg agcaggctgt cgcgatcgt 2100
 15 agcaacatcg gcggcaagca ggccctggag actgtgcaga ggctgctcc agtcctgtgc 2160
 caggcccacg gcctgacccc cgagcaggtg gtcgcatcg cgagcaaca cggcggcaag 2220
 20 caggcgctcg aaacctcca gaggctcctc cccgtgctct gccaggatca cggcctcacc 2280
 cccgaccagg tcgtggctat cgcgtccaac ggcggcggca agcaggctct cgagagcatc 2340
 gtggcccagc tgagcaggcc ggaccggcc ctggccgcc tgaccaacga tcacctggtg 2400
 25 gctctggcct gcctggggcg caggccagcc atggacgctg tgaagaaggg cctgccgcac 2460
 gctccagagc tgatccgag ggtgaacagg aggatcggcg agaggaccag ccacagggtg 2520
 30 gccctgcagc tcgtgaagag cgagctggag gagaagaaga gcgagctgag gcataaactg 2580
 aagtacgtgc cacacagta catcgagctg atcgagatcg ccaggaacag cacccaggat 2640
 cgcacctgg agatgaaggt gatggagttc tcatgaaag tgtacggcta caggggcaag 2700
 35 cacctggcg gcagcaggaa gccagatggc gccatctaca ccgtggcgag cccaatcgac 2760
 tacggcgtga tcgtggatac caaggcttac agcggcggct acaacctgcc gatcggccag 2820
 40 gctgatgaga tgcagaggta cgtggaggag aatcaaacca ggaacaagca catcaacca 2880
 aacgagtgtt ggaaggtgta cccgagcagc gtgaccgagt tcaagttcct gttcgtgagc 2940
 ggccactca agggcaacta caaggctcag ctaccaggc tgaaccacat caccaactgc 3000
 45 aacggcggcg tgctgagcgt ggaggagctg ctgatcggcg gcgagatgat caaggctggc 3060
 accctgacc tggaggaggt gaggaggaag ttcaacaacg gcgagatcaa cttc 3114
 50
 <210> 126
 <211> 3114
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 55
 <220>

ES 2 785 329 T3

<223> Xanthomonas ssp, Escherichia coli

<400> 126

```

5  atggctagct ccccccgaa gaagaagagg aaggtcagct ggaaggatgc tagcggctgg    60
   agcaggatgc acgctgatcc atggccaagg aggagggccg ctacagcaag cgatgctagc    120
   cccgccgcgc aggtcgacct caggacctg ggctacagcc agcagcagca ggagaagatc    180
10  aagccgaagg ttaggagcac cgtggcccag caccacgagg ctctggtggg ccacggcttc    240
   acccacgctc acatcgtggc cctgagccag cacccagctg ctctgggcac cgtggctgtg    300
   acctaccagc acatcatcac cgcctgccca gaggctaccc acgaggacat cgtgggcgtg    360
15  ggcaagcagt ggagcggcgc tagggccctg gaggctctgc tgaccgatgc tggcgagctg    420
   aggggcccac cgctccagct ggataccggc cagctggtga agatcgcaa gaggggcggc    480
20  gtgaccgcta tggaggctgt gcagccagc aggaacgctc tgaccggcgc tccactgaac    540
   ctgacccccg accagtggtt ggccatcgcg agcaacatcg gcggcaagca ggctctcga    600
   accgtgcaga ggtgctccc ggtgctgtgc caggcccacg gcctcaccac agaccaggtc    660
25  gtcgcatcg cctcccacga tggcggcaag caggccctgg agactgtgca ggcctgctg    720
   cccgtcctgt gccaggacca cggcctcacc ccggagcagg tcgtcgctat cgtagcaac    780
30  atcggcggca agcaggcgtc cgaaaccgtc cagaggctcc tcccagtctt ctccaggat    840
   cacggcctga ccccgatca ggtggtcgc atcgctcca acatcggcgg caagcaggcg    900
   ctggagactg tccagcgtc cctccagtc ctctgccagg gcacggcct caccaccgat    960
35  caggtcgtgg cgatcgcgag caacaacggc ggcaagcagg ctctcgaac cgtgcagagg    1020
   ctgctcccgg tgctctgcca ggctcacggc ctgaccccag accagtggtt ggctatcgcc    1080
40  tcccacgatg gcggcaagca ggccctggag actgtgcaga ggctcctccc ggtcctgtgc    1140
   caggcccacg gcctcaccac cgagcaggtc gtcgcatcg ctagcaacgg cggcggcaag    1200
   caggccctgg agactgtgca gaggctgctc ccagtctgt gccaggccca cggcctgacc    1260
45  cccgagcagg tggtcgcat cgcgagcaac ggccggcggca agcaggcgtc cgaaaccgtc    1320
   cagaggctcc tcccgtgt ctgccaggat cacggcctga cccagagca ggtggtggct    1380
50  atcgcgagca acaacggcgg caagcaggct ctgaaaccg tccagaggct cctccagtg    1440
   ctctgccagg ctacggcct caccgggac caggtctgct ccatcgctc ccacgatggc    1500
   ggcaagcagg ctctcgaac cgtgcagagg ctgctcccgg tgctgtgcca ggcccacggc    1560
55  ctcaccccag accagtgct cgcatcgcc tccaacatcg gcggcaagca ggccctggag    1620

```


ES 2 785 329 T3

actgtgcagc gcctgctgcc cgtcctgtgc caggaccacg gcctacccc ggagcaggtc 1680
 5 gtcgctatcg ctagcaacgg cggcggcaag caggcgctcg aaacctcca gaggctcctc 1740
 ccagtctct gccaggatca cggcctgacc ccg gatcagg tggtcgcat cgctccaac 1800
 aacggcggca agcaggcgt ggagactgtc cagcgcctcc tcccagtcct ctgccaggcg 1860
 10 cacggcctca cccccatca ggtcgtggcg atcgcgagcc acgacggcgg caagcaggct 1920
 ctcgaaaccg tgcaaggct gtcgccgtg ctctgccagg ctacggcct gaccccagac 1980
 caggtggtgg ctatgcctc ccacgatggc ggcaagcagg ccctggagac tgtcagagg 2040
 15 ctctcccgg tcctgtgcca ggcccacggc ctacccccg agcaggtcgt cgcgatcgt 2100
 agcaacggcg gcgcaagca ggccctggag actgtgcaga ggctgctccc agtctgtgc 2160
 20 caggcccacg gcctgacccc cgagcaggtg gtcgcatcg cgagcaaaa cggcggcaag 2220
 caggcgctcg aaacctcca gaggctcctc cccgtgctct gccaggatca cggcctcacc 2280
 cccgaccagg tcgtggctat cgcgtcccac gatggcggca agcaggctct cgagagcatc 2340
 25 gtggcccagc tgagcaggcc ggacccggcc ctggccccc tgaccaacga tcacctggtg 2400
 gctctggcct gcctgggagg caggccagcc atggacgctg tgaagaaggg cctgccgcac 2460
 30 gctccagagc tgatccgag ggtgaacagg aggatcggcg agaggaccag ccacagggtg 2520
 gccctgcagc tcgtgaagag cgagctggag gagaagaaga gcgagctgag gcataaactg 2580
 aagtacgtgc cacacagta catcgagctg atcgagatcg ccaggaacag cacccaggat 2640
 35 cgcacctgg agatgaaggt gatggagttc tcatgaaag tgtacggcta caggggcaag 2700
 cacctgggag gcagcaggaa gccagatggc gccatctaca ccgtgggag cccaatcgac 2760
 40 tacggcgtga tcgtggatac caaggcttac agcggcggct acaactgcc gatcggccag 2820
 gctgatgaga tgcaaggta cgtggaggag aatcaaacca ggaacaagca catcaacca 2880
 aacgagtgtt ggaaggtgta cccgagcagc gtgaccgagt tcaagttcct gttcgtgagc 2940
 45 ggccactca agggcaacta caaggctcag ctaccaggc tgaaccacat caccaactgc 3000
 aacggcggcg tgctgagcgt ggaggagctg ctgatcggcg gcgagatgat caaggctggc 3060
 50 accctgacc tgaggaggt gaggaggaag ttcaacaacg gcgagatcaa cttc 3114

<210> 127
 <211> 20
 55 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Zea mays
 5 <400> 127
 aaccagcga ccagcagcgt 20

 <210> 128
 10 <211> 21
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 15 <223> Zea mays

 <400> 128
 ttgctacct gcgtagtg g 21
 20
 <210> 129
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 25
 <220>
 <223> Zea mays

 <400> 129
 30 cggccaattc ctgcattcgt ac 22

 <210> 130
 <211> 23
 35 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Zea mays
 40
 <400> 130
 gaattgggta ccagcttgca tgc 23

 <210> 131
 <211> 23
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 45
 <220>
 <223> Zea mays

 <400> 131
 50 gtccatgta tcggttctag agc 23
 55

ES 2 785 329 T3

<210> 132
 <211> 27
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 5
 <220>
 <223> Zea mays

 <400> 132
 10 cattaaatta cggacccaaa agcttac 27

 <210> 133
 <211> 3494
 15 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Escherichia coli, Zea mays, Agrobacterium tumefaciens
 20
 <400> 133
 ctgcagtgca cggtagcccg gtcgtgcccc tctctagaga taatgagcat tgcattgtcta 60

 agttataaaa aattaccaca tattttttt gtcacacttg tttgaagtgc agtttatcta 120
 25 tctttataca tatatttaaa ctttactcta cgaataatat aatctatagt actacaataa 180

 tatcagtggt ttagagaatc atataaatga acagttagac atggctctaaa ggacaattga 240

 gtattttgac aacaggactc tacagtttta tctttttagt gtgcattgtt tctcctttt 300

 tttgcaaat agcttcacct atataaact tcatccattt tattagtaca tccatttagg 360

 gtttaggggt aatggtttt atagactaat ttttttagta catctatttt attctatttt 420
 35 agcctctaaa ttaagaaaac taaaactcta ttttagtttt ttatttaaat aatttagata 480

 taaaatagaa taaaataaag tgactaaaaa ttaacaaat acccttaag aaattaaaaa 540

 aactaaggaa acatttttct tgtttcgagt agataatgcc agcctgttaa acgccgtcga 600

 cgagtctaac ggacaccaac cagcgaacca gcagcgtcgc gtcgggcaa gcaagcaga 660

 cggcacggca tctctgtcgc tgctctgga cccctctcga gaggccgct ccaccgttg 720
 45 acttgctccg ctgtcggcat ccagaaattg cgtggcggag cggcagacgt gagccggcac 780

 ggacggcggc ctctctctc tctcaggca ccggcagcta cgggggattc ctttccacc 840

 gtcctctgc tttccttcc tgcccgcg taataaatag acaccctc cacaccctt 900

 ttcccaacc tcgtgttgtt cggagcgac acacacaaa ccagatctcc cccaatcca 960

 cccgtcggca cctccgctc aaggtagcc gctcgtctc cccccccc cctctctacc 1020
 55 ttctctagat cggcgttccg gtccatggtt agggccggt agttctact ctgttcatgt 1080

ES 2 785 329 T3

ttgtgtaga tccgtgttg tgtagatcc gtgctgtag cgttcgtaga cggatgtag 1140
 5 ctgtacgtca gacacgttct gattgtaac ttgccagtgt ttctcttgg ggaatcctgg 1200
 gatggctcta gccgtccgc agacgggac gattcatga ttttttgg ttcgtgcat 1260
 agggtttgg ttgcccttt ctttattc aatatatgcc gtgacttgt ttgctgggc 1320
 10 atctttcat gctttttt gtctgttg tgatgatg gtctgttg gcgctgctc 1380
 tagatcggag tagaattctg tttcaacta cctgtggat ttattaatt tggatctga 1440
 tgtgtgccc atacatatt atagttacga attgaagat atggatgaa atactgatct 1500
 15 aggatagga tacatgtga tgcgggttt actgatgat atacagagat gcttttgg 1560
 cgctgttg tgatgatg gtgtgttg gcgctgctc atcgttcta gatcggagta 1620
 20 gaatactgt tcaactacc tgggtattt attaatgt gaactgatg tgtgtgat 1680
 acatctcat agttacgag ttaagatga tggaaatc gatctaggat aggtatacat 1740
 gttgatgtg gtttactga tgcatataca tgatggcata tgcagatct atctatgct 1800
 25 tctaacctg agtacatc tattataata aacaagtatg tttataatt atttgatct 1860
 tgatatact ggatgatgc atatgcagca gctatgtg gattttta gccctgcct 1920
 30 catagctat ttattgctt ggtactgtt ctttgcga tgctaccct gttgttgg 1980
 gttactctg caggatccc gatcatgca aaaactcatt aactcagtgc aaaactatgc 2040
 ctggggcagc aaaacggct gactgaact ttatgtatg gaaaatcct ccagccagcc 2100
 35 gatggccgag ctgtggatg gcgcacatcc gaaaagcagt tcacgagtgc agaatccgc 2160
 cggagatc tttcactgc gtgatgat tgagagtat aatcagctc tgctcggaga 2220
 40 ggccgttgc aaacgttg gcgaactcc tttctgtc aaagtattat gcgcagcaca 2280
 gccactctc atcaggtc atcacaaca acacaattct gaaatcgtt tgccaaga 2340
 aaatgccca ggtatcccga tggatgccgc cgagcgtaac tataagatc ctaaccaca 2400
 45 gccggagctg gttttgcg tgacgcctt cctgcatg aacgcgttc gtgaatttc 2460
 cgagattgc tccactcc agccgtgc aggtgcacat ccggcattg ctactttt 2520
 50 acaacagct gatccgaac gtttaagca actgttgc agcctgtga atatcaggg 2580
 tgaagaaaa tcccgcgc tggcgattt aaaatcgcc ctgatagcc agcatggtga 2640
 accgtggca acgattct taattctga atttaccg gaagacagc gtctgttctc 2700
 55 cccctattg ctgaatgtg tgaattgaa ccctggcga gcgatgtcc tttctgctga 2760

ES 2 785 329 T3

aacaccgcac gcttacctgc aaggcgtggc gctggaagtg atggcaaact ccgataacgt 2820
 gctgcgtgcg ggtctgacgc ctaaatacat tgatattccg gaactggttg ccaatgtgaa 2880
 5 attcgaagcc aaaccggcta accagttgtt gaccagccg gtgaacaag gtcgagaact 2940
 ggacttcccg attccagtgg atgattttgc cttctcgtg catgacctta gtgataaaga 3000
 10 aaccaccatt agccagcaga gtgccccat tttgttctgc gtcgaaggcg atgcaacgtt 3060
 gtggaaaggt tctcagcagt tacagcttaa accgggtgaa tcagcgttta tgccgcaa 3120
 cgaatcaccg gtgactgtca aaggccacgg ccgtttagcg cgtgtttaca acaagctgta 3180
 15 agagcttact gaaaaatta acatctcttg ctaagctggg agctcgatcc gtcgacctgc 3240
 agatcgttca aacatttggc aataaagttt cttagattg aatcctgtt cggctcttc 3300
 20 gatgattatc atataatttc tgttgaatta cgtaagcat gtaataatta acatgtaatg 3360
 catgacgtta tttatgagat gggttttat gattagatc ccgcaattat acatttaata 3420
 cgcgatagaa aacaaaatat agcgcgcaaa ctaggataaa ttatcgcgcg cgggtgcatc 3480
 25 tatgttacta gatc 3494

 <210> 134
 30 <211> 8415
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 35 <223> Zea mays, Escherichia coli, Bacillus thuringiensis, Agrobacterium tumefaciens

 <400> 134
 gaaggcggga aacgacaatc tgatcatgag cggagaatta agggagtcac gttatgacct 60
 40 ccgccgatga cgcgggacaa gccgtttac gtttgaact gacagaaccg caacgctgca 120
 ggaattggcc gcagcgcca tttaaatcaa ttggcgcg cgaattcgag ctcggtacaa 180
 gcttgacat gacaacaatt gtaagaggat ggagaccaca acgatccaac aatacttctg 240
 45 cgacgggctg tgaagtatag agaagttaa cgccaaaag ccattgtgtt tgaattttt 300
 agttattcta ttttcatga tgtatcttc tctaactgc ctttaattgc aaatttgta 360
 50 taactactga ttgaaaatat atgtatgtaa aaaaacta agcatatctt tgaagctaaa 420
 catgatgta ttaagaaaa tatgttgta acagaataag attaatatcg aaatggaac 480
 atctgaaat tagaatcatc ttacaagcta agagatgttc acgctttgag aaacttctc 540
 55 agatcatgac cgtagaagta gctctcaag actcaacgaa ggctgctgca attccacaaa 600

ES 2 785 329 T3

tgcattgacat gcatccttgt aaccgtcgtc gccgctataa acacggataa ctcaattccc 660
 5 tgcctcatca atttagaaat gagcaagcaa gcacccgatc gtcacccca tatgcaccaa 720
 tctgactccc aagctctgtt tcgcattagt accgccagca ctccacat agctaccaat 780
 tgagaccttt ccagcctaag cagatcgatt gatcgttaga gtcaaagagt tgggtgtacg 840
 10 ggtactttaa ctaccatgga atgatggggc gtgatgtaga gcggaaagcg cctccctacg 900
 cggaacaaca cctcgcctat gccgctcgac tacagcctcc tcctcgtcgg cgccacaacg 960
 agggagcccg tggcgcagc caccgaccag catgtctctg tgcctcgtc cgacctcgac 1020
 15 atgtcatggc aaacagtcgg acgccagcac cagactgacg acatgagtct ctgaagagcc 1080
 cgccacctag aaagatccga gccctgctgc tggtagtggg aaccatttc gtcgcgctga 1140
 20 cgcggagagc gagaggccag aaatttatag cgactgacgc tgtggcaggc acgctatcgg 1200
 aggttacgac gtggcgggtc actcgacgcg gatttcacag gtcctatcct tgcctcgtc 1260
 ggcgcggagt ttacggggac ttatccttac gacgtgctct aaggttgca taacgggcgg 1320
 25 aggaaggcgt gtggcgtcgc gagacggtt atacacgtag tgtcgggag tgtgttctg 1380
 agacgcggga aagcacgacg acttacgaag gtagtggag gaggaggaca cactaaaatc 1440
 30 aggacgcaag aaactcttct attatagtag tagagaagag attataggag tgtgggttga 1500
 ttctaaagaa aatcgacgca ggacaacct caaacgggt gctttaatat agtagatata 1560
 tatatataga gagagagaga aagtacaaag gatgcattg tgtctgata tgatcggagt 1620
 35 attactaacg gccgtcgtaa gaaggtccat catgcgtgga gcgagccat ttggttgggt 1680
 gtcaggccgc agttaaggcc tccatatatg attgtcgtc ggccataac agcatctct 1740
 40 ccaccagttt attgtaagaa taaattaagt agagatattt gtcgtcgggc agaagaaact 1800
 tggacaagaa gaagaagcaa gctaggccaa tttctgccc gcaagaggaa gatagtggcc 1860
 tctagttat atatcggcgt gatgatgat ctctagcta gaaatgagag aagaaaaacg 1920
 45 gacgcgtgtt tgggtgtgt caatggcgtc catccttcca tcagatcaga acgatgaaaa 1980
 agtcaagcac ggcattgata gtatatgtat agcttgtttt agtgtggctt tgctgagacg 2040
 50 aatgaaagca acggcgggca tattttcag tggctgtagc tttcaggctg aaagagacgt 2100
 ggcattgcaat aattcaggga attcgtcagc caattgaggt agctagtcaa cttgtacatt 2160
 ggtcgcgagca atttccgca ctcaggaggg ctagtgtgag agtccaaaaa ctataggaga 2220
 55 ttaaagaggc taaaatcctc tcctattta attttaata agtagtgat ttgtattta 2280

ES 2 785 329 T3

actcctccaa ccctccgat tttatggctc tcaaactagc attcagtcta atgcatgcat 2340

5 gcttggctag aggtcgtatg gggttgtaa tagcatagct agctacaagt taaccgggtc 2400

ttttatatt aataaggaca ggcaaagtat tacttacaaa taaagaataa agctaggacg 2460

aactgctgga ttattactaa atcgaatgg acgtaatatt ccaggcaaga ataattgttc 2520

10 gatcaggaga caagtggggc attggaccgg ttcttgcaag caagaccta tggcgtggtg 2580

acacggcgcg tgcccatac atcatgcctc catcgtatg ccatcctcac ttgctataaa 2640

15 aagagggtgc catggtgctc aagctcagcc aagcaaataa gacgacttgt ttcattgatt 2700

cttcaagaga tcgagcttct tttgaccac aaggctgagg atccaccatg acggccgaca 2760

acaacaccga ggccctggac agcagcacca ccaaggacgt gatccagaag ggcacagcg 2820

20 tggtagggcga cctgctgggc gtggtgggct tcccctcgg cggcgcctg gtgagcttct 2880

acaccaactt cctgaacacc atctggccca gcgaggacc ctggaaggcc ttcattggagc 2940

25 aggtggaggc cctgatggac cagaagatcg ccgactacgc caagaacaag gactggccg 3000

agctacaggg cctccagaac aacgtggagg actatgtgag cgccctgagc agctggcaga 3060

agaaccccg tgaccgttc cgcaacccc acagccaggg ccgatccgc gagctgttca 3120

30 gccaggccga gagccacttc cgcaacagca tgcccagctt cgccatcagc ggctacgagg 3180

tgctgttct gaccacctac gccagggcc ccaacacca cctgttctg ctgaaggacg 3240

35 cccaaatcta cggagaggag tggggctacg agaaggagga catcggcag ttctacaagc 3300

gccagctgaa gctgaccag gactacacc accactgcgt gaagtgttac aacgtgggtc 3360

tagacaagct ccgggcagc agctacgaga gctgggtgaa cttcaaccgc taccgccgcg 3420

40 agatgacct gaccgtgctg gacctgatc ccctgtccc cctgtacgac gtgcccctgt 3480

acccaagga ggtgaagacc gagtgacc gcgacgtgct gaccgaccc atcgtgggcg 3540

45 tgaacaacct gcgaggctac ggcaccact tcagcaacat cgagaactac atccgcaagc 3600

cccactgtt cgactacct gaccgatcc agttccacac gcgtttccag cccggctact 3660

acggcaacga cagttcaac tactggagcg gcaactacgt gagcaccgc cccagcatc 3720

50 gcagcaacga catcatcacc agccccttct acggcaaca gagcagcgag cccgtgcaga 3780

acctgagtt caacggcgag aaggtgtacc gcgccgtggc taaccaaac ctggccgtgt 3840

ggccctctg agtgtacagc ggcgtgacca aggtggagtt cagccagtac aacgaccaga 3900

55 ccgacgaggc cagcaccag acctacgaca gcaagcga cgtggcgcc gtgagctggg 3960

ES 2 785 329 T3

acagcatcga ccagctgccc cccgagacca ccgacgagcc cctggagaag ggctacagcc 4020
 5 accagctgaa ctacgtgatg tgcttctga tgcagggcag ccgcgccacc atccccgtgc 4080
 tgacctggac ccacaagagc gtcgacttct tcaacatgat cgacagcaag aagatcacc 4140
 agctgcccct ggtgaaggcc tacaagctcc agagcggcgc cagcgtggtg gcaggcccc 4200
 10 gcttcaccgg cggcgacatc atccagtga ccgagaacgg cagcgccgcc accatctacg 4260
 tgacccccga cgtgagctac agccagaagt accgccccg catccactac gccagcacca 4320
 gccagatcac cttcacctg agcctggacg gggccccctt caaccaatac tacttcgaca 4380
 15 agaccatcaa caagggcgac accctgacct acaacagctt caacctggcc agcttcagca 4440
 cccctttcga gctgagcggc aacaacctcc agatcggcgt gaccggcctg agcggccggc 4500
 20 acaaggtgta catcgacaag atcgagtca tccccgtgaa ctagatctga gctctagatc 4560
 cccgaatttc cccgatcgtt caaacatttg gcaataaagt ttcttaagat tgaatcctgt 4620
 tgccggtctt gcgatgatta tcatataatt tctgttgaat tacgttaagc atgtaataat 4680
 25 taacatgtaa tgcatgacgt tatttatgag atgggtttt atgattagag tcccgaatt 4740
 atacatttaa tacgcatag aaaacaaaat atagcgcgca aactaggata aattatcgcg 4800
 30 cgcggtgtca tctatgttac tagatcggga attgggtacc agcttgcagc cctgcagtgc 4860
 agcgtgaccc ggtcgtgccc ctctctagag ataatgagca ttgcatgtct aagtataaa 4920
 aaattaccac atatttttt tgtcacactt gtttgaagt cagtttatct atctttatac 4980
 35 atatatttaa actttactct acgaataata taatctatag tactacaata atatcagtgt 5040
 tttagagaat catataatg aacagtaga catggtctaa aggacaattg agtattttga 5100
 40 caacaggact ctacagttt atctttttag tgtgcatgtg ttctctttt tttttgcaa 5160
 tagcttcacc tatataatac ttcatcatt ttattagtag atccattag ggtttagggt 5220
 taatggttt tatagactaa ttttttagt acatctattt tattctattt tagcctctaa 5280
 45 attaagaaaa ctaaaactct attttagttt ttttatttaa taatttagat ataaaataga 5340
 ataaaataaa gtgactaaaa attaaacaaa tacccttaa gaaattaa aaactaagga 5400
 50 aacattttt ttgtttcgag tagataatgc cagcctgta aacgccgtcg acgagtctaa 5460
 cggacaccaa ccagcgaacc agcagcgtcg cgtcgggcca agcgaagcag acggcacggc 5520
 atctctgtcg ctgcctctgg acccctctcg agagttccgc tccaccgttg gacttgctcc 5580
 55 gctgtcggca tccagaaatt gcgtggcgga gcggcagacg tgagccggca cggcagggcg 5640

ES 2 785 329 T3

cctcctctc ctctcacggc accggcagct acgggggatt ctttccac cgctcctcg 5700
 ctttccctc ctcgccgcc gtaataata gacaccccct ccacaccctc tttcccaac 5760
 5 ctcgtgttg tcggagcgca cacacacaca accagatctc ccccaaatcc accgctcggc 5820
 acctccgctt caaggtacgc cgctcgtct cccccccc ccctctctac cttctctaga 5880
 10 tcggcgctcc ggtccatggt tagggcccgg tagttctact tctgttcag tttgtgtag 5940
 atccgtgtt gtgtagatc cgtcgtgcta gcgttcgtac acggatgca cctgtacgtc 6000
 agacacgtt tgattgctaa cttgccagt tttctcttg gggaatcctg ggatggctct 6060
 15 agccgtccg cagacgggat cgatttcag attttttg tttcgtgca tagggttgg 6120
 tttgccctt tcctttatt caatatatgc cgtgcactg tttgtcggg catctttca 6180
 20 tgctttttt tgccttggt gtgatgatg ggtctggtg ggcggtcgtt ctagatcgga 6240
 gtagaattc gttcaaac acctggtgga tttattaatt ttgatctgt atgtgtgtc 6300
 catacatatt catagttacg aattgaagat gatggatgga aatatcgatc taggataggt 6360
 25 atacatgtt atcggggtt tactgatgca tatacagaga tgcttttgt tcgcttggtt 6420
 gtgatgatg ggtgtggtg ggcggtcgtt cattcgtct agatcggagt agaactctgt 6480
 30 ttcaaacac ctggtgtatt tattaattht ggaactgtat gtgtgtgca tacatctca 6540
 tagttacgag ttaagatgg atggaatat cgatctagga taggtataca tgttgatgtg 6600
 ggtttactg atgcatatac atgatggcat atgcagcatc tattcatatg cttaacctt 6660
 35 gagtacctat ctattataat aaacaagtat gtttataat tttttgatc ttgatatact 6720
 tggatgatgg catatgcagc agctatatgt ggatttttt agccctgcct tcatagccta 6780
 40 tttattgct tggactggt tctttgtcg atgctcacc tgttgttg tgttactct 6840
 gcagggatcc ccgatcatg aaaaactcat taactcagt caaaactatg cctggggcag 6900
 caaacggcg ttgactgaac tttatggtat ggaaaatccg tccagccagc cgatggccga 6960
 45 gctgtggatg ggcgcacatc cgaagcagc ttcacgagt cagaatgccg ccggagatat 7020
 cgtttactg cgtgatgca ttgagagtga taaatcgact ctgctcggag aggccgttgc 7080
 50 caaacgctt ggcgaactgc ctttctggt caaagtatta tgcgcagcac agccactctc 7140
 cattcaggt catccaaca aacacaatc tgaatcggg tttccaaag aaaatgccgc 7200
 aggtatcccg atggatgccg ccgagcgtaa ctataaagat cctaaccaca agccggagct 7260
 55 ggtttttgc ctgacgcctt tccttgcgat gaacgcgtt cgtgaattht ccgagattgt 7320

ES 2 785 329 T3

ctccctactc cagccggctg caggtgcaca tccggcgatt gctcactttt tacaacagcc 7380

5 tgatgccgaa cgtttaagcg aactgttcgc cagcctgttg aatatgcagg gtgaagaaaa 7440

atcccgcgcg ctggcgattt taaaatcggc cctcgatagc cagcatgggtg aaccgtggca 7500

aacgattcgt ttaatttctg aattttaccg ggaagacagc ggtctgttct ccccgtatt 7560

10 gctgaatgtg gtgaaattga acctggcgca agcgatgttc ctgttcgctg aaacaccgca 7620

cgcttacctg caaggcgtgg cgctggaagt gatggcaaac tccgataacg tgctgcgtgc 7680

gggtctgacg cctaaatata ttgatattcc ggaactgggt gccaatgtga aattcgaagc 7740

15 caaacggct aaccagttgt tgaccagcc ggtgaaaca ggtgcagaac tggacttccc 7800

gattccagtg gatgattttg ctttctgct gcatgacctt agtgataaag aaaccacat 7860

20 tagccagcag agtgccgcca tttgttctg cgtcgaaggc gatgcaactg tgtggaaagg 7920

ttctcagcag ttacagctta aaccgggtga atcagcgttt attgccgcca acgaatcacc 7980

ggtgactgtc aaagccacg gccgtttagc gcgtgtttac aacaagctgt aagagcttac 8040

25 tgaaaaaatt aacatctctt gctaagctgg gagctcgatc cgtcgacctg cagatcgttc 8100

aaacatttgg caataaagtt tcttaagatt gaatcctgtt gccggtcttg cgatgattat 8160

30 catataatt ctgttgaatt acgttaagca tgtaataatt aacatgtaat gcatgacgtt 8220

atztatgaga tgggtttta tgattagatg cccgcaatta tacatttaat acgcgataga 8280

aaacaaaata tagcgcgcaa actaggataa attatcgcgc gcggtgtcat ctatgttact 8340

35 agatctgcta gccctgcagg aaatttaccg gtgcccgggc ggccagcatg gccgatccg 8400

caatgtgta ttaag 8415

40 <210> 135
<211> 11632
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

45 <220>
<223> Zea mays, Escherichia coli, Bacillus thuringiensis, Agrobacterium tumefaciens

<400> 135

50 ggttacagcc tgggctgac tgtggacggt ggaccatgca aggttgact gggcttgcga 60

ggttgactg ggcctactgg aacagtcata gccctgccc tcgtggtgac cgtcgtacgc 120

ggccgatctg gcagactggg caggtcgctg ctccgtgctg tttgtgatg caatgcaact 180

55 atgcaagagt gatcacggaa aacggacgga gcctgtctgt cctgttcgca cgtagtacia 240

ES 2 785 329 T3

ggcctgaac agtgacgcta cgctatgcca cgagcctac agtgtaggt agtagtacac 300
 5 tggtcagaat ccagcagtc acccacgcc ctgctgactt tgctgatgag agggaggggt 360
 cgagcgagtc tgtgtgaaac cgtgaacccc gccggggcct tcagtacgta cgataccacg 420
 agcagtagaa aaaacaacgc caagatggca gagtcaacaa ccgatcacag tacgtatcgc 480
 10 attcacatca agattttaag aacgaccccc ggctggccaa tggcaggcca cttggttgcc 540
 cgtgcccagc agagggacac ggcgcatgc cctccgcgcc gcacggacga ggtgtcgtga 600
 gaaccggcaa aaaaaaatc atcgcaagtg cgctgaagtg aagtccttc cccgcgttt 660
 15 ccttgccct gccgggtacc cattggcgc cgattcttt cttgcccc gcccgccgc 720
 tcgctcgct ttgattctt ccaaagccg tgatgggatg gtggcaaca caccaccac 780
 20 ccgtcttgc ccaaagcgc ccggcacagg ccgcgccgc ttaactaacc actagcgctt 840
 gtactaataa aatggttct agcgttgtt gctctcctt ttcttttc gccggttct 900
 cggagccgtg tggacactgg acagcgtcca gtccagcagg cataggggtg tctcgccgc 960
 25 ggtcgtccga cgacgatcga tctcatgag attccgcgc aggccaggac ggaaagctgg 1020
 gcccttca ccaattcgc tcggagccgg aacaagatt cctcccca tcattcgc 1080
 30 gcgcccttc ttcgccacc ctcgtggccg tgttcgcgg ccggcctta tctcctccc 1140
 gtgacgcgtt cttttagc ttagcggccg gcacgttct aaccaggcta gttcgttcg 1200
 ttttaact gcctatcgag aagagaagaa aaattcgtcc atggggccac gcccttct 1260
 35 gcaggcatt ggcatgtgaa ggaacccgaa ccagtgaatg gagatggac gatgctgctc 1320
 agatacgag tcaaacctgc ccgcgaaatt acggggggag ctggctggct ggctggctgg 1380
 40 acccagatc acacatgat gacgcggcac ggcagctagc cgacaggcg ctctgcgcac 1440
 gcaattcaac agaaggcggg aaacgacaat ctgatcatga gcggagaatt aaggagtc 1500
 cgttatgacc cccccgatg acgcccggaca agccgttta cgttggaa tgacagaacc 1560
 45 gcaacgctgc aggaattggc gcagcggcc atttaataca attggcgcg ccgaattcga 1620
 gctcgtaca agctgcaca tgacaacaat tgtaagagga tggagaccac aacgatcaa 1680
 50 caatactct gcagcgggt gtgaagtata gagaagtaa acgccccaaa gccatttgt 1740
 ttggaattt tagttattct attttcatg atgtatctc cttaacatg ccttaattg 1800
 caaatttggg ataactact attgaaaata tatgtatgta aaaaaact aagcatatt 1860
 55 ttgaagctaa acatgatgt atttaagaaa atagtgtt aacagaataa gattaatc 1920

ES 2 785 329 T3

gaaatggaaa catctgtaaa ttagaatcat cttacaagct aagagatggt cagccttga 1980
 5 gaaacttctt cagatcatga ccgtagaagt agctctcaa gactcaacga aggctgctgc 2040
 aattccacaa atgcatgaca tgcacacctg taaccgtcgt cgccgctata aacacggata 2100
 actcaattcc ctgctccatc aatttagaaa tgagcaagca agcaccgat cgctacccc 2160
 10 atatgcacca atctgactcc caagctctgt ttcgattag taccgccagc actccaccta 2220
 tagctaccaa ttgagacctt tccagcctaa gcagatgat tgatcgtag agtcaaagag 2280
 ttggtggtac ggttacttta actaccatgg aatgatgggg cgtgatgtag agcggaaagc 2340
 15 gcctccctac gcggaacaac accctcgcca tgccgctcga ctacagcctc ctctctgctg 2400
 gcgccacaac gagggagccc gtggtcgag ccaccgacca gcatgtctct gtgtcctcgt 2460
 20 ccgacctcga catgtcatgg caaacagtgc gacgccagca ccagactgac gacatgagtc 2520
 tctgaagagc ccgccaccta gaaagatccg agccctgctg ctggtagtgg taaccatttt 2580
 cgtcgcgctg acgcgagag cgagaggcca gaaattata gcgactgacg ctgtggcagg 2640
 25 cacgctatcg gaggttacga cgtggcgggt cactcgacgc ggagttcaca ggtcctatcc 2700
 ttgcatcgtc cggcgcggag ttacgggga cttatcctta cgacgtgctc taagttgctg 2760
 30 ataacggcg gaggaaggcg tgtggcgtgc ggagacggtt tatacacgta gtgtcggga 2820
 gtgtgttctg tagacgcggg aaagcacgac gacttacgaa ggtagtgga ggaggaggac 2880
 aactaaaat caggacgcaa gaaactctc tattatagta gtagagaaga gattatagga 2940
 35 gtgtgggttg attctaaaga aaatcgacgc aggacaaccg tcaaacggg tgctttaata 3000
 tagtagatat atatatatag agagagagag aaagtacaaa ggatgcattt gtgtctgcat 3060
 40 atgatcggag tattactaac ggccgtcga agaaggtcca tcatcgtgg agcgagcca 3120
 tttggttgg tgcaggccg cagtaaggc ctccatata gattgtcgtc gggccataa 3180
 cagcatctcc tccaccagt tttgtaaga ataaattaag tagagatatt tgcgtcggg 3240
 45 cagaagaac ttgacaaga agaagaagca agctaggcca atttctgcc ggcaagagga 3300
 agatagtggc ctctagtta tatacggcg tgatgatgat gctcctagct agaatgaga 3360
 50 gaagaaaaac ggacgcgtgt ttggtgtgtg tcaatggcgt ccatcctcc atcagatcag 3420
 aacgatgaaa aagtcaagca cggcatgcat agtatatgta tagctgttt tagtgtggct 3480
 ttgctgagac gaatgaaagc aacggcgggc atattttca gtggctgtag ctttcaggct 3540
 55 gaaagagac tgcatgcaa taattcaggg aattcgtcag ccaattgagg tagctagtca 3600

ES 2 785 329 T3

acttgatcat tgggtgcgagc aattttccgc actcaggagg gctagtttga gagtccaaaa 3660
 5 actataggag attaaagagg ctaaaatcct ctccttattt aattttaaat aagtagtgta 3720
 tttgtatttt aactcctcca acccttccga ttttatggct ctcaaactag cattcagtct 3780
 aatgcatgca tgcttgcta gaggtcgtat ggggttgta atagcatagc tagctacaag 3840
 10 ttaaccgggt cttttatatt taataaggac aggcaaagta ttacttaca ataaagaata 3900
 aagctaggac gaactgctgg attattacta aatcgaaatg gacgtaatat tccaggcaag 3960
 aataattgtt cgatcaggag acaagtgggg cattggaccg gttcttgcaa gcaagagcct 4020
 15 atggcgtggt gacacggcgc gttgccata catcatgcct ccatcgatga tccatcctca 4080
 cttgctataa aaagagggtg ccatgggtct caagctcagc caagcaaata agacgacttg 4140
 20 tttcattgat tcttcaagag atcgagcttc tttgacca caaggtcgag gatccacat 4200
 gacggccgac aacaacaccg aggccctgga cagcagcacc accaaggacg tgatccagaa 4260
 gggcatcagc gtggtgggcg acctgctggg cgtggtgggc tttcccttcg gcggcgcct 4320
 25 ggtgagcttc tacaccaact tctgaacac catctggccc agcaggacc cctggaaggc 4380
 cttcatggag caggtggagg ccctgatgga ccagaagatc gccgactacg ccaagaacaa 4440
 30 ggcaactggc gagctacagg gcctccagaa caactggag gactatgtga gcgccctgag 4500
 cagctggcag aagaacccc ctgcaccgtt ccgaacccc cacagccagg gccgcatccg 4560
 cgagctgttc agccaggccg agagccactt ccgaacagc atgccagct tcgcatcag 4620
 35 cggctacgag gtgctgttcc tgaccaccta cggcaggcc gccaacaccc acctgttct 4680
 gctgaaggac gcccaatct acggagagga gtggggctac gagaaggagg acatgccga 4740
 40 gttctacaag cgccagctga agctgacca ggagtacacc gacctgagc tgaagtgta 4800
 caactgggt ctgacaagc tccgaggcag cagctacgag agctgggtga acttcaaccg 4860
 ctaccgccgc gagatgacc tgacctgct ggacctgatc gccctgtcc ccctgtacga 4920
 45 cgtgccttg tacccaagg aggtgaagac cgagctgacc cgcgactgc tgaccgacc 4980
 catcgtgggc gtgaacaacc tgcgaggta cggcaccacc ttcagcaaca tcgagaacta 5040
 50 catccgaag cccacactgt tgactacct gcaccgatc cagttccaca cgcgtttca 5100
 gcccgctac tacggcaacg acagcttcaa ctactggagc ggcaactacg tgagcaccg 5160
 cccagcatc ggagcaacg acatcatcac cagcccctc tacggcaaca agagcagcga 5220
 55 gcccgctcag aacctgagt tcaacggcga gaaggtgtac cgcgctgg ctaacacaa 5280

ES 2 785 329 T3

cctggccgtg tggccctctg cagtgtacag cggcgtgacc aaggtggagt tcagccagta 5340
 caacgaccag accgacgagg ccagcacca gacctacgac agcaagcgca acgtgggagc 5400
 5 cgtgagctgg gacagcatcg accagctgcc ccccagagacc accgacgagc ccctggagaa 5460
 gggctacagc caccagctga actacgtgat gtgcttcctg atgcagggca gccgcggcac 5520
 10 catccccgtg ctgacctgga cccacaagag cgtcgacttc ttcaacatga tcgacagcaa 5580
 gaagatcacc cagctgcccc tggatgaaggc ctacaagctc cagagcggcg ccagcgtggt 5640
 ggcaggcccc cgcttcaccg gcggcgacat catccagtgc accgagaacg gcagcggcgc 5700
 15 caccatctac gtgacccccg acgtgagcta cagccagaag taccgcgcc gcatcacta 5760
 cgccagcacc agccagatca ccttcacct gagcctggac ggggccccct tcaaccaata 5820
 20 ctacttcgac aagaccatca acaagggcga caccctgacc tacaacagct tcaacctggc 5880
 cagcttcagc accccttcg agctgagcgg caacaacctc cagatcggcg tgaccggcct 5940
 gagcgcggc gacaagggtg acatcgacaa gatcgagttc atccccgtga actagatctg 6000
 25 agctctagat cccgaattt ccccgatcgt tcaaacattt ggcaataaag tttcttaaga 6060
 ttgaatcctg ttgccgtct tgcgatgatt atcatataat ttctgtttaa ttacgttaag 6120
 30 catgtaataa ttaacatgta atgcatgacg ttatttatga gatgggtttt tatgattaga 6180
 gtcccgaat tatacattta atacgcgata gaaaacaaaa tatagcgcgc aaactaggat 6240
 aaattatcg gcgcgggtgc atctatgta ctagatcggg aattgggtac cagcttgcatt 6300
 35 gcctgcagtg cagcgtgacc cggtcgtgcc cctctctaga gataatgagc attgcatgctc 6360
 taagttataa aaaattacca catatTTTTT ttgtcacact tgttgaagt gcagttatc 6420
 40 tatctttata catatattta aactttactc tacgaataat ataactata gtactacaat 6480
 aatatcagtg ttttagagaa tcatataaat gaacagttag acatgttcta aaggacaatt 6540
 gagtattttg acaacaggac tctacagttt tatcttttta gtgtcatgt gttctccttt 6600
 45 tttttgcaa atagcttcac ctatataata cttcatccat tttattagta catccattta 6660
 gggtttaggg ttaatggttt ttatagacta attttttag tacatctatt ttattctatt 6720
 50 ttagcctcta aattaagaaa actaaaactc tattttagtt tttttattta ataatttaga 6780
 tataaaatag aataaataa agtgactaaa aattaaaca ataccctta agaaattaa 6840
 aaaactaagg aaacattttt cttgtttcga gtagataatg ccagcctgtt aaacgccgtc 6900
 55 gacgagtcta acggacacca accagcgaac cagcagcgtc gcgtcgggcc aagcgaagca 6960

ES 2 785 329 T3

gacggcacgg catctctgtc gctgcctctg gaccctctc gagagtccg ctcaccgtt 7020

ggacttgctc cgctgtcggc atccagaaat tgcgtggcgg agcggcagac gtgagccggc 7080

5 acggcaggcg gcctctctct cctctcacgg caccggcagc tacgggggat tcctttccca 7140

ccgtccttc gctttcctt cctcggcgc cgtaataaat agacaccccc tccacacct 7200

10 ctttcccaa cctcgtgttg ttcggagcgc acacacacac aaccagatct ccccaaadc 7260

caccgtcgg cacctccgt tcaaggtacg ccgtcgtcc tcccccccc ccctctcta 7320

ccttcttag atcggcgctc cggctcatgg ttagggcccg gtagttctac ttctgttcat 7380

15 gtttggtta gatccgtgtt tgtgttagat ccgtcgtct agcgttcgta cacggatgcg 7440

acctgtacgt cagacacgtt ctgattgcta acttgccagt gtttctctt ggggaatcct 7500

20 gggatggctc tagccgttc gcagacggga tcgatttcat gattttttt gtttcgttc 7560

atagggttg gtttgcctt ttcctttatt tcaatatatg ccgtgcactt gtttgcggg 7620

tcacttttc atgcttttt ttgtcttgg tgtgatgatg tggctggtt gggcggtcgt 7680

25 tctagatcgg agtagaattc tgttcaaac tacctggtgg atttattaat tttgatctg 7740

tatgtgttg ccatacatat tcatagttac gaattgaaga tgatggatgg aaatatcga 7800

30 ctaggatagg tatacatggt gatgcgggtt ttactgatgc atatacagag atgcttttg 7860

ttcgttgg tgtgatgatg tgggtggtt gggcggtcgt tcattcgtc tagatcggag 7920

tagaatactg ttcaaaacta cctggtgat ttattaatt tggaactga tgtgtgtgc 7980

35 atacatctc atagttacga gtttaagatg gatggaata tcgatctagg ataggtatac 8040

atgttgatg ggttttact gatgcatata catgatggca tatgcagcat ctattcatat 8100

40 gctctaacct tgagtaccta tctattataa taaacaagta tgtttataa ttatttgat 8160

cttgatatac ttgatgatg gcatatgcag cagctatatg tggattttt tagccctgcc 8220

ttcatacgt atttattgc ttgtactgt ttctttgtc gatgctcacc ctgttgttg 8280

45 ggttacttc tgcagggatc cccgatcatg caaaaactca ttaactcagt gcaaaactat 8340

gcctggggca gcaaaacggc gttgactgaa ctttatggta tggaaaatcc gtccagccag 8400

50 ccgatggccg agctgtggat gggcgcacat ccgaaaagca gttcacgagt gcagaatgcc 8460

gccggagata tcttttact gcgtgatgag attgagagtg ataaatcgac tctgctcgga 8520

gaggccgtg ccaaacgctt tggcgaactg cctttctgt tcaaagtatt atgcgcagca 8580

55 cagccactct ccattcaggt tcatcacaac aaacacaatt ctgaaatcgg ttttccaaa 8640

ES 2 785 329 T3

gaaaatgccg caggtatccc gatggatgcc gccgagcgtg actataaaga tcctaaccac 8700
 aagccggagc tggttttgc gctgacgctt ttcttgca tgaacgcgtt tcgtgaattt 8760
 5 tccgagattg tctccctact ccagccggtc gcaggtgcac atccggcgat tgctcacttt 8820
 ttacaacagc ctgatgccga acgtttaagc gaactgttcg ccagcctgtt gaatatgcag 8880
 10 ggtgaagaaa aatcccgcgc gctggcgatt ttaaaatcgg ccctcgatag ccagcatggt 8940
 gaaccgtggc aaacgattcg ttaatttct gaattttacc cggaagacag cggctctgtc 9000
 tccccgctat tgctgaatgt ggtgaaatg aaccctggcg aagcgatgtt cctgttcgct 9060
 15 gaaacaccgc acgcttacct gcaaggcgtg gcgctggaag tgatggcaaa ctccgataac 9120
 gtgctgcgtg cgggtctgac gcctaaatac attgatattc cggaactggt tgccaatgtg 9180
 20 aaattcgaag ccaaaccggc taaccagtgt ttgaccagc cggtgaaaca aggtgcagaa 9240
 ctggacttcc cgattccagt ggatgatttt gccttctgc tgcagacct tagtgataaa 9300
 gaaaccacca ttagccagca gagtgccgcc atttgttct gcgtcgaagg cgatgcaacg 9360
 25 ttgtgaaag gttctcagca gttacagctt aaaccgggtg aatcagcgtt tattgccgcc 9420
 aacgaatcac cggtgactgt caaaggccac ggccgtttag cgcgtgttta caacaagctg 9480
 30 taagagctta ctgaaaaaat taacatctct tgctaagctg ggagctcgat ccgtcgacct 9540
 gcagatcgtt caaacattg gcaataaagt ttctaagat tgaatcctgt tgccggtctt 9600
 gcgatgatta tcatataatt tctgttgaat tacgttaagc atgtaataat taacatgtaa 9660
 35 tgcagacgtt ttttatgag atgggtttt atgattagag tcccgaatt atacattaa 9720
 tacgcgatag aaaacaaaat atagcgcgca aactaggata aattatcgcg cgcggtgtca 9780
 40 tctatgttac tagatctgct agccctgcag gaaatttacc ggtgcccggg cggccagcat 9840
 ggccgtatcc gcaatgtgtt attaagagtt ggtggtacgg gtactttaa taacgaggtg 9900
 tgtcgcgag cgctcctgca cggatgtagc tttggattgc tggataatgt ctgcgcaag 9960
 45 cgtcgtattt atttattat ttattacagc ctccaccgcc gtgcgtgctc cgtttcggat 10020
 tataataaaa ctaataataa ataaaaaaat cggattaaag gatgtttccg aaataaagat 10080
 50 ctccaccaca ggagcgaaag aaaaaaaaaag agaaacgggc tatggagaaa tgggtgtgcg 10140
 agtatacggc ggctccgctg tcgtcggatc gacatgtaca aagtaggtgc acaaaaggca 10200
 aagcaaaatc acctcatcaa agaccaaaaag cggagcaaag aatcgatact aaatccacat 10260
 55 gtttttttg ttctgtcta ctacgtgctg tgcctgtgcg tgaagcacga ttagtacgtg 10320

ES 2 785 329 T3

tactcactct tgtcatattc tttttagtgt cttgtcacta gtcacatgga gtagcaacca 10380

5 tggctggcga taccgcgat aaataaaaa aagagagagg gagtaatata ttagatactc 10440

accattata aattataaaa tatttttagag ttgfaatagg tagttcttgt atatttattt 10500

atagaccttc aagtttgcc gcctctcgag agccgaactt tgttgccat gcttccccgg 10560

10 ctcaggatcat gccacctctc tcaccaaggg cacacggaag atctggtgga gcttgcacac 10620

acccccgcc cttcaaacat gtgaggatgc gtcgtcgctg gcactagtag cactcattgt 10680

aggcactaca ttgacagttt cctccagata ttagtgagg aaacactga acaacacgtt 10740

15 tgggattaca tatgatgttt tgtttgtca tcaatgataa ttccttctc ttgcttaatg 10800

attggctcta gaaccgatac atggcacatt tcatcaggaa gggcgcatgc acgaaattaa 10860

20 actgttatcg atgtttcggg ttctaagttg aagaaaacaa tggctaacia ctagcccatg 10920

tgagcataac gacaaggcct acaaacaaaa cccaagaaat agctaaatca tggctctggat 10980

ccactctgct atgatagatc accttttcta acatagtcca tctctccatt tgctctcgct 11040

25 cacctagtgc ctccatcgct gagatcaatg ataagtacca agtgtacgat gaatcccatt 11100

tgtcatgcgt cttgcaagaa tgggtggtcc gcttgacgtg ccggtccagc tatggacca 11160

30 ggggcctatg tcataactca agcaagacca taccaccata tgctaccaag atgccttta 11220

agaatcctgg taaaagaaat cgggtggaaga cgactcaacg actatcaggc cccattttt 11280

gggaccatgc tcaaggattt ggcttagca aaagtagata acaactttt ggggagcttg 11340

35 atctcaagga cacatgaagg aataagcta ttttagtcaa gacgtcctta aggaacacia 11400

taagacccta ggtccctaat gactagtgtg ttatatgttt cgagacgctc ctacacctaa 11460

40 gttcttttag ctatttccat tcacaatgat ggtatatgac ctaggtagca atgccccag 11520

gagtttctaa cattaagaat gatctaaaac ataaggacc tagagccagg gcactcctgg 11580

tattaaaca ttaccagcc cgggccgtcg accacgctg ccctatagta ag 11632

45

<210> 136

<211> 1451

<212> ADN

50 <213> Zea mays

<400> 136

ggttacagcc tgggctgatc tgtggacggt ggaccatgca aggttgact gggcttgcac 60

55 ggttgactg ggcctactgg aacagtcata gccctgccc tcgtggtgac cgtcgtacgc 120

ES 2 785 329 T3

ggccgatctg gcagactggg caggtcgcctg ctccgtgctg tttgtgatg caatgcaact 180
 atgcaagagt gatcacggaa aacggacgga gcctgtctgt cctgttgca cgtagtacaa 240
 5 ggcctgaac agtgacgcta cgctatgcca cgagcctacg agtgtaggt agtagtacac 300
 tggtcagaat ccagcagtgc acccacgccg ctgctgactt tgctgatgag agggaggggt 360
 cgagcgagtc tgtgtgaaac cgtgaacccc gccggggcct tcagtacgta cgataccacg 420
 10 agcagtagaa aaaacaacgc caagatggca gactcaacaa ccgatcacag tacgtatcgc 480
 attcacatca agattttaag aacgaccccc ggctggccaa tggcaggcca cttggttgc 540
 15 cgtgcccagc agagggacac ggcgcatgc cctccgcgcc gcacggacga ggtgtcgtga 600
 gaaccggcaa aaaaaaatc atcgcaagtg cgctgaagtg aagtccttc ccccgcgttt 660
 ccttgcccct ggccgttacc catttggcgc cgattcttt cttgcccccc ggccggccgc 720
 20 tcgctcgct tggattctt ccaaagccgc tgatgggatg gtggcgaaca caccaccac 780
 ccgtcttgc ccaaagcgac ccggcacagg ccgcgccgc ttaactaacc actagcgctt 840
 25 gtactaataa aatggttct agcgttgtt gctctcctt ttctttttc gccggttctt 900
 cggagccgtg tggacactgg acagcgtcca gtccagcagg cataggggtg tctcgccgc 960
 ggtcgtccga cgacgatcga tctcatgag attccgcgac aggccaggac ggaaagctgg 1020
 30 gcccttca ccaattcgcg tcggagccgg aacaagattc cctccccca tcatttcgac 1080
 gcgcccttc ttcgccacc ctcgtggccg tgtttcgcgg ccggcccta tctccttcc 1140
 35 gtgacgcgtt cttttagc ttagcggccg gcacgttct aaccaggcta gttcgttcg 1200
 ttttaatct gcctatcgag aagagaagaa aaattcgtcc atggggccac gcctcttct 1260
 gcaggcatt ggcatgtgaa ggaaccgaa ccagtgaatg gagatggac gatgctgctc 1320
 40 agatacgag tcaaactgc cggcgaatt acggggggag ctggctggct ggctggctgg 1380
 acccagatc acacatgat gacgcggcac ggcagctagc cgagcaggcg ctctgcgac 1440
 45 gcaattcaac a 1451

 <210> 137
 <211> 1766
 50 <212> ADN
 <213> Zea mays

 <400> 137
 55 agttggtgt acgggtactt taactaacga ggtgtgtcgc gcagcgtcc tgacggatg 60
 tagctttgga ttgctggata atgtctcgc caagcgtcgt atttattat ttattatta 120

ES 2 785 329 T3

cagcctccac cgccgtgcgt gctccgtttc ggattataat aaaactaata ttaaataaaa 180
 5 aaatcggatt aaaggatggt tccgaaataa agatctccac cacaggagcg aaagaaaaaa 240
 aaagagaaac gggctatgga gaaatgggtg tgcgagtata cggcggctcc gtcgtcgtcg 300
 gatcgacatg tacaagtag gtgcacaaaa ggcaaagcaa aatcacctca tcaaagacca 360
 10 aaagcggagc aaagaatcga tactaaatcc acatgttttt tttgttctg tctactacgt 420
 gctgtgcctg tgcgtgaagc acgattagta cgtgtactca ctctgtcat attcttttta 480
 gtgtctgtc actagtcaca tggagtagca accatggctg gcgatacccg cgataaataa 540
 15 aaaaaagaga gagggagtaa tatattagat actcacccat tataaattat aaaatatttt 600
 agagttttaa taggtagttc ttgtatattt atttatagac ctcaagttt gtccgcctct 660
 20 cgagagccga actttgttc ccatgcttcc cgggtcagg tcatgccacc tcctcacca 720
 agggcacacg gaagatctgg tggagcttgt catcaccccc cgccctcaa acatgtgagg 780
 atgcgtcgtc gctggcacta gtagcactca ttgtaggcac tacattgaca gtttctcca 840
 25 gatatgtagt gaggaacac ttgaacaaca cgtttgggat tacatatgat gttttgttg 900
 ttcatcaatg ataattcctt ctctgtctt aatgattggc tctagaaccg atacatggca 960
 30 catttcatca ggaagggcgc atgcacgaaa ttaaactggt atcgatgttt cggtttctaa 1020
 gttgaagaaa acaatggcta acaactagcc catgtgagca taacgacaag gcctacaac 1080
 aaaaccaag aaatagctaa atcatggtct ggatccactc tgctatgata gatcaccttt 1140
 35 tctaacatag ttcatctcc catttctct cgctcaccta gtgcctccat cgctgagatc 1200
 aatgataagt accaagtga cgatgaatcc catttgcct gcgtcttga agaaggttg 1260
 40 gtccgcttc agtgccggtc cagctatgga cccaggggcc tatgtcataa ctcaagcaag 1320
 accatacccc catatgctac caagatgcct ttaagaatc ctggtaaaag aaatcgggtg 1380
 aagacgactc aacgactatc aggccatt tttgggacc atgctcaagg atttgcttt 1440
 45 agcaaaaagta gataacacta tttggggag ctgatctca aggacacatg aaggaataaa 1500
 gctattttag tcaagacgtc ctaaggaac acaataagac ctaggtccc taatgactag 1560
 50 tgtgttatat gtttcgagac gctctacac ctaagtctt ttagctattt ccattcacia 1620
 tgatgtata tgacctaggt accaatgccc cacggagttt ctaacattaa gaatgatcta 1680
 aaacataagg accctagac cagggcactc ctggtattaa aacatttacc agccccggcc 1740
 55 gtcgaccacg cggtccctat agtaag 1766

ES 2 785 329 T3

<210> 138
 <211> 10818
 5 <212> ADN
 <213> Zea mays

 <400> 138
 10 ccattaaatc gacgaaagca actagatcct gattttgatt acgattacga ttgacgagta 60
 tggatcatga ttttattgca tttttatga ttttattgca tttttatta ttttattgtc 120
 gatttatgta ctaactgtt tttgttaaaa taggatgtca aagaaaatga agtctttagc 180
 15 tcgtagtttg cttgggtcga ggaggagctc gaggagcagc tcgaggggtg aggattcagt 240
 ttttcagggc acaggttcta ccatgagcag acggagagcg ctggcagaac attgcctcc 300
 acaagatgta agttagttgt taaattacat ttttgagtt acttaatatt gtatgatgta 360
 20 agttatttgt ttcattagat gctgaaattg aggaaccagt ggtagaggat catgcaagag 420
 atgatgttga agatgatggt ggagataatg tgggagatga tgctggagac gacgctggtg 480
 25 gggattctgg ggctggggat tctggggctg gtggagattc tcgagctggg tctggaactt 540
 ctcgagttaa gagaacgagg aagctgcatt ttgttgacc acctccagag cttccaccg 600
 aatctcgggt tgtaataaag ctagtggaag agtgagtgc atatctttgc ttaaattgta 660
 30 ttgaaagtta tgtttaatt tctacattga tttctgttg caggacttg atcgacgact 720
 cgttcacagg cacaggacac tacaggcagg tgaacatggt tcttgtaat cttgttcgtc 780
 35 tgcactggcc tggctctgtg actttgccta ctggcagtc tgtcccccc accactggg 840
 agcattatcg ctatggtgtc ttagaacgt ttggcaacac acaggcacta gtttgggatg 900
 cattctgggt atgactgtt tatactattt tagttattcc atatatgtt gctttatga 960
 40 taacactatg gttttgcag aaacgttaca agttgccgga cgatggatca tatgatgta 1020
 acgctcgtta cgtgttgag ttaacgca acgatgctg tcagatgca atgtactatg 1080
 45 cacgaattca ggctataaag gcatgttaca gagcaaatgc tgatgatcga ccatgcca 1140
 atacaaggc cgagtgttca tcaatttact tgacggagga gcaataccta gaggtaaaca 1200
 ggttgttgc tctcatatcg cacaaagcca tgtatttctg tgctttattt aaaaatttg 1260
 50 atgtaggtgt cgggtccgtg gatggccacc cgaccagac gttatcgggc attgtcaga 1320
 tggtaggctt cccctgactt tcgtgccatt tccgaaagga acaggggaaa ccgtgggact 1380
 55 gagtcgtcc acaactacgg cggatgaggt catgtgcgct tggctaagcg aatggttaagt 1440

ES 2 785 329 T3

cacagtttgt cgtaacttgg aatcacatag caaatgtgtc attataactt ttatgtacag 1500
 gaagtcaaat ccggccgtac gccacggat gtggagggtg atatgcaagg gcatagggcc 1560
 5 ataggggttc tgatcctcag aatcctgatg tttatgcac tcagacggcc accgaccgtc 1620
 tagtgagttt ttgatactct attatgtgtg ttgatattgt ttgcaagggc ataggggtta 1680
 tgcacttata tttgatattg tttgcctcca ggcttcgtat gggcaggaga tggttcaacg 1740
 10 ccatggggag gtagtacgatt ggaggagcca gccaatcgac cctcagacag catatgctag 1800
 cgcaggagga caagctcatg gacggtgaga tttttgatt tggtttcaa aattgtcatc 1860
 15 atatgcttgc gattcaactg agccatgagt tactatacta agtgcattgt tcactcttgt 1920
 aggttgggta ttttgattc tacgattgat tccagagagc tgagacgccc tggacgacaa 1980
 tccacatcgt cgtcttaca gtcgtcccgt tcacgatcag cagcccatga gatagagctt 2040
 20 gcagtgttc gtaacaggc agagtacat caatcagtct tgagggaaca attggagtac 2100
 cagaggcaac aatctgaata ccagagacaa caagccgagt accagaagaa gagggacgag 2160
 25 tattatgcaa gcctccaggc ccaaaatcaa gctcttctct cgtaagttg aagtaacatt 2220
 ttgtagctta tttgcaaaa cacttgatgt gtatcttgtt tgttcaacaa tgacttgat 2280
 ataatttga gcaactagcc caacaagcg gctgcccgat gccgacatat gggatgccgc 2340
 30 ctccggactt tgactgcca atgccaatgt tggcgctcc acctccacct ccgctccgc 2400
 ctacgtcaca attccctatg gtatgtacac atatgcgtgt gtgacatgt catagatgc 2460
 35 ttatgtgtt aaatgaacaa ctgagtgggt actatttcat gtgcttgtt tatagggatt 2520
 tcagacacca cccgctcag ttgccgacc tggagatggg tctgggcaag acgacacaa 2580
 acattcgtg gtaacaacc tattcaacac gcagagtcca gccggaggag gtggctactt 2640
 40 gaaccatcca gacgatgat atgattgatg tgcgtgatg tttattatg aaacactttg 2700
 caacacttgt ttgtgagaca caattcagt ttgcaacaac cgtcgaacct atatgtgat 2760
 45 gttaaattg tgaatgtat tatttatgtg agaattttg tgatttgaa tacttattag 2820
 aatgtgata tttgtattg tgaatgtgaa tgtgtatag tgcattgac tgtttcgtt 2880
 ttgtaaatg cagattttt aaaaaacaga attttgtga aattctgaa tttgttatg 2940
 50 ccgacggcct agtggtagcc gtcggacata acacatggtt atgtccgac gcattaacta 3000
 ccgtcgaca taagggatgc ttatgtcca cggcctagt gtagccgtc gacttaatcc 3060
 55 tgtggggccc acattccgac cggtaaacg gttgggatt gttatctccg acgggcacac 3120

ES 2 785 329 T3

gcagccgtcg gagatagctt atgtccgacg gctgccgtcg gacattgcac tatttccgac 3180
gagttatctc cgacggctta aagccgtcgg agataaggct ttgccgtcgg aaataatcta 3240
5 tttccgacgg ttatttcctt atgtccgacg gttttggcca tcggacgttt ctccgtttac 3300
tgtagtgga gggagtgcag tagaagtgca atggccta atgccttcacc ataaaaaaaa 3360
caaagtcaa atctttcaga tttatttact cttggagtag catagcatag gtgtacaagg 3420
10 gaagtgctta taataatggt aacaagatac tcacctctc atacctgccg tctcactgac 3480
aggaaacggt aggtggcaag ttgtaagct tttcggttt agccatgtcc gatcccatgt 3540
15 gtggatctg tactgtacat cgacatgcga catcttggtt ggcctatctg atctttaatg 3600
tcgccgcgca cagagaggag atccggctc atgaagtggc tccgcagatt cctcaagggg 3660
cgaagcccg gcgaaccgag ccgccggcgg ccccaggtgg cggccgggga agaggaggac 3720
20 gcgctttggc accaacgacc agctagacca aaggactac tactaccact gtactagtga 3780
ctgagttcct ccttcttct tctacagttc gtctctgtct ctccaatgg ctctttgatc 3840
25 tatccaaaca tgccgtttca cagcttcaca tccgattcaa ctcgcatcca ttgcagtgcc 3900
atcttaaact ctagctccg aaaaaggaag ttgctaaaga ctagtacaat atctttcttc 3960
gctgtttcca gatcgatcca cctaggaacg agaatgagga actagtggac cgtgccattg 4020
30 ccgagcctct tgcaaggct gtcaaaccgc ccagaggtag taccgtagat ggacgaatcc 4080
agatacacat tccatgtcag catggtataa atttctctga aaccgtttca tcctgcatc 4140
35 ccgttgctgt aaattgctgc gccagagaaa accataggg gagaagacag caacgacgac 4200
gaagatctgg caagagccgt acaggacagt ctgaatatga acccttacac gccttacaac 4260
ccctatcac cctctcaggc ccaacctaga gggcacaggt caaccgctat cacaatcacc 4320
40 atttactggc accctaagat attcttaac gcgcaaagc agctcaatgc cgtcagtgtc 4380
cgtgctgcag ggtatgcgga ggctgcaagc atgagatagg gcgtggccat tacttgagct 4440
45 gcatgggcat ttactggcac cctcagtgt tccgctgcag gtctcgggt caccttatcc 4500
gtgagaccga gtaattaag ctcttgcat tttttcacc gtggaagtgt gttacagtgt 4560
taccagagat gagatcatat ccgttattct tttcgtctg ccttcagtt caccttgctg 4620
50 ggtgaggatt cgtaccacaa gctgtgctac aaggagctgc atcatcaaaa atgcgacgtc 4680
tgcttcagt ttgtaaggcc tcgtgtctc ggaaaacctg agcgatctgc actacagact 4740
55 gataaactgc gtacgcgta gcattttac accgtgccgt ctcgtcagt taatgagagg 4800

ES 2 785 329 T3

ctcattcttt gtagatgtgt ttctgcagat cccaacgaac gggagtggct tgatagagta 4860
cagagccac ccgttctggg gccagaagta ttgcccttcg catgagcgcg acaggacgcc 4920
5 acgttgctgc agctgtgaga aatggaggt acaggtacag atactagata gaaaatgtgg 4980
tcgcagtccg atcactcgtt ttcaaactag gttgtacatt gcctgatcat attcaagggc 5040
atcacttttc gttgtgatt gtgcagccaa ggaacacgaa gtacatgtcg ctgggagacg 5100
10 gacgcggcct gtgcatggaa tgcctgggat ctgcagtgat ggacacgagc gagtgccagc 5160
ctctgtacca ttctatcaga gactactacg aggggatgga catgagactg gaccagcaga 5220
15 taccctgct ctgtgtgag cggcaagcgc tcaacgaagc catggaaggg gagagtaaag 5280
tgagtgttc ttctgttct gccctttt tttgtgtg tttctgaaa acgtacagcc 5340
ttcggaaaca ctaacgtga ccgcatctgc gaaatccagg gcccacgcca catgcctgag 5400
20 actaggggcc tatgtctgtc cgaggagcgg actgtgagca gtgtaagtgt tcaacaactc 5460
aagctgtggc ggttactgct gggatgctta gccacaatg cgacagttc tgctcttctg 5520
25 actgtgtgtt acttctgcag atacttagga ggcccagaat tggaggaaac aaccggttac 5580
tagacatgag aactcggcca cagaagctga ctaggagatg tgaagttact gcaatacttg 5640
tctgtatgg cctcccagg tctggcaatt tttttttat ctctggagtc tggaggacat 5700
30 cactttttg tacctaccg attcaatac tgcggttct ctacgttct gtgaccggtg 5760
gtgtcgtcgt ttgtgcaca acgctattgc aggctactga caggttccat cctcggccat 5820
35 gagctgatgc acgggtggct gcgtctcaa ggtacatccg tatatggatg gatggacaaa 5880
acattcata caccattta tcactttat ttatgaattt tcttgaaag ctctaccgga 5940
tcgtactttt cattcaggtt accgaaacct aaacgcggag gtggaagaag gcatatgcca 6000
40 ggtcatgtct tacttggc tggaatcaga gattcttccg tcacctcga ggcacgcga 6060
gcctcatca tcctaccag caacatcatc cgagaaaggt ggaatatctc ataccgggaa 6120
45 gaagctgggc gaggttctca tgcaccagat tgccaatgac acgtcgacgg cctatgtgta 6180
cgggttcaga actgcgtacg ctgccgtcaa caagtatggc cttcgccaaa cactgagcca 6240
tatacgcta acaggaggtt tcctgtata ataagagtga aaaaaacata aatgtccat 6300
50 gcatgatcat atgatatca aaaggttata tacatattgg gatgaagttg gctatggaac 6360
actggatgca tagtgattca atttcggta cctttgagtt ttcaaagagg taatgtcgga 6420
55 gtaaatcaga aagtaaacc gtataaagca tggttgagac gattgtttac tctatagtga 6480

ES 2 785 329 T3

tgcattgctac atgcatggcc aagaagagag caacgggcca taggaccatc gttattacc 6540
 atcgttgta atcaaatta gggctagata aatagtaaac catctatagg aacatccaga 6600
 5 gcaatctac tctatgatc ataccgacca gggcgatc taggtaaaat aaccattgat 6660
 gtcattcca ttaaattata gtatcatcaa cctatttaag tgctaacaat catacattt 6720
 aatgaagatt attaaaatcc attggtgca catgacacca caaaaatggc ctgatccgc 6780
 10 ccctgatacc gacaaacct gaaaatttg taactgagaa ctgatgacca tacacatgaa 6840
 catgaattag gactttcaaa gagtccaatc aaagtaaaca attagactaa gcatgtaaga 6900
 15 tagggtgcca gatgttgat caggctttg agcacatgtg caacttgat gtcgtggaac 6960
 gtgacaaccg gtcaaggaat ggcgatgga cgggtgtaaa tcaatataac aacatgaaga 7020
 acaatcataa gtatagggtg aaactacaca tgataactag tatatcttc taacaacaat 7080
 20 gattagtaca atatgtaccg tggtaaagtg gtgacacat tagagatgc attagaacgg 7140
 catggcgctt acttataaaa atgtagaga agcggttatg gtcaaacaga atattatgtg 7200
 25 aatatcgagg aagatgaaca aatctataac acagaaacga aggaacaaa taggatcagc 7260
 ggagagtaca gtccaacgc gcgacgaaac gaggaagcca gaaaggcacc gccgatgcc 7320
 cgcaccgct gactgtcga ggcggccgtg agcgtccga catcgaagga gttatttca 7380
 30 aaaatgggac gaccaacatt gcgctttca cattgtttc ctaacgttg actctttcac 7440
 atatggcacc gagacacgca atctgttga caccgctct agtccgttc gggcagtga 7500
 35 gtcttacctg tcgtggttc agaaaccggg gataataaga tttgtttcg gtaaggacgc 7560
 agcgggact cactctgat ggtcagagga ctcaatgat gatctgagac aaggggtat 7620
 actggttag gcttgcgcc tagtccaatg ttgatcatag tattgcttag agcgtgttac 7680
 40 agttgagtgc tcgtatctag aagatggggg ttgtcttct ctttatagc tcaaggatag 7740
 atcttaaat gagacttga ttctgttgg gtcgagctca gcttctact tctgggtgac 7800
 45 gtactctc cggtatctc tgctgggtc tgcacctc tatccctgt atggcgtgc 7860
 gtcttatccg ttcgctgat gattcttct agctattctg atgcaacgt agtgggtcct 7920
 ggtgggtctc gcagagtcgg ttgtgtgga ggttagggg cgtcttagt acaacttcat 7980
 50 cttcatcat tcctatcgc tcacctcca gcatcgtag gcgtacgct cgtacagcgt 8040
 attaccgct ccctctgga cttctggtat gtaggtcact gtagagacc aatgctgggt 8100
 55 tgattgtcc caccgctag cgaggatct cttagaatg tatctggcgt cgtgattggc 8160

ES 2 785 329 T3

agaggccttc ggtactgctc ccatggttca gacgtggctt ggtggtgac tgctcatcg 8220
 tgctgacgtg acttgatagt actaggtcgg ctcttacctc ctatagatgt gctcctaga 8280
 5 aagtccattg tcatcttctg gggttgctcg gcatgtaggt tgatcggtaa atccgcctcg 8340
 tcgagttgct cgataatgtt gctcggcggg cgggtatgta ggtagtccga cctcaccggg 8400
 ttgttcggca atcccgcctc gccgagttgc tcggtgaacg ggttggtcgg cagccccacc 8460
 10 tcgccaggtt gtttggcaca cgtgttggtc tggttggtgg tcgtcgagag cccttttggg 8520
 ctttttggg caccggttt ctggtacccc acaataccg agctagagtt ccacatttgc 8580
 15 ccctaccttc ctcccggct cggcgacaa gcccaggatc ctggtgtaat gggcgagga 8640
 gaagcagttc ttgacggagg agaccagctc catgatcccc acaaaatga aggagacaac 8700
 cgaggcctac ctggcgtca ccatcaataa cactgttgc accgtcccag tctatttcaa 8760
 20 tgagtcccag cgccagacta ccaaaaacgt cgccgtcctc tccggcctc accgtcatgc 8820
 gcatcatcaa cgagcccacc actgtcgcca tcacctacgg gctcgacaag aaatcgagca 8880
 25 gcaacaacga gaataatgtc gtcatcttcg acctcgacgg cggtagcttt gacgtcgcg 8940
 tccggcggct aaggaccgca ctgccgacga gggcatgagt ggcgccgaga tggaagagaa 9000
 gaggagcaca aatggcggtc gtcggcaaag acaaagagaa ctcgagcgtg agtggaggaa 9060
 30 ggggcaaatg tgtaactcca gtttgatg gactccactg accagattac gagcgacatc 9120
 aactagattg tgtgtctcag tggctcagtg ccatttttg aggttgggt gccaatatt 9180
 35 tttcgtagtg gaaggaccg cgccatcgg gttttggag ccaaaccga aaccgctcg 9240
 cctcatattc cgcaactac agcggtttca tgggctggtt gaaggcccgg gccgcaaacc 9300
 aaccgagtcg gggcgacc ccctggagatc gcacggctg gtctggcca agcaacctgg 9360
 40 tgggttggtg ccaggttaca gcctgggctg atctgtggac ggtggacct gcaagttgt 9420
 actgggcttg caagttgta ctgggctac tggaacagtc atagcccgtg ccgtcgtggt 9480
 45 gaccgtcgtg cgcgccgat ctggcagact gggcaggtcg ctgctccgtg ctgtttgtg 9540
 atgcaatgca actatgcaag agtgatcacg gaaaacggac ggagcctgct tgcctgtt 9600
 cgacgtagta caagcctcg aacagtgacg ctacgctatg ccacgacct acgagtgta 9660
 50 ggtagtagta cactggtcag aatccagcag tgcaccacg ccgctgctga ctttctgat 9720
 gagagggagg ggtcgagcga gtctgtgtga aaccgtgaa cccgccggg cttcagtac 9780
 55 gtacgatacc acgagcagta gaaaaaaca cgccaagatg gcagagtcaa caaccgatca 9840

ES 2 785 329 T3

cagtacgtat cgattcaca tcaagattht aagaacgacc cccggctggc caatggcagg 9900
 ccacttggtt gcccgtgcc gacagaggga cacggcgcca tgcctccgc gccgcacgga 9960
 5 cgagggtcgc tgagaaccgg caaaaaaaaa aatcatcgca agtgcgctga agtgaagtgc 10020
 cttccccgc gtttcttgc ccctggccgg taccatttg gcgccgattc ttttctgcc 10080
 cccggccgg ccgctcgtc gccttggat tcttcaaag ccgctgatgg gatggtggcg 10140
 10 aacacacca ccaccgtct ttgccaaag cgaccggca caggccgcg cggttact 10200
 aaccactagc gcttgacta ataaaatgt ttctagcgtt tgttctctc tttttctt 10260
 15 tttccgggt tctcggagc cgtgtggaca ctggacagcg tccagtccag caggcatagg 10320
 gtggtctcgg cggcggctgt ccgacagca tcgatctca tgagattccg cgacaggcca 10380
 ggacggaaag ctgggccctt ctaccaatt cgcgtcggag ccggaacaag attcctccc 10440
 20 ccaatcattt cgacgcgcc tttcttccc acccctcgtg gccgttttc gcggccggcc 10500
 cttatctct tccgtgacg cgttctttg tagcttagcg gccggcacgt tgctaaccag 10560
 25 gctagcttcg ttcgtttta atctgcctat cgagaagaga agaaaaattc gtccatgggg 10620
 ccacggcctc ttctgaggc atttggcatg tgaaggaacc cgaaccagtg aatggagatg 10680
 gacggatgct gctcagatac gcagtcaaac ctgccggcga aattacgggg ggagctggct 10740
 30 ggctggctgg ctggacgcca gatcacacat ggatgacgcg gcacggcagc tagccgagca 10800
 ggcgctctgc gcacgcaa 10818
 35 <210> 139
 <211> 6300
 <212> ADN
 <213> Zea mays
 40 <400> 139
 gcactgcact gcactgcacg gatgcagctt tggcaacgag gtgtgtcgcg cagcgtcct 60
 gcacggatgt agctttggat tgctggataa tgtctcgcgc aagcgtcgtta tttatttatt 120
 45 tatttattac agcctccacc gccgtgcgtg ctccgtttcg gattataata aaactaatat 180
 taaataaaaa aatcggatta aaggatgttt ccgaaataaa gatctccacc acaggagcga 240
 50 aagaaaaaaaa aagagaaacg ggctatggag aaatggtggt gcgagtatac ggcggctccg 300

ES 2 785 329 T3

tcgtcgtcgg atcgacatgt acaaagtagg tgcacaaaag gcaaagcaaa atcacctcat 360

caaagaccaa aagcggagca aagaatcgat actaaatcca catgtttttt ttgttcctgt 420

5 ctactacgtg ctgtgcctgt gcgtgaagca cgattagtac gtgtactcac tcttgtcata 480

ttcttttttag tgtcttgtca ctagtacat ggagtagcaa ccatggctgg cgatacccg 540

10 gataaataaa aaaaagagag agggagtaat atattagata ctcaccatt ataaattata 600

aaatatttta gagtttgaat aggtagtct tgtatattta tttatagacc ttcaagttg 660

tccgcctctc gagagccgaa ctttgttgcc catgcttccc cggctcaggt catgccacct 720

15 ccttcaccaa gggcacacgg aagatctggt ggagcttgtc atcaccccg gccttcaaa 780

catgtgagga tgcgtcgtcg ctggcactag tagcactcat ttaggcact acattgacag 840

20 tttcctccag atatgtagt aggaaacact tgaacaacac gtttgggatt acatgatg 900

ttttgtttgt tcatcaatga taattcctt ttcttgctta atgattggct ctagaaccga 960

tacatggcac atttcatcag gaagggcgca tgcacgaaat taaactgtta tcgatgtttc 1020

25 ggtttctaag ttgaagaaaa caatggctaa caactagccc atgtgagcat aacgacaagg 1080

cctacaaaca aaaccaaga aatagctaaa tcatggtctg gatccactct gctatgatag 1140

30 atcacctttt ctaacatagt tcacctccc atttgctctc gctcacctag tgcctccatc 1200

gctgagatca atgataagta ccaagtgtac gatgaatccc atttgtcatg cgtcttgcaa 1260

gaatggttgg tccgcttgca gtgccgtcc agctatggac ccaggggcct atgtcataac 1320

35

ES 2 785 329 T3

tcaagcaaga ccataccccc atatgctacc aagatgcctt ttaagaatcc tggtaaaaga 1380

aatcgggtgga agacgactca acgactatca ggccccattt tttgggacca tgctcaagga 1440

5 tttggcttta gcaaaagtag ataacactat tttggggagc ttgatctcaa ggacacatga 1500

aggaataaag ctatthttagt caagacgtcc ttaaggaaca caataagacc ctaggtcctt 1560

aatgactagt gtgttatatg tttcgagacg ctcctacacc taagttcttt tagctatttc 1620

10 cattcacaat gatggtatat gacctaggta ccaatgcccc acggagtthc taacattaag 1680

aatgatctaa aacataagga ccctagagcc agggcactcc tggtattaaa acattthaac 1740

15 cctattgcct tagtgctgat ttttgthttt tgtttgtagg aggagaaacg agcacttgth 1800

gcctctcgcg acaatcttga taggctgtac cgtgatgcca gtaactcctt gaccatccta 1860

gagaggagcc accgcttcac catgtctgac ctagatcatc accaccatga gctgcaggcg 1920

20 tctcaagatg aagtcttgca acttggacga ttgttgtcga ctaaggattc caccatcaag 1980

gatctgcgct tctaaaaagc tcgtcccgcg ggagctagag gcggcccagc ttgctattaa 2040

25 gactctaaag gacaactgca ccgtcctgaa gaccagcgc gataaagcta tggataaagt 2100

tgthcgcgct ggacggatcc tgatgaggag gcacggcgth gtggtgcctg acgatattgt 2160

tgtcgatgth aaggccgcgc ctgatgctac aagtcgtccc tctthttctg ttgthcctgc 2220

30 gaaggatacc gtctgcaagg atgtthcgat gcagtgatgt cctgthaaac actthactta 2280

ttgagthagt atctccttgg aggatggatg thaatatggat tcaatgtgca tgcgacaatt 2340

35 gtgthtagaac tcgaatattc tacgaacagg gtgccgghaa acggccctag cactggcaag 2400

ES 2 785 329 T3

	taagatgttc tcttttcctg aagtgttttc aatttttagcc ggttggtatg ctattagggt	2460
	atagtggcca ccctaaacag cgcaaatgca agtataaccgc gttggcttaa ggtgtgttcc	2520
5	gacttaagtc agttgccttg ctggtagggc atagtggcca ccctgagtaa agtaagtcag	2580
	agtatattgc accgacctaa gtcgattgca ctactagcag ggtatagtga tcaccctaag	2640
10	tcaagtaagc atgagcatat cgcaccgact taggtcatca ccgacttaag ccgattgttc	2700
	tgtagcagg gtataatggt caccctaagt cagataagca tgagcatgtc acaccggctt	2760
	aagtcgttgc cgacttaagc cgattgctcc gtcagcaggg tatagtggtc accctaataa	2820
15	gtcaggaag catgagcata tcgcactggc ttaagtcggt gccgacttaa gccgattgct	2880
	ccgtcagtag ggtatagtgg tcaccctaag tcaagtaagc gtgagcatgt cgactggct	2940
20	taagtcgatt gctccgtcag cagggtataa tggtcacttt aagtcaagta agtgtgagca	3000
	tgtcgcacca gcttaagtca tcgccgactt aagctgattg ctccattagc aggttatagt	3060
	ggtcacccta agttaggtaa tcgtgctgat ttcaagtcta gcccaatcaa agtcagttgt	3120
25	aagtcaagag tatgaatgcc tttggagaat gaaaacttta ttgatgatga aattctcgga	3180
	tttacagagt acaatgttcc ttcaagaatt ttgaggcctt gctaaggata gaattttctg	3240
30	aggtgttcta tgttccatga gttcccttct gtgccgtcca tttgagtaag ccggtatggt	3300
	cccggccgag tgaccgcctc taatatgatg aacgatcctt cccacagtgg tgatagcttg	3360
	tgccgccctt cccccgtag aattcggcga aggaccaagt ctcccactgc aaaggatcgg	3420
35		

ES 2 785 329 T3

tgccgcatag ctttatcatg gtagcacctc aaggctctgct ggtacctagc cgactgaatt 3480
 actgtgttca atagttcttc ttccagtaca tcaatatctt ccagtctggt cgcttctgct 3540
 5 tcagctatgc tttcгааagt taatcttggt gccctgaaga ttaggtcagc gggcagcact 3600
 gcctctaacc cataaacat gaaaaacggg gtatttctat gcagagctcg actgggttga 3660
 gttctcaggc tctagaccac gtatggcagc tctctgatcc attttctgc aagcttttca 3720
 10 ctcttgtaa atatttctt cctgagtgct tctagtatca ttccgttggt tctttctacc 3780
 tggccattgg ctcttgggtg tgctactgat gcataactaa cctggaagct ccgttgctcg 3840
 15 cagaaatcga gttcagagct ggtgaagttg gatcccagat cggatgatgat gttgtttggt 3900
 atcccaaacc tgaatattat gtcttgata aactccacca ctttggctga ggtcaaggaa 3960
 gcaattggct tgtactttat ccattttgtg aatttgtaa tggcaaccag tacatgagta 4020
 20 tagcctccct gagccttctt aaaaggtccg atcatgtcca gccacagca tgcgaacggc 4080
 catgttacag gaatggctg cagctgctgc gcgggtaagt gttgttgctt tgataggaat 4140
 25 tggcatgctt cacacttctg gactaactcg gcaacatcgt tctttattgt tggccaatag 4200
 aaaccgatc taaaagcctt cccgaccaga gtccttgacg ctgcatgtat tccacactgc 4260
 ccggcgtgga tttcatcaa caattgtttc tcggtagtgc agtgaataca tttcatgagg 4320
 30 actcttgctg cacctctcct gtacagtaag ccccatatga tgggtgtagtg ggccaactgc 4380
 ctgcgatgc attccactgc agccttgta tctggctctt cttcattttt atatactga 4440
 35 tgataggctc tctccagtcg ttgggggtccg actctggttg gctcaaggta ttgcacactt 4500

ES 2 785 329 T3

ccacctgatc caagatgatg cttggttgtg atatttcttg gacgaagatc ccaggtggag 4560

cctgggccccg actggatccc agcttcgaca acgcgtctgc tgctgcgttg cggctctggt 4620

5 ccacatgatg gaactctaata cttcaaatt tgtcctctag ttttcgcaca accgcgcagt 4680

attingccat ggagtcagtc gagcagtcct agtctttgct tatctggatt atgaccacta 4740

10 gcgaatcacc atataccatc agtttcttga tgccgagtga tacaacaatg cttaaaccat 4800

ggatcagttc ttcatacttt gctgcattat ttgacgctgg aaatagtagc tggagtgcatt 4860

aattgtgttg ctcacctcca ggagcaataa agagaatccc tgcacccgct ccctatagtt 4920

15 tcaacgagcc atcaaagtac attttcaca cctcgataac ctctgggcta tctgggacct 4980

gatgttcagt ccactctgat acgaagtcaa ccagcgcctg agtcttgatt gccgtgcggg 5040

20 gccagaactc tatgttgtga gctccaagct cacacgcca cttggcgatc cttccaatag 5100

cttctttggt gtggagaatg tcccctattg ggaatcctat gaccactatg actttgtggt 5160

cgtcaaagta gtgtcggagt ttgcgtgcgg ttagaagtac tgcatacaac aacttctgta 5220

25 cttgaggata cttatcttt gagggcccga ggacttcact gatgaagtag actggatggt 5280

gcaccgggta cacatgtcct tcctccacc gcttgactac taacgtggtg cttaccacgt 5340

30 gagtcgtgct ggagatgtat aacatcaat cttccaccaa ctgattcagc gtagctcgtc 5400

gtggcggcct gagcactggt ggtgtagtca aaaaatttta gttcctctag agcttcctgc 5460

gcctctgtgg tccactgaaa cttgtccacc tttttgagca atttgtagaa ggccatgcct 5520

35

ES 2 785 329 T3

	tgctccccta gtcttgatat gaacctgctc agggctgcca tgcattccagt aagcctctgt	5580
	acctttttct atgatcgcaa cacttccatt ctcatgatgg ccttgacctt ttccgggta	5640
5	gcttcaatcc cttggtgact gacaatgaat ctgagtaact tcctgcctg tactctgaaa	5700
	acacactttt ctgggttgag cttccaccgg taatgcctca ggctattgaa gactagctgc	5760
	aatcttcaa tgaagtttct tgttttgatc accacatcat caacataggc ttccaccgc	5820
10	ttgccccagt ggtcggctaa gcatgtctga atggctctct ggtaagttgc tcccggttc	5880
	ttgaggtcga atgacatgaa ggtgtaatag aaagctcaa atggggtgat gaaagcattc	5940
15	ttctcctcat cttcttttgc taagcagata tgatggtatc tagaatagca gtctaggaag	6000
	gacaacatag aacagccagc ggtcgaatca accacctgat ctattctagg gagcccgaag	6060
	ggatctttgg tgtctcagac ctgggggacc ctcaacaaa tcgacaagtg aattttgtgt	6120
20	cgcgtgtccc tgcccagatg gattagtgca agatgaaaca caagaggagg ggtgaggttt	6180
	atattatctt gcaccagggt gcttgacagta ggggatacaa tctttgagag agagggaacg	6240
25	gatcccaggt ctcttgagag atctagtgtt gtgaagggga gttcagatgtt tgagcaagcc	6300

REIVINDICACIONES

1. Un método para integrar un transgén en un sitio de escisión de nucleasa genómica en un genoma de maíz, que comprende introducir en una célula de maíz:
- 5 a) una primera molécula de ácido nucleico que comprende al menos 100 nucleótidos contiguos, en donde dichos al menos 100 nucleótidos contiguos tienen al menos un 90% de identidad con un sitio diana en una secuencia de nucleótidos SEQ ID NO:2 y que comprende, además, un transgén; y
- b) una segunda molécula de ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica una nucleasa para la escisión dirigida al sitio en un sitio de escisión de nucleasa genómica adyacente a SEQ ID NO: 2, que
- 10 corresponde a los al menos 100 nucleótidos contiguos de (a),
- bajo condiciones en las que puede producirse la expresión de la segunda molécula de ácido nucleico para producir la nucleasa y la nucleasa puede escindir la secuencia de nucleótidos en el sitio de escisión de nucleasa genómica, con lo cual el transgén se integra en el sitio de escisión diana de nucleasa genómica en el genoma del maíz.
2. El método de la reivindicación 1, en el que el sitio de escisión de la nucleasa genómica se encuentra dentro de un
- 15 intervalo cromosómico en el cromosoma 1 definido por y que incluye la posición del par de bases (pb) 38.860.000 a la posición del par de bases (pb) 39.015.000 según lo definido por Maize B73 RefGen_V2.
3. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-2, en el que la primera molécula de ácido nucleico y la segunda molécula de ácido nucleico están presentes en una única construcción de ácido nucleico.
4. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-2, en el que la primera molécula de ácido nucleico y la segunda
- 20 molécula de ácido nucleico están presentes en construcciones de ácido nucleico separadas.
5. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en el que la primera molécula de ácido nucleico y/o la segunda molécula de ácido nucleico se expresan transitoriamente en la célula de maíz.

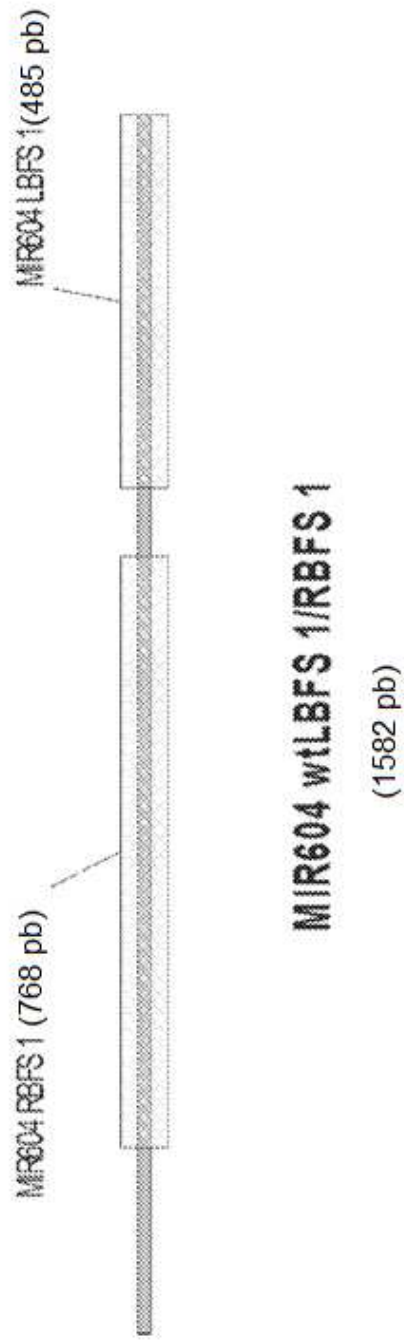


FIG. 1

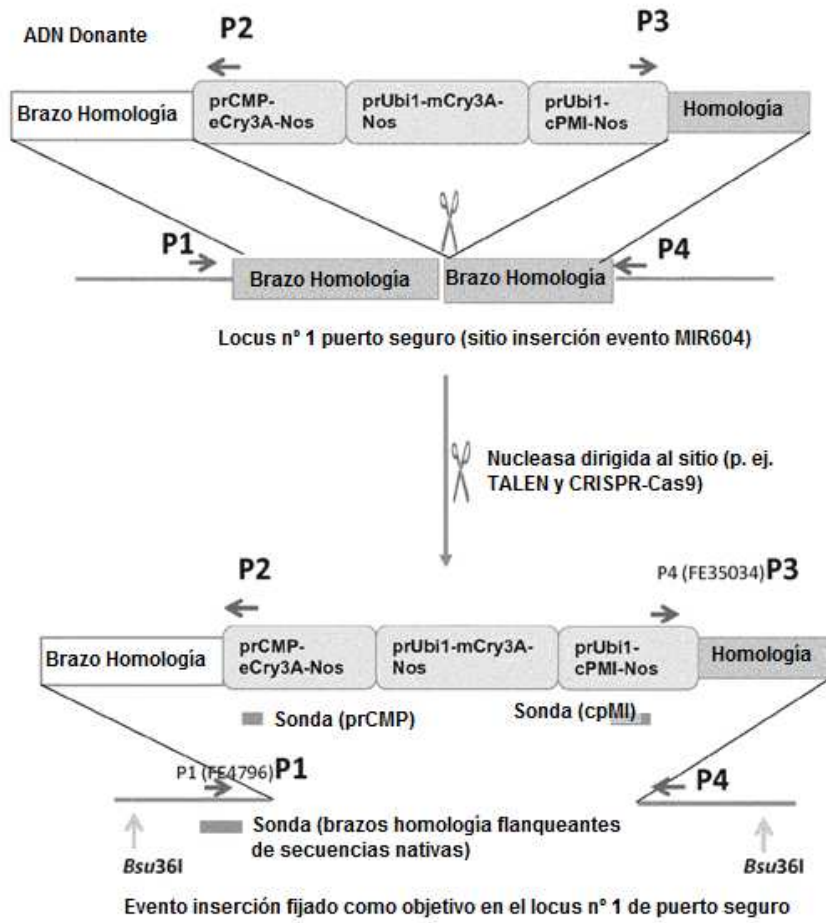


FIG. 2

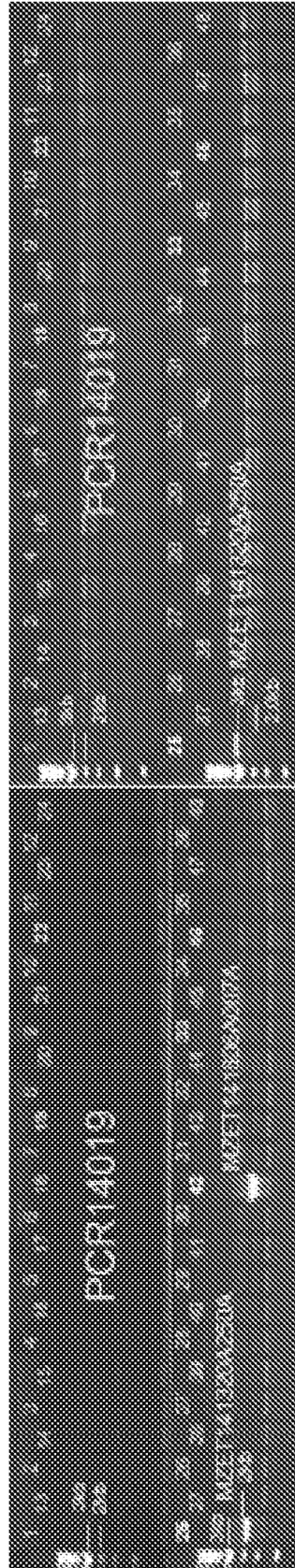


FIG. 3

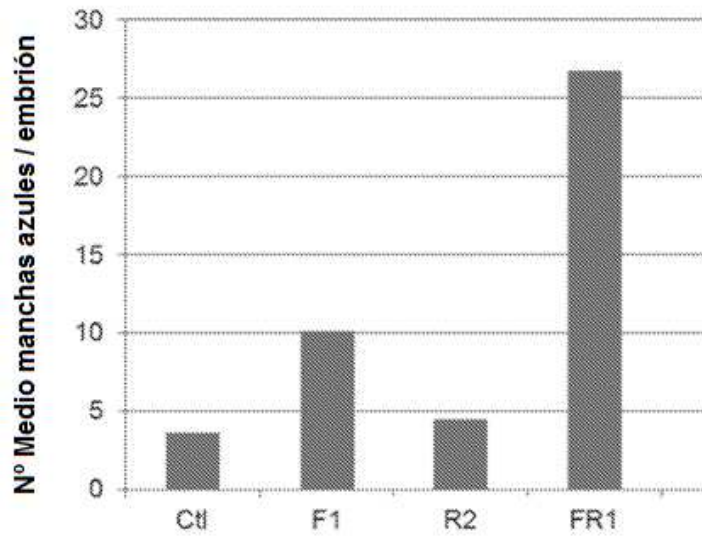


FIG. 4

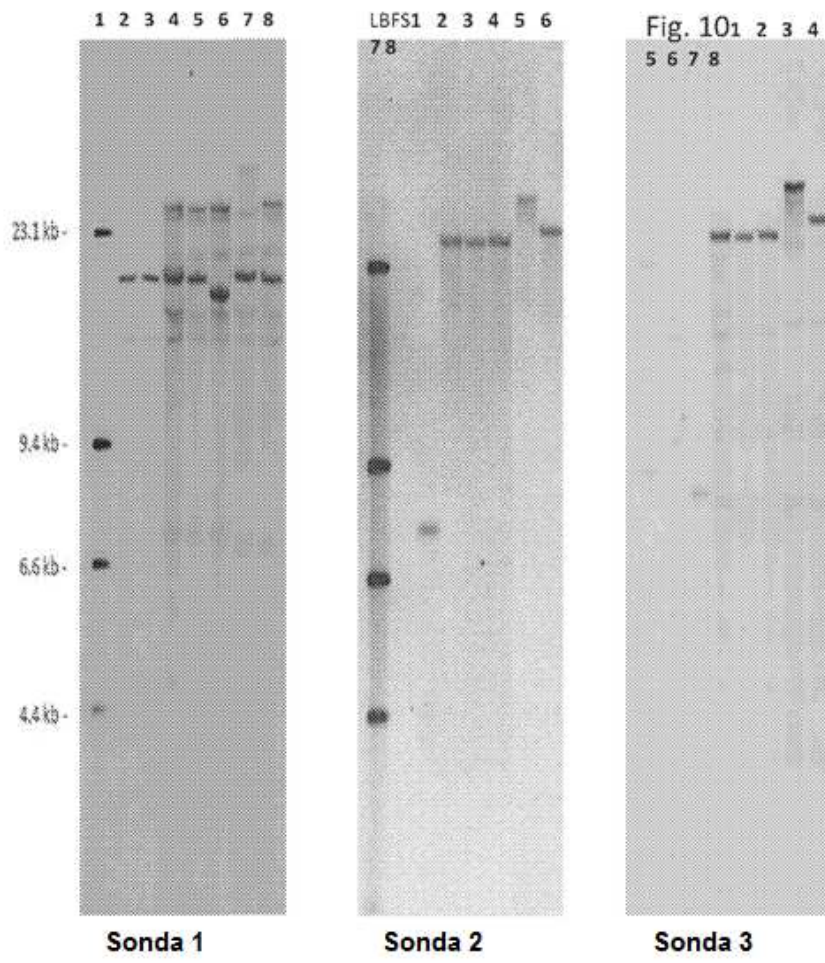


FIG. 5

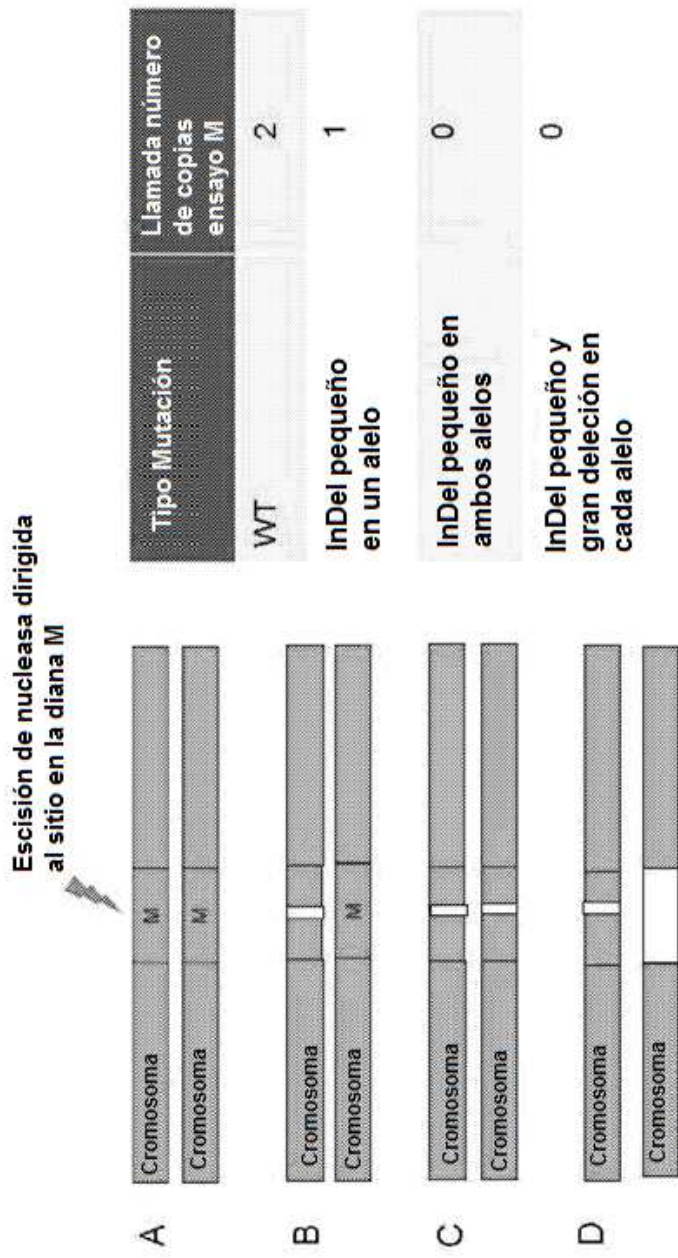


FIG. 6

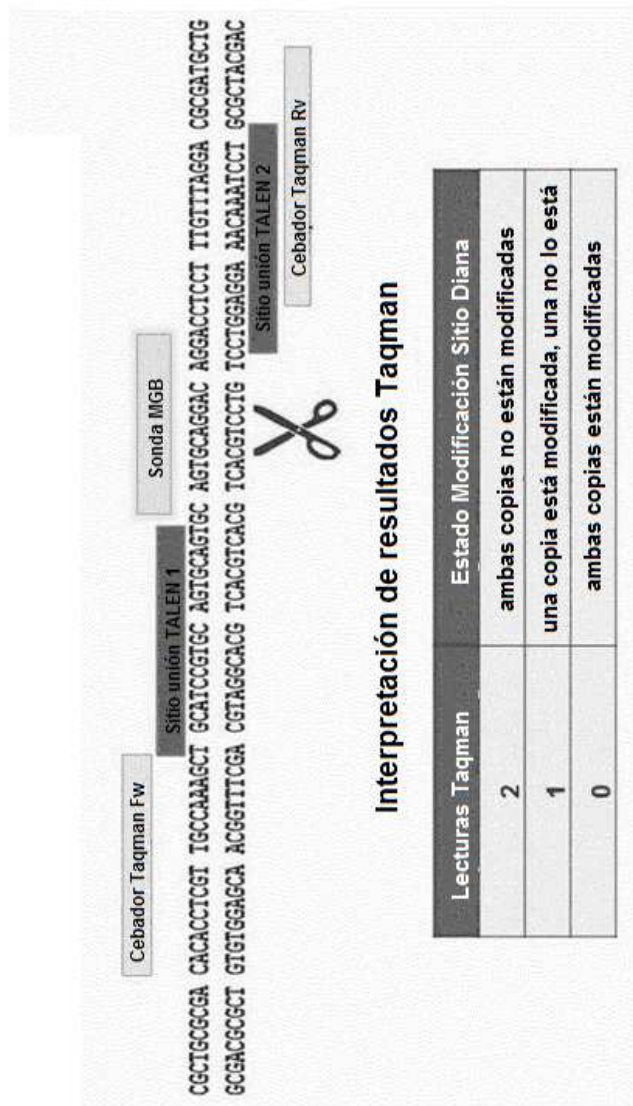


FIG. 7

(A) Estado secuencia diana en diferentes tipos de eventos

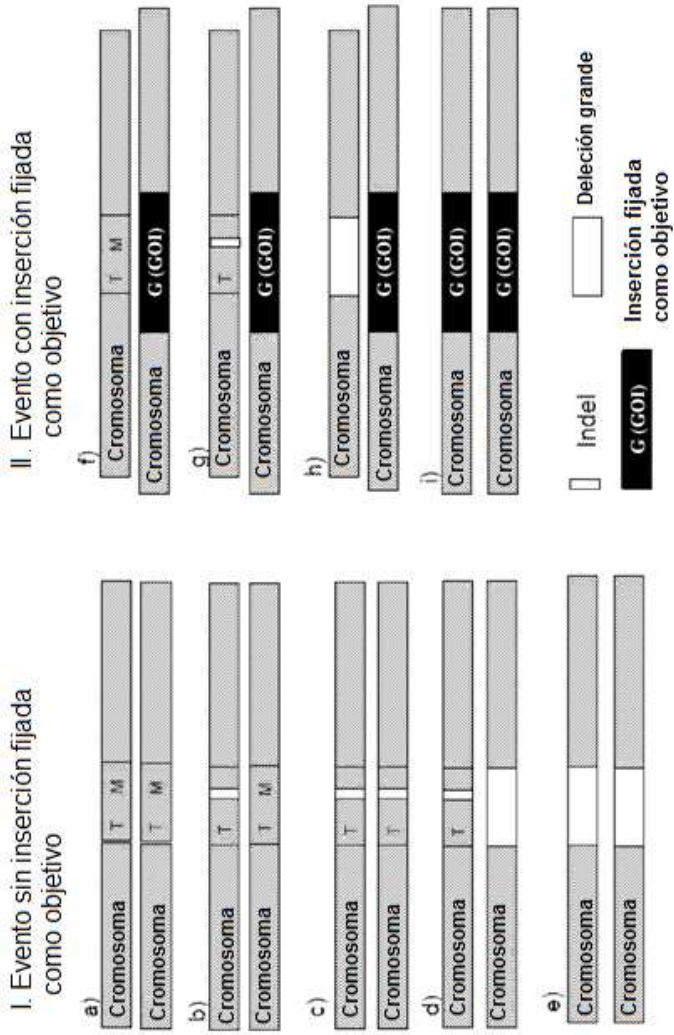


FIG. 8A

Tipo de evento	Llamada número de copias ensayo T	Llamada número de copias ensayo M	Llamada número de copias ensayo G
Evento sin inserción fijada como objetivo			
a) WT, sin mutación en ambos alelos	2	2	≥ 0
b) Pequeño indel en un alelo	2	1	≥ 0
c) Pequeño indel en ambos alelos	2	0	≥ 0
d) Pequeño indel en un alelo y gran delección en otro alelo	1	0	≥ 0
e) Gran inserción en ambos alelos	0	0	≥ 0
Evento sin inserción fijada como objetivo			
f) Sin mutación en un alelo, inserción fijada como objetivo en otro alelo	1	1	≥ 1
g) Pequeño indel en cada alelo, inserción fijada como objetivo en otro alelo	1	0	≥ 1
h) Gran delección en cada alelo, inserción fijada como objetivo en otro alelo	0	0	≥ 1
i) Inserción fijada como objetivo en ambos alelos	0	0	≥ 2

FIG. 8B

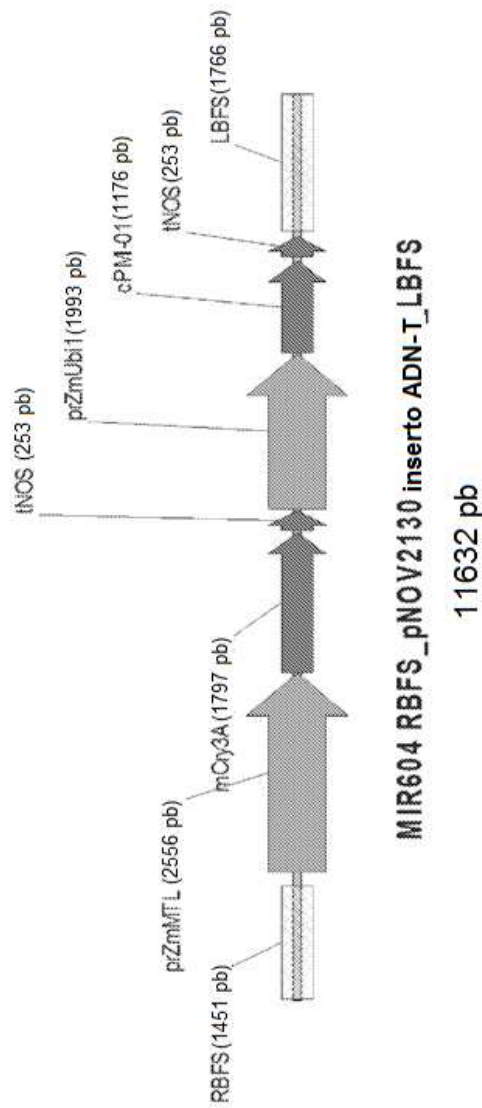


FIG. 9

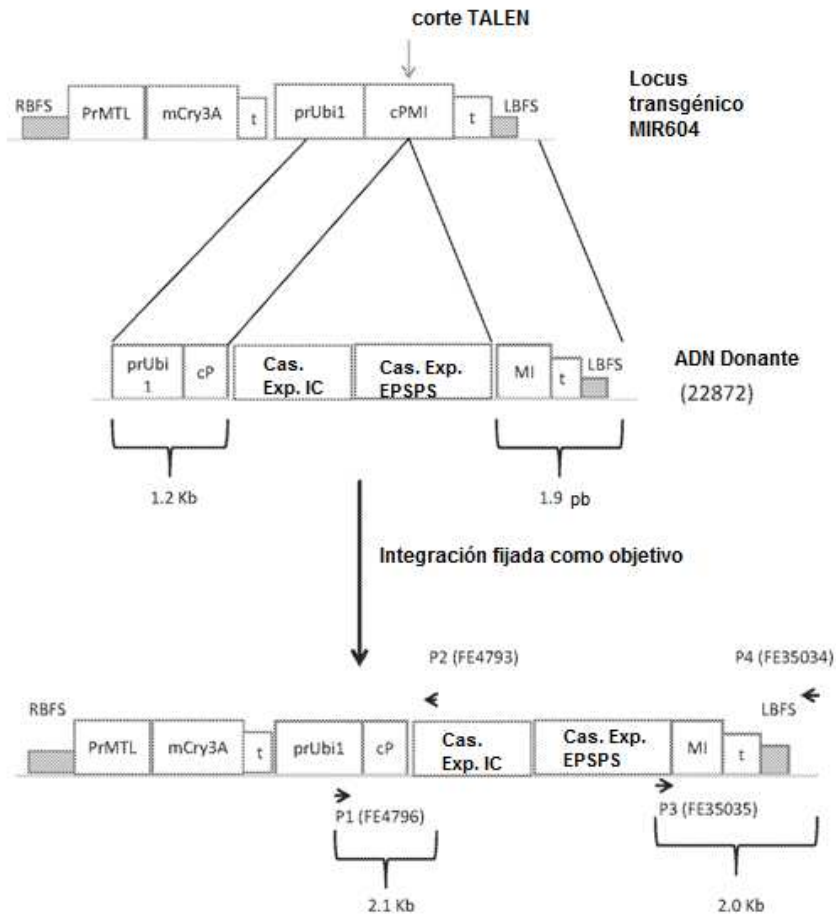


FIG. 10

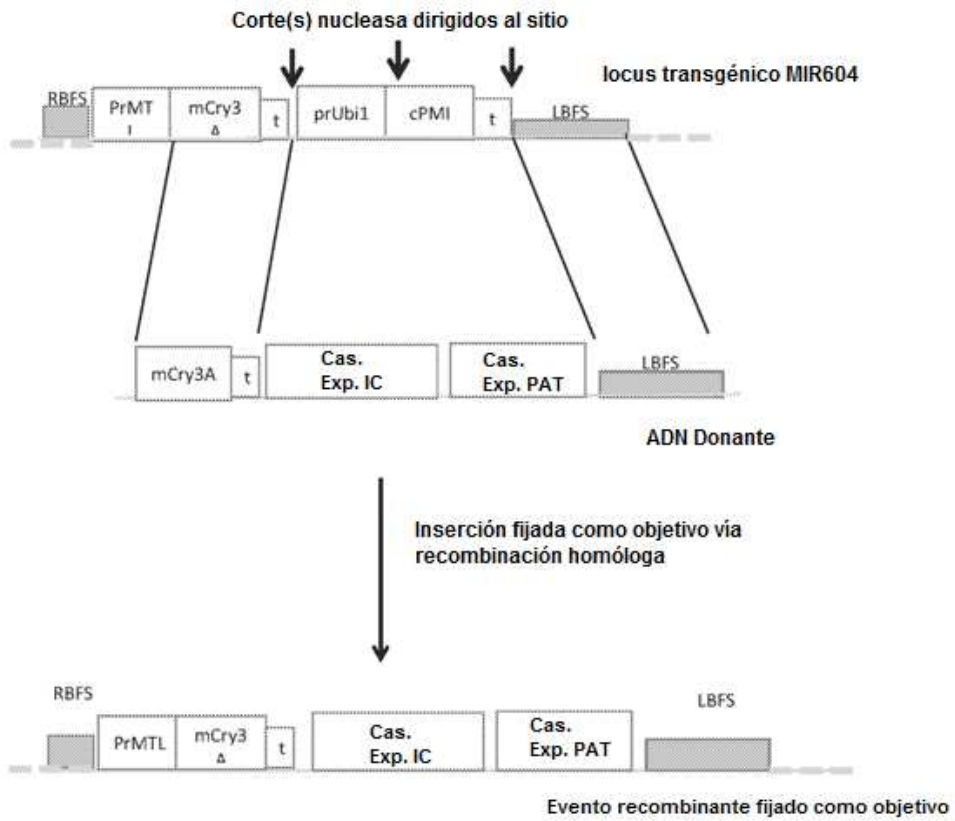


FIG. 11

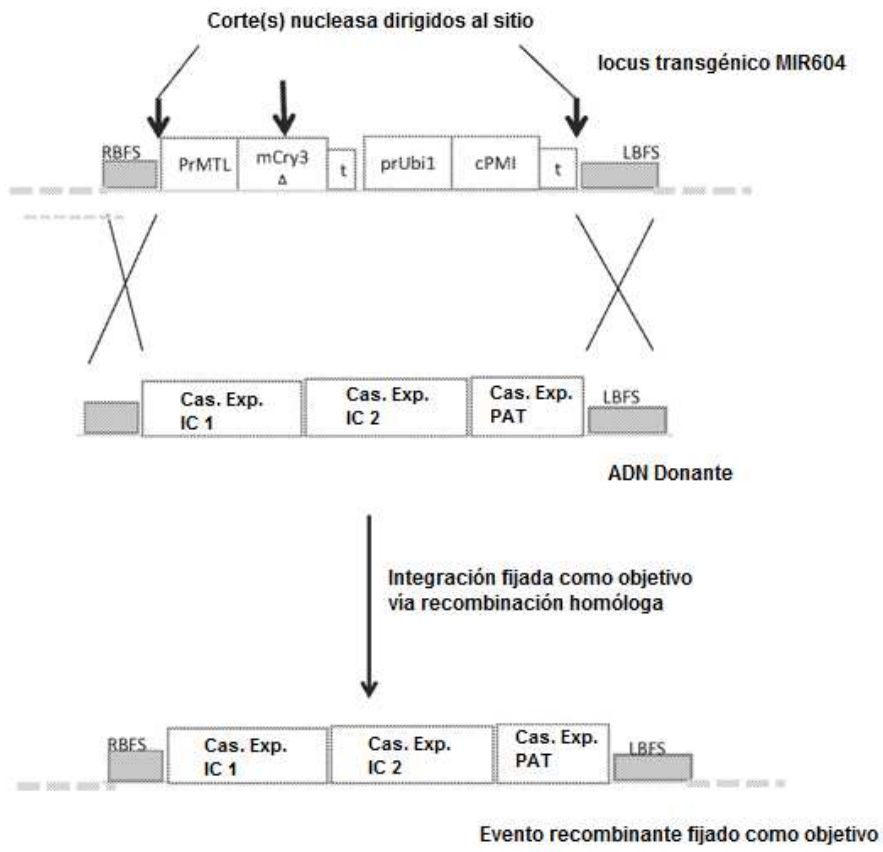


FIG. 12